

Subl. dr. 50607

R Y S

ZASAD BAKTERYOLOGII

W ZASTOSOWANIU

11.494

DO MEDYCYNY I HYGIENY

SKREŚLIE

Dr. O. Bujwid.

Część I Ogólna.
z 2 tablicami chromolitografowanemi.

ODBITKA Z CZASOPISMA „ZDROWIE.”



WARSZAWA.

Skład główny w księgarni Teodora Paprockiego i S-ki.

1890.

2606

Medyc 4804

OD WYDAWNICTWA.

Część szczegółowa wyjdzie w końcu roku bieżącego, i zawiera: będzie morfologię i systematyczny opis przeważnie chorobotwórczych drobno-ustrojów, z dodaniem tablic chromolitografowanych i światłodruków.

990284

RYS ZASAD BAKTERYOLOGII.

990284

Доволено Цензурою.
Варшава 30 Января 1890 года.



1999 D. 17/9



Warszawa.— W Drukarni St. Niemiery, Plac Warecki N. 4.

218088

RYS ZASAD BAKTERYOLOGII.

W S T Ę P.

Do rzędu nauk ścisłych jakie wstrząsnęły, do podstaw nauką lekarską i w ciągu bardzo stosunkowo krótkiego czasu dokonały w niej znacznych, a niezmiernie pożytecznych przewrotów, należy niezaprzeczenie bakteriologia.

Do niedawna jeszcze zaledwo szerszego zakroju umysły (Henle) oceniały możliwość przewrotu, jaki obecnie widzimy dokonany. Większość zaś, do jakich i dziś pewna, acz nieznaczna ilość badaczy należy, wołała przypisywać choroby zarazkowe różnym gazom szkodliwym, materyom chemicznym, wreszcie czynnikom fizycznym i klimatycznym, niż zarazkom żywym, niewidzialnym gołem okiem.

Pierwszym, czyje prace dały początek nowoczesnej bakteriologii, jest Pasteur; położył on podstawy tej nauki, dowiódłszy za pomocą licznych doświadczeń, że w naturze nie istnieje samorodztwo, że z materyi bezustrojowej, ustrojowa powstać nie może, że każdego, choćby najmniejszego ustroju początkiem jest podobny jemu ustrój macie-

rzysty, że tym sposobem fermentacya i gnicie nie są własnościami materyi bezustrojowej, życia pozbawionej, lecz wynikiem działania drobnych istotek, mikrobów w otoczeniu zawartych.

Nie tylko na fermentacyi i gniciu ogranicza się działanie drobnoustrojów.

Dalszemi pracami dowiódł Pasteur i inni jak Davaine i Polender, że choroba taka jak karbunkuł zależy również od działania drobnoustrojów, tej chorobie właściwych, mogących być wyhodowanemi sztucznie na różnych podłożach, i po zaszczepieniu wywołujących tylko karbunkuł nie zaś inną jakąś chorobę.

W ten sposób po raz pierwszy przekonano się, że choroba karbunkułu nietylko polega na mnożeniu się w krwi i żywych tkankach właściwego pasorzyta groźnego dla życia ustroju, ale nawet, że pasorzyt ten może istnieć po za ustrojem i przeniesiony doń tylko tej, a nie innej choroby stać się przyczyną.

Po tem odkryciu dokonane zostały inne, nastroczały się jednak coraz nowe trudności.

Materyał odżywczy, użyty przez Pasteur'a, będąc płynnym, dawał możność przedostawania się innym pasorzytom do hodowli badanej; w ten sposób utrudnianem było, a często uniemożliwianem otrzymanie pasorzyta w stanie potrzebnej czystości. Te domieszki dla sceptyków były znakomitym argumentem przeciwko metodom w bakteryologii używanym, a więc i przeciwko samej bakteryologii i jej zasadom.

Jednak już pierwsze prace Pasteur'a wywołały przewrót w chirurgii w postaci opatrunku Lister'a.

Wychodząc z zasady, postanowionej przez Pasteur'a, że nic samo powstać nie może, że ropienie i zakażenie ran powstaje pod wpływem drobnoustrojów,—Lister postanowił niedopuszczyć takowych do rany i w tym celu obmyślił szereg środków, z których znaczna część i dotąd zastosowanie znajdując, oddając nieobliczone przysługi i pozwalając na takie operacye z wynikiem pomyslnym, o jakich dawna chirurgia, pomimo całej zręczności operatorów, zamarzyć nie śmiała.

Jakieśmy wyżej nadmienili metody hodowli, podane przez Pasteur'a i modyfikowane w różny sposób przez innych nie wystarczały.

Przewrotu pod tym względem dokonał badacz niemiecki Robert Koch, wprowadzając zamiast płynnych środki stałe. Teraz dopiero dokładność i ścisłość badania mogła być dalej posunięta, przy znacznie większej łatwości w postępowaniu.

Metoda Koch'a hodowania na środkach stałych, w połączeniu z barwieniem bakteryj, przy współczesnem, również w Niemczech dokonaniem ulepszeniu mikroskopu stała się źródłem wielu ważnych odkryć: przyczyna suchot (gruźlicy), cholery, tyfusu, nosacizny, róży, zapalenia płuc—jedna po drugiej zostały odkryte i dokładnie zbadane.

Ta ścisłość badań w zakresie *rozpoznania przyczyn chorób* stanowi istotną zasługę a zarazem charakter badaczy niemieckich.

Francuska szkoła z Pasteurem na czele, będąc wyprzedzoną przez Niemców w zakresie badania przyczyn, wyprzedziła ich pod względem *praktycznego zastosowania bakteryologii* w zakresie zapobiegania i leczenia. Pierwszym krokiem na tej drodze było osłabienie bakteryj karbunkułu i zastosowanie ich przez Pasteura do ochronnych szczepień u rogacizny, cieszące się obecnie powszechnem uznaniem. Dalej nastąpiły odkrycia szczepionek cholery kurzej, róży świń i wreszcie leczniczo ochronne szczepienie wściekliczny.

Tutaj nastąpił rozbrat pomiędzy badaczami niemieckimi i francuzkimi. Utworzyły się dwa obozy wręcz sobie przeciwne, o wręcz przeciwnym kierunku. Ztąd to pochodzi obecne zacierzowanie stron obu, które dotąd nie ustąpiło. Prawda nie straci jednak na tem, gdyż obie strony wyszukują bezustannie coraz nowe dowody; nie poświęcony jednak bliżej ogół, mianowicie nasz, wychowany bardziej w szkole niemieckiej a sympatjami bliższy francuzkiej, nie wie czego się trzymać, tembardziej że od czasu do czasu pojawiają się prace o znanych imionach zupełnie odmienne głoszące zdania.

W niniejszym zarysie postaramy się o uwzględnienie wszystkich danych, mających pewną wartość naukową i praktyczną, jakie nowsze badania bakteryologiczne przyniosły. Znając obie szkoły francuską i niemiecką postaramy się połączyć badania ich w jedną całość, o ile można jaknajbardziej jednolitą, znaczną bowiem ilość badań i metod sprawdzić mieliśmy sposobność w pracowniach Kocha i Pasteur'a, wreszcie w pracowni własnej w Warszawie.

I.

Krótki historyczny pogląd na rozwój nauki o drobnoustrojach.

1. Pierwsze spostrzeżenia.

Uczony Jezuita Atanazy Kircher był pierwszym, który w 1671 r. obwieścił światu nowinę, iż zapomocą mikroskopu można się przekonać, że powietrze, woda, ziemia zawierają znaczną ilość żyjątek, które w wielkich masach zamieszkują przeważnie materje gnijące.

Mikroskop jego powiększał linijnie trzydzieści kilka razy; autor uważa wszakże jego powiększenie za 1000-krotne licząc powierzchniowo. Za pomocą tego mikroskopu, a raczej dwuwypukłej soczewki, Kircher widział niezliczone „robaczki“ w każdej gnijącej cieczy, jak również w ropie i krwi chorych na zarazę. Zdaje się wszakże, że, nie wiedząc o istnieniu ciałek krwi ani ciałek ropnych, nie mógł on odróżniać ich od rozmaitych napotykaných istotnych i przypadkowych tworów.

W ten sposób przypuszczenie rzymskich badaczy: Varron'a, Columell'i i Lukrecjusza co do ustrojowej natury zarazków chorobowych zaczyna się przyoblekać w szatę faktów.

Człowiekiem, który po raz pierwszy istotnie widział bakterje był Leeuwenhoek który, jako terminator w składzie płótna w Amsterdamie, nauczył się wyrabiać bardzo drobne i mocno wypukłe soczewki powiększające, później zaś o tyle je udoskonalił, że otrzymywał za pomocą ich wcale dokładne i silnie powiększone obrazy. W 1675 roku w wodzie deszczowej znalazł on z pomocą swego mikroskopu drobne żyjątka, które potem znajdował również w wodzie morskiej, studziennej, wyciągach z części roślinnych i w kanale pokarmowym żab.

W r. 1683 po raz pierwszy Leeuwenhoek widział bakterje w cząstce miazgi zdjętej z własnego zęba. Opisy i załączone rysunki nie zostawiają żadnej wątpliwości, iż spostrzegł on wtedy różne formy drobnoustrojów. Jedne z nich opisuje L. jako laseczki proste, inne zgięte, niektóre w ruchu w postaci wibryonów.

W pierwszych listach do Londyńskiego „Royal Society“ L. nie zastanawia się nad znaczeniem znalezionych przez siebie żyjątek poprzestając na samym fakcie znalezienia. Później w 1713 roku spostrzegając w wodzie zwykłej różne drobne twory, przyszedł L. do przekonania, że tą drogą dostają się te żyjątka do jamy ustnej. Przedstawianie się ich do krwi zdaniem L. nie jest możebnem z tego powodu, że otwory w tkankach są mniejsze od najmniejszych żyjątek, a więc te ostatnie nie mogą się przez nie przecisnąć.

Po odkryciu Leeuwenhoek'a pojawiły się różne spostrzeżenia, które niejednokrotnie wyprzedzały to, co można było rzeczywistemi faktami stwierdzić. Andry (1701) przypuszczał, że powietrze, woda, ocet, wino fermentujące, mleko kwaśne, ropa ospowa, mocz, zawierają ogromne ilości niedostrzegalnych gołem okiem żyjątek. Lancisi (1718) szkodliwość bagiennych wyziewów czynił zależnem od znajdujących się w nich niedojrzanych okiem tworów.

Inni badacze twierdzili, że zaraza grasująca w Tulonie i Marsylii w 1721 r. zależała od obecności drobnych ledwo dostrzegalnych żyjątek.

Linneusz, który w ogóle nie dowierzał mikroskopowym badaniom, co ze względu

na duże braki w ówczesnych przyrządach łatwo się rozumie — przypuszczał jednak również istnienie ustrojowego zarazka „contagium animatum“; istnieje on zdaniem Linneusza w gorączkach, chorobie przymiotowej; w ciałkach nasiennych (przez Leeuwenhoeka odkrytych), oraz w fermentujących i gnijących płynach.

Antoni Plenciz lekarz wiedeński (1762) w pracy swojej, która zawiera wszystkie dotychczas wygłoszone zdania pod względem powstawania chorób, zebrał i zestawił krytycznie różne istniejące poglądy. Zdaniem jego zarazek każdej choroby jest jej tylko właściwym: jak jedna roślina daje początek drugiej podobnej — tak również zarazek szkarlatyny dać może tylko szkarlatynę, ospowy tylko ospę. Stopniowanie form chorobnych zależy od ustroju chorych, od czasu i miejsca. Widzimy tutaj zawiązek obecnych poglądów niezmiernie jasno i dobitnie wypowiedziany. Plenciz stwierdził spostrzeżenia Leeuwenhoeka i dodał wniosek: „ciało każde zaczyna gnić wtedy, gdy żyjątko drobne zaczynają w niem żyć, rozmnażać się i rozwijać.“

2. Samorodztwo, jego zwolennicy i przeciwnicy.

Zkąd się te żyjątko biorą? w jaki sposób powstają w rozkładających się materjach organicznych? Czy powstają według twierdzenia Harwey'a, omne vivum ex ovo, czy też dają im początek siły rozkładowe materii? — oto pytania które zajmowały od początku umysły spostrzegaczy, w obec rozpowszechnionych dawniej poglądów na samozaradzanie się z błota i mułu robaków i różnych owadów.

Hartsoeker (1694 r.) Reaumur (1734) Joblot (1716) twierdzili, że mikroskopowe żyjątko znajdujące się w niezliczonej ilości w powietrzu spadają na rośliny i ztąd przechodzą do otrzymanych z nich wyciągów wodnych. Needham (1747) przeciwnie są-

dził, że powstawanie żyjątek drobnowidzowych zależy od szczególnej siły wegetacyjnej roślin. Oto spostrzeżenie, które go upoważniło do powyższego wniosku: ziarno jęczmienia kielkujące w wodzie zostało umieszczone w szkiełku pod mikroskopem, gdzie wypuszczać zaczęło korzonki, zaś niektóre z nich na końcach pokryły się rodzajem kulistych główek, w około których umieściły się drobne kuleczki, z początku nieruchome, stopniowo przechodzące w ruch, który w końcu stał się szybkim i objął całą obserwowaną przestrzeń. Następnie w nastoju ziarn pszenicy Needham zauważył rozrastanie się w wielkiej obfitości włókien, które rozwijały się stopniowo w żyjątko, z nich zaś wydostawały się cząstki o ruchu bardzo szybkim, poczem ruch malał stopniowo, cząstki opuszczały się na dno naczynia dając początek nowym włóknom, te zaś nowym żyjątkom, aż wreszcie po pewnym czasie nastój cały zmienił się w jedną masę w której nic nie można było odróżnić. Nie były to żyjątko powstałe z jajeczek owadów, które z zewnątrz przeniknęły, gdyż to samo miało miejsce w nastoju z mięsa uprzednio gotowanym a następnie zamkniętym. Pojawiały się tu również w obfitości żyjątko obdarzone szybkim ruchem. Ponieważ przez gotowanie jajeczka obce musiały być zabite, nowe zaś przeniknąć nie miały możliwości, — ztąd wnioskuje Needham, że owym żyjątkom daje początek jakaś siła żywa istniejąca w materii i od niej zależna. Teoria Needhama o powstawaniu drobnych istot znalazła niezwykle uznanie u bardzo poważnych przyrodników. Buffon, Wrisberg, v. Gleichen i Otto Fryderyk Müller powtarzając doświadczenia powyższe otrzymali też same wyniki. Odkrycie przez Priestley'a (1779) materii zielonej powstającej w wyciągach zwierzęcych pod wpływem światła dało powód do wnioskowania, że istnieje prosty sposób przechodzenia materii martwej w żywą i roślinnej w zwierzęcą i odwrotnie.

Jakkolwiek poglądy Needham'a były pociągające i doświadczeniem poparte znalazły myślicy przeciwników. Pierwszym przyrodnikiem, który dał popęd do zdań przeciwnych był Bonnet z Genewy (1762) i uczony ksiądz Spallanzani najwybitniejszy eksperymentator swego stulecia (1769). Najważniejszym dowodem za teorią samopowstawania istotek żyjących było stwierdzenie przez Needham'a faktu, że nawet w gotowanym i następnie zamkniętym wyciągu mięsny i roślinny pojawia się życie. Bonnet zarzuca brak ścisłości temu właśnie spostrzeżeniu. Bo przecież, mówi, zamknięcie zagotowanego wyciągu nie było dość hermetycznym, ażeby nic z zewnątrz dostać się nie mogło. Czy przytem jest pewnem, że jajeczka lub drobne żyjątka nie mogą przetrzymać przez pewien czas ciepłoty przy gotowaniu wody otrzymanej? Widzimy, że zarzuty postawione przez Bonneta'a należało stwierdzić doświadczalnie, co zostało dokonane przez Spallanzani'ego.

Najpierw zauważył on, że w niezagotowanym wyciągu pomimo braku dostępu powietrza żyjątka również się rozwijają. A więc „jajeczka“ mogły istnieć bądź to na ściankach naczyń, bądź też w samych materjach do doświadczenia użytych, lub w powietrzu w naczyniu zawartem.

W celu zniszczenia tych jajeczek Spallanzani silnie ogrzewał naczynia przed użyciem w płomieniu, mocno gotował wyciągi do doświadczeń użyte i następnie zapieczętowywał je dokładnie po ostudzeniu. Pomimo to, w wielu naczyniach powstawały żyjątka. A zatem, sądzi Spallanzani, jajeczka istnieją w powietrzu wewnątrz naczyń będącym. W celu przekonania się o tem Spallanzani wziął dziewiętnaście kolbek z taką ilością wyciągów roślinnych i zwierzęcych, zapieczętował je dokładnie i poddał gotowaniu w dużym naczyniu napełnionem wodą w ciągu godziny. Badając je po kilku dniach i nawet miesiącach Spallanzani w żadnym nie mógł znaleźć śladu

życia. Te tylko kolbki zawierały drobno-ustroje, które podczas lub po gotowaniu ponadpękały i skutkiem tego przepuszczały powietrze.

To doświadczenie dowiodło wyraźnie, że samozaradzanie się materji żywej miejsca nie ma, lecz zależy od powietrza i zarodków w niem zawartych.

Dowód ten jednak nie był wystarczającym. Treviranus, a z nim inni, zarzucali, że powietrze wskutek gotowania o tyle zmienia się w swoich własnościach, iż przestaje być nadal zdolnem do rozbudzenia życia, a przytem ilość jego w szczelnie zamkniętem naczyniu zawarta nie jest dostateczną do takiego rozwoju.

Zarzuty pozostały nieodpartymi aż do czasu Franciszka Schultze'go, który doświadczenie wykonał w odmienny sposób.

Po napełnieniu kolby wyciągiem roślinno-zwierzęcym przez korek w szyi umieszczony przeprowadził on 2 szklane rurki i silnie zagotował zawartość kolby. Gdy para rozegrzała wszystkie części do ciepłoty wrzenia, oba końce rurek Schultze zamknął; jeden przyrządem banieczkowym zawierającym kwas siarczany, drugi—takimże przyrządem zawierającym roztwór potażu gryzącego. W ten sposób powietrze przeciągane od strony potażu zanim dostanie się do wyciągu, musi przejść po nad kwasem siarczanym.

Pomimo codziennego przepuszczania powietrza w ten sposób w ciągu 2 miesięcy—wyciąg pozostał czystym; dopiero po zdjęciu korka w parę dni rozwój drobnoustrojów nastąpił. W następnym roku Schwann otrzymał też same wyniki przepuszczając powietrze przez rozpaloną rurkę metalową.

Te atoli doświadczenia nie oddziaływały na zupełne obalenie teorii Needhama, gdyż powietrze przed dojściem do materji organicznej było poddawane chemicznemu lub termicznemu działaniu. Dopiero Schröder i von Dusch (1854) wykazali, że do oczyszczenia powietrza wystarcza przeprowadzenie go przez warstwę waty—a więc wykluczonymi

zostały wszelkie czynniki, prócz mechanicznego polegającego na prostym przefiltrowaniu powietrza. W r. 1860 Chevreul i Pasteur dowiedli, że to nawet jest zbytecznym. Wystarczy wyciągnięcie szyi kolby szklanej, w której zawarty został wyciąg materii organicznych, w długą zgiętą rurę opuszczoną w dół lub wygiętą w postaci litery S. Po zagotowaniu płynu w tej kolbie powietrze przedostaje się przez szyję—lecz zarodki ulegając sile ciężkości pozostają w dolnej części rury doprowadzającej i płyn pozostaje czystym.

W końcu w 1877 roku Tyndal dowiódł, że w komórce o ścianach wysmarowanych gliceryną kurz i wszelkie cząstki zawieszony powoli opadają lub przylepiają się do gliceryny. Promień światła wpuszczony do tak urządzonej przestrzeni przestaje być w niej widzialnym — z przyczyny, że nie może się odbijać od drobnych zawieszonych w powietrzu cząstek. Gotowane wyciągi roślinne i zwierzęce postawione w takiej przestrzeni nie ulegają zmianie przez czas nieograniczenie długi.

Dla zwolenników samorodztwa pozostał jeszcze jeden punkt oparcia. Twierdzili oni, że wskutek gotowania podłoże o tyle się zmienia w swym składzie, że staje się niezdatnym do rozwoju życia. Zarzut to niewątpliwie słaby, dla czegoż bowiem życie rozwija się w tymże gotowanym wyciągu po wpuszczeniu doń nieco powietrza bez przefiltrowania lub innego oczyszczenia? To też już w 1857 r. Van der Broek dowiódł, że można bez zagotowania przechować w niezniszczonym stanie mocz, krew, sok winnego grona, przy zachowaniu tych tylko ostrożności, ażeby naczynia służące do zebrania i przechowania tych płynów były dostatecznie oczyszczone w płomieniu, czyli jak teraz mówimy sterylizowane czyli wyjałowione. Prócz tego naturalnie zachować należy ostrożność, ażeby podczas samego zbierania płynu niewpadły jakie zarodki z po-

wietrza — a więc zbierać je w przestrzeni od kurzu wolnej.

Pasteur (1863) później Burdon Sanderson, Rindfleisch, Klebs, Roberts, Lister, Caze-neuve i Lion, Chiene i Ewart, Leube, Watson-Cheyne, Hauser, Marcand otrzymali w podobny sposób w stanie czystym sok winny, mocz, krew, mleko, biało jaja, części świeżych kartofli, buraków i t. p., oraz części narządów świeżo zabitych zwierząt. Meissner przechowywał przez całe lata części kotów i królików w sterylizowanej wodzie bez żadnej zmiany—im dokładniej zachowaną była ostrożność, tem pewniejsze były wyniki.

Doświadczenia potwierdzające teorię samorodztwa, które wykonali znani badacze jak: Pouchet, Joly, Musset, Mantegazza, Wyman, Bastian, Huizinga, powtórzone zostały przez Pasteur'a, Hoffmann'a, Hartley'a, Burdon-Sanderson'a, Samuelson'a i innych. We wszystkich wykazanych zostały błędy dowodzące niezachowania należytej ostrożności w uchronieniu się od dostępu zarodków, jakkolwiek pozornie doświadczenia owe były wykonane z niezmierną ścisłością. Najwięcej błędów pochodziło z niezastosowania się do oporności zarodników bakterij względem podwyższonej ciepłoty.

Już Spallanzani zauważył, że pomimo szczelnego zamknięcia i długiego gotowania w niektórych naczyniach rozwijały się drobnoustroje, mianowicie jeżeli użytym zostało do doświadczenia mleko, ser, siano. Widocznym było, że z temi materjami wprowadzonymi zostają zarodki nie ulegające działaniu ciepłoty 100° C.

W r. 1872 Bastian ogłosił spostrzeżenie, które zdaniem jego dowodziło istnienia samorodztwa. Wyciąg z białego buraka po dodaniu małej ilości sera został przefiltrowany, zubożony przez dodanie sody, przez 10 minut gotowany i zamknięty hermetycznie podczas wrzenia. Po 3 dniach wyciąg zawierał niezliczone ilości bakterii. Cohn (1875) powtórzył doświadczenie powyższe i przyszedł do wniosku, że w serze zawie-

rały się zarodniki bakteryj odporne w ciągu długiego czasu na gotowanie. Toż samo pokazało się z nastojem siana, który zawiera zarodniki bacillus subtilis mogące pozostać przy życiu pomimo gotowania w ciągu godziny.

Sprawdziło się tedy wypowiedziane przed stu laty przypuszczenie Bonnet'a co do istnienia drobnoustrojów, jak obecnie wiemy ich zarodników, odpornych na wysoką ciepłotę.

Nowsze badania wykazały ogromną różnicę, jaka zachodzi pod względem stosowania podwyższonej ciepłoty do zniszczenia odpornych zarodników. Niektóre z nich przetrzymują ciepłotę suchą w ciągu 3 godzin dochodzącą do 140° C., gdy tymczasem zostają zabite w ciągu godziny przez stale działający strumień pary wodnej o ciepłocie 100°.

To też obecnie nikt z poważnych badaczy nie przypuszcza istnienia samorodztwa. Gdzie tylko, pomimo zachowania ostrożności, rozwijają się drobnoustroje, dowodzi to, że ostrożności były niedostateczne, że coś z nich zostało pominiętem lub źle wykonanem. Obecnie mając do czynienia z wielką ilością różnorodnych zarodków i fermentów, hodowanych na rozlicznych podłożach płynnych i stałych, zwierzęcych i roślinnych, nie spostrzegamy nigdy nic takiego, coby nam istnienie samorodztwa choć na chwilę pozwoliło przypuszczać.

3. Pierwsze próby klasyfikacji. Dalszy rozwój nauki o bakterjach.

Spostrzeżenia jakie w czasach Leeuwenhoek'a i później wykonano, zasługują na uwagę tylko ze względu na mozolność podejmowanych badań przy tak małych środkach optycznych, jakimi w owe czasy rozporządzano.

Von Gleichen zwany Russworm (1772) stara się nieco usystematyzować widziane

żyjątka i wyróżnia w ten sposób 21 odmiennych form.

Otto Fryderyk Müller (1786) w obszernej z wielkim krytycyzmem napisanej pracy charakteryzuje wszystkie dotychczasowe badania jako chaos różnorodnych spostrzeżeń, bez uwzględnienia cech rodzajowych spostrzeganych dotąd drobnych żyjątek.

To też bez względu na napotkane trudności, zabrał się Müller do klasyfikacji. Najpierw całą ilość form ukształconych niżej od „robaków“ nazwał „wymoczkami—infusoria.“ Te rozdzielił na obdarzone zewnętrznymi narządami i na nieposiadające takowych. Ostatnie podzielił na „membranacea“ i „crassiuscula.“ Crassiuscula zawierają najniższe rodzaje: „Monas, Proteus, Volvox, Enchelys i Vibrio; do rodzaju Monas należy 10 podrodzajów, do Vibrio zaś 31. Do wzajemnego odróżnienia spostrzeganych drobnoustrojów służą: kształt, ruch, miejsce znajdowania się, cechy biologiczne. Nie będziemy tutaj wchodzić w szczegóły; wspomniemy tylko że praca Müllera, opatrzona dokładnymi rysunkami, służyła za podręcznik przez długi czas badaczom późniejszym, którzy porobili w niej tylko nieznaczne zmiany.

Dopiero w 1838 Gottfryd Ehrenberg postawił nową klasyfikację opierając się na spostrzeżeniach własnych, dokonanych przy ulepszonych podówczas mikroskopach przez Chevalier'a w Paryżu oraz Pistor'a i Schieck'a w Berlinie.

Najdrobniejsze twory Ehrenberg połączył w dwie rodziny Monadina i Vibrionia.

41 podrodzajów tworzą Rodzinę Monadina; Ehrenberg cechuje je jako pozbawione ogona, gęby, oczu, niezłożone, co najwyżej w skutek poprzecznego podziału podwójne, istotki. Dzieli on je na dwa rodzaje: monady kuliste i laseczkowate; monady kuliste zaś na punkcikowate i jajowate. Punkcikowate monady, których przedstawicielem jest monas crepusculum, są już zaledwo dostrzegalne.

Vibrionia Ehrenberg opisuje jako Mona-

dina formujące nici przez niezupełnie poprzeczne dzielenie. Prostolinijne niezgięte twory nazywa on Bacterium, prostolinijne wyginające się węzowato—Vibrio, śrubowato skręcone niewyginające się—Spirillum; śrubowato skręcone wyginające się węzowato—Spirochaete.

Wszystkie pomienione twory Ehrenberg zalicza do zwierząt, a to z powodu silnie wyrażonego dowolnego ruchu, jaki się u większości spozstrzegać daje. W 1840 r. Ehrenberg zauważył, że błękitna i pomarańczowa barwa mleka kwaśnego, zależy od obecności drobnych żyjatek, należących do rodzaju vibrio. W 1848 r. z powodu różowej barwy pojawiającej się na artykułach spożywczych w Berlinie, Ehrenberg określił przyczynę takowej, jako drobne żyjotka: monas prodigiosa. (W r. 1819 w Padwie Dr. Sette określił przyczynę tego zjawiska, jako twór żyjący, nazwą Zoogalactina imetrofa).

Podział Ehrenberga z powodu niedokładności w oznaczeniu rodzajów napotkał przeciwnika w osobie Feliksa Dujardin'a (1841). Przyjmując rodzinę Vibrionia dzieli on ją na 3 rodzaje: Bacterium, Vibrio i Spirillum. W ogóle jednak Dujardin nie dokonał żadnego szczególnego postępu w klasyfikacji.

Na szczególną uwagę zasługuje innego rodzaju spozstrzeżenie Dujardin'a, potwierdzone później przez Pasteur'a, Cohn'a i Nägeli'ego. Zauważył on mianowicie, że niektóre chemiczne pierwiastki mocno sprzyjają rozwojowi drobnoustrojów. Za takie podał mianowicie fosforan sodowy, fosforan, szczawian, azotan oraz węglan ammonowy.

Praca Maksymiliana Perty'ego (1852) w której również zostają wprowadzone zmiany klasyfikacji, zaznacza inny pogląd na istotę Wibryonidów. Zdaniem jego z równym prawem mogą one należeć do działu botaniki jak i do zoologii. Pogląd ten oparty został na odkryciu ruchomych załączników wodorostów i grzybów, skutkiem czego rodzaj Monas uległ znacznemu uszczupleniu.

Ferdynand Cohn (1854) po zestawieniu wyników prac Ehrenberga przychodzi do wniosku, że w określeniach panuje wielki nieład z powodu przyjęcia rozmaitej wartości spozstrzeżeń oraz niejednostajnych powiększeń. Pomiędzy innymi zwrócił on uwagę na śluzowate kulki i massy, które mikroskopowo składały się ze skupień laseczek bact. termo Dujard., i w tej postaci pozostawały bez ruchu; tymczasem, gdy podczas obserwacji oderwały się od skupienia pojedyncze osobniki,—natychmiast ujawniały szybki ruch. Skupienie samo Cohn nazwał zoogloea, układ zaś i ruch pojedynczych bakterij przypominał mu takiż układ i ruch załączników pewnych wodorostów. Ztąd też Cohn wyprowadził następujące ważne wnioski

1) Vibrionia należą do roślin i zostają w pokrewieństwie z wodorostami.

2) Ze względu na bezbarwną zawartość i znajdowanie się w gnijących wyciągach, należą one do grupy wodnych grzybów.

Pomijamy inne bardziej szczegółowe wnioski Cohn'a, zaznaczając tylko, że odtąd bakterie zaliczane zostają przez większość badaczy do roślin, nie zaś do zwierząt.

Nägeli już przedtem zwracał również uwagę na bliskość form bakterij do niektórych bezbarwnych wodorostów. Nieco później zaś (1857 roku), na zasadzie własności biologicznych, Nägeli rozdzielił formy zabarwione i przyłączył je do wodorostów, od form bezbarwnych, które do grzybów zaliczył. Własności biologiczne, które posłużyły za podstawę do owego podziału są następujące: wodorosty z ciał niezłożonych—pierwiastków jak węgiel, tlen, wodór, azot, które otrzymują w postaci bezwodnika węglowego, amoniaku i wody pod wpływem światła przy współdziałaniu soli mineralnych wytwarzają wszystkie potrzebne składniki swego ustroju; grzyby tymczasem, podobnie jak zwierzęta i rośliny pasożytne nie posiadają własności wytwarzania ciał złożonych z pierwiastków i wymagają do podtrzymania życia wyższych związków czer-

panych jako już gotowe z ustroju zwierzęcego lub roślinnego. Podobne formy, obejmujące rodzaje: *Vibrio*, *Spirillum*, *Bacterium*, *Sarcina* i niektóre inne, Nägeli nazwał mianem „*Schizomycetes*“ (rozdziałkowe grzybki).

Podczas gdy jedni z badaczy starają się nadać temu zbiorowisku różnych form pewien całokształt, inni pracują w kierunku odmiennym; widząc związek pomiędzy materią organiczną a żyjątkami, starają się oni bliżej ten związek określić mianowicie w zastosowaniu do spraw zachodzących w materjach organicznych życia pozbawionych (fermentacja, gnicie) oraz w rozmaitych sprawach chorobowych, które słusznie uważać zaczynają za sprawy z fermentacją analogiczne.

W r. 1837 Cagniard Latour i równocześnie z nim Schwann zrobili spostrzeżenie, że kuleczki zauważone przez Leeuwenhoeka w płynach ulegających fermentacji alkoholowej jak piwo i wino, są to istoty żywe, rozmnażające się za pomocą pączkowania i są przyczyną fermentacji. Turpin nazwa je *torula cerevisiae*. Od czasu tego spostrzeżenia różni badacze wyteżyli usiłowania w kierunku odkrycia tych samych lub podobnych drobnoustrojów w różnych chorobach. Gdy w roku 1838 wybuchła w Europie cholera azyatycka, niektórzy badacze jak Boehm, znajdując w wypróżnieniach komórki drożdżowe, skłonni byli do przypuszczenia, że one to są przenośnikami a może i przyczyną zarazy.

Równocześnie Bassi zrobił spostrzeżenie, że choroba poczwarek jedwabnika zwana *Muscardino*, zależy od grzybka (*Botrytis Bassiana*) i może być za pośrednictwem cząstek tegoż przenoszona z poczwarek chorych na zdrowe. Pogląd oddawna rozpowszechniony, że niektóre choroby roślin (Prevost 1807) zależą od grzybków uzyskał obecnie punkt oparcia i w państwie zwierzęcem.

Odkrycia te dały pobudkę szerszym umysłom do mniemania, że przyczyną znacznej

części chorób zaraźliwych są zarazki natury żywej. Tak mniemał Henle w 1840 roku, jakkolwiek poszukiwania zarazki tyfusu, ospy, szkarlatyny pozostały bezowocne. Te usiłowania nie zniechęciły jednak Henle'go do dalszych doświadczeń i przypuszczeń, oraz zniewoliły do wypowiedzenia pewnych trafnych poglądów. Jako przyczynę nieudawania się poszukiwań przyjął Henle *brak odpowiednich środków optycznych oraz niemożność odróżnienia drobnych istotek, jakimi muszą być zarazki, od tkanek otaczających*. Że tak jest rzeczywiście dowiodły późniejsze prace, które były wykonane za pomocą ulepszonych powiększeń przy zastosowaniu metody barwienia.

Henle przewidział nawet sposoby jakich przyszłe badania będą musiały używać do rozpoznania, czy dane bakterie są rzeczywiście chorobotwórcami. „Nie dosyć jest, powiada, wykazać raz jeden w wydzielinie ludzkiej lub zwierzęcej, w ropie lub krwi obecność jakiegoś drobnoustroju; mógł on się tam dostać z powietrza lub inną jaką drogą. Ażeby go uważać za przyczynę choroby, trzeba znaleźć go w owej wydzielinie zawsze i stale, należy potem oddzielić go i w stanie czystym wypróbować, czy jest on w istocie przyczyną czy też tylko towarzyszem zarazy.“ Podane przez Henlego sposoby sprawdzenia, obecnie znajdują całkowite zastosowanie w odnalezieniu zarazki z pomocą mikroskopu, wyhodowaniu na sztucznym podłożu i następnem zaszczepieniu na zwierzę. Gdy te trzy drogi wykazują zgodny wynik, wtedy dopiero można przyjąć drobnoustrój za istotny zarazek.

Wtedy to rzucono się do wyszukiwania przyczyny wszystkich chorób w postaci mikroskopowych zarazków.

Zmiany chorobowe na powierzchni skóry ludzkiej i zwierzęcej, przypisywane zostają pasożytom natury roślinnej. Przy *Favus*, *Herpes tonsurans*, *Pityriasis versicolor*, *Soor*, znalezione zostają grzybniove nitki i zarodniki, które są już odtąd uważane i słusznie

za przyczynę chorób pomienionych. Inni badacze wykrywają podobne twory wewnątrz chorych narządów i tkanek: na błonie śluzowej przełyku, we wrzodach kiszki, w osłonkach zmarłych na tyfus, w śluzie nosowej koni chorych na nosaciznę, w płwocinie chorych na suchoty i zapalenie płuc. Jakkolwiek poszukiwania te były tylko wysiłkiem do wykrycia zarazki i potwierdzonymi nie zostały, wykazują jednak nowy w patologii zwrot, który już w naszych czasach co do niektórych chorób został pomyslnym uwieńczony skutkiem.

W tymże czasie bracia Goodsir (1842) wykryli w wymiocinach chorego na katar żołądka twory czworoboczne złożone z 8—16 sześciennych komórek, które w roku 1847 Virchow oznaczył jako grzybek i nadał mu nazwę *Sarcina ventriculi*.

Dalej następują poszukiwania zarazki cholery, która po raz drugi wybuchła w Europie. Swaine, Brittan i Budd (1849) spostrzegali w wypróżnieniach ciała, które jedni nazywali ciałkami pierścieniowatymi (Brittan) lub cholerycznymi (Swaine), inni zaś grzybkami cholerycznymi (Budd). Dalsze jednak badania dowiodły, że owe ciała były prawdopodobnie cząstkami pokarmowymi (Griffith, Bennet, Robertson). Pouchet i Pacini spostrzegli w wypróżnieniach wibryony, że to nie był jednak właściwy zarazek cholery, przekonywa nas o tem porównanie odnośnych rysunków. Były one znacznie większe, co jest zrozumiałem, gdyż bakterję cholery można widzieć dopiero przy silnych powiększeniach zbudowanych później.

4. Prace Pasteura nad fermentacją i gniciem. — Zarzuty Béchamp'a. Spostrzeżenia Lemaire'a. Wystąpienie Listera. Odkrycie bakteryj karbunkułu.

Jak już z poprzednio powiedzianego wiemy, prace Pasteura przyczyniły się głównie do wyświetlenia kwestyi samorodztwa. Wykazał on wtedy zależność rozkładu materii organicznej od drobnoustrojów zawartych

w powietrzu i warunki temu rozkładowi sprzyjające. Dalsze prace tego wielkiego uczonego, który wprowadził do badań niezbędną ścisłość, jako chemik i człowiek wyższymi zdolnościami spostrzegawczymi obdarzony, stanowią nową erę w dotychczasowych poszukiwaniach. Od nich właściwie możemy liczyć początek ścisłej nauki o fermentach i bakterjach.

Pasteur dowiódł, że przyczyną różnych fermentacji, jak mleczna, masłowa, octowa, są drobnoustroje, podobnie jak przyczyną alkoholowej fermentacji, przez Cagniard-Latour'a i Schwann'a wykrytą, są drożdże.

Metoda, którą się Pasteur posługiwał, polegała najpierw na oznaczeniu, na jakim podłożu w najbardziej typowy sposób pojawia się dana fermentacja, następnie na badaniu mikroskopowem drobnoustrojów towarzyszących sprawie, w końcu zaś na przeniesieniu cząstki fermentującej masy do podłoża płynnego utworzonego sztucznie z tychże składników. Płyn taki Pasteur oczyszczał od zarodków mogących się w nim znajdować za pomocą silnego i długiego gotowania. Gdy teraz pod wpływem przeniesionej cząstki fermentu dała się zauważyć fermentacja, której ostateczne produkty były też same co w podłożu naturalnem, przy równoczesnem rozmnożeniu się danego fermentu, obserwowanem pod mikroskopem, Pasteur wyprowadzał słuszny wniosek, że dany drobnoustrój jest przyczyną tej fermentacji.

W r. 1857 Pasteur ogłosił w ten sposób dokonane odkrycie, że przemiana cukru mlecznego na kwas mleczny zależy od właściwego fermentu „nowych drożdży,” znacznie mniejszych od znanych już drożdży piwnych. Te nowe drożdże rosną w odwarze zwykłych drożdży po dodaniu 50 gm. cukru do litra płynu i nieco kredy do zobojętnienia powstającego kwaśnego odczynu. Ztąd wypada, że przyczyną przemiany cukru na kwas mleczny nie są materje azotowe, jak dotąd mniemano, ale „nowe drożdże.“

Wkrótce wykazał Pasteur również, że kwas winny pod wpływem właściwego fermentu rozpada się na kwas prawo winny, fermentujący i lewo winny, pozostający niezmiennym.

Dalej wykrył Pasteur przyczynę fermentacji masłowej, w postaci ruchomej laseczki, która, zdaniem jego, zdaje się być wycieczkiem nie zaś grzybkim. Najbardziej szczególną własnością tego drobnoustroju jest to, że może on żyć równie jak drożdże bez powietrza, a nawet w atmosferze bezwodnika węglowego. Tlen szkodzi mu nawet, gdyż go stopniowo zabija. Odkrycie to było niezmiernie ciekawem, gdyż z wyglądu drobnoustrój należało zaliczyć do wibryonów, które zaliczano do zwierząt, zaś z własności przypominał on całkowicie rośliny. To też Pasteur wypowiedział tylko, że go „mało obchodzi czem jest ten wibryon, rośliną czy zwierzęciem. Życie bez powietrza i własności fermentacyjne odróżniają go od wszystkich znanych roślin i zwierząt.“ Obecnie od czasów Cohn'a wiadomo nam, że była to bakteria, która jak wszystkie inne z układu i własności musi być zaliczoną do grzybków, pozostających w najbliższym pokrewieństwie z bezchlorofilowemi wodorostami.

W r. 1863 Pasteur odkrył drugi podobny ferment niepotrzebujący powietrza czyli anaërobijny, ferment winianu wapna i wyhodował go sztucznie.

Gnicie, według dalszych poszukiwań Pasteur'a, zawdzięcza swe istnienie również wibryonom. Pasteur przyjmuje za Ehrenbergiem 6 rodzajów takowych: *vibrio lineola*, *v. tremulans*, *v. subtilis*, *v. rugula*, *v. prolifer* i *v. bacillus*. Wszystkie te fermenty gnicia Pasteur uważa za anaëroby t. j. ustroje żyjące bez przystępu powietrza.

Ważnem przez Pasteura dokonaniem spostrzeżeniem jest działanie t. zw. fleur du vin, i f. du vinaigre, czyli *mycoderma vini* i *m. aceti*. Są to kożuszki tworzące się na powierzchni wina i octu, których działanie

jest swoistem i czysto chemicznem. *Mycoderma vini* tworzy z alkoholem wodę i bezwodnik węglowy; *m. aceti* z alkoholem ocet, z octem wodę i bezwodnik węglowy. Kożuszki te działają jako fermenty tylko na powierzchni płynów; będąc zanurzone w głąb działać przestają.

Doświadczenia nad fermentacją wykonane Pasteur rozszerzył wkrótce na różne sprawy rozkładowe wina. Zdołał on wykazać, że wszystkie zależą od właściwych drobnoustrojów-fermentów, które opisał i wyhodował. W ten sposób dowiedzieliśmy się, że kwaśnienie wina zależy od tworzącego się na jego powierzchni kożuszka, *mycoderma aceti*: są to komórkowe krótkie członeczki; długość każdego dwa razy przenosi grubość, pośrodku są one nieco przewężone, łączą się w długie łańcuszki; gorzknienie zależy od skręconych i rozgałęzionych cienkich nitki około 0,02—0,04 mm. średnicy; przemiana zwrotna (*vin tourné*) zależy od delikatnych nierozgałęzionych nitki 0,001 mm. grubości mających, nieco podobnych do fermentu mlecznego. Ciągnięcie się win czyli przemiana śluzowa (*vin filant*) zależy od drobnych kuleczek połączonych w łańcuszki. Ferment ten przypomina Pasteur'owi z kształtu inny, znajdujący przy amoniakalnej fermentacji moczu. Czy owe zewnętrzne podobieństwo jest dowodem rzeczywistej tożsamości — miało być zadaniem dalszych poszukiwań.

Po tych badaniach Pasteur wykonał inne ważne spostrzeżenie nad chorobą jedwabników zwaną pebrine. Polega ona na rozmnażaniu się w ciele gąsienic jedwabnika błyszczących owalnych ciałek, które znajdują się również w rozwiniętych osobnikach i nawet w jajeczkach. Gąsienice z jajeczek zakażonych wylęgłe chorują i zanieczyszczając odchodami pokarm zdrowych również zakażają takowe. Choroba szerzy się szybko i ogarnia wkrótce całą hodowlę jedwabników, którą stopniowo niszczy, gdyż gąsienice umierają przed uformowaniem ko-

kona. Tylko staranne oddzielanie przy pomocy mikroskopu jajeczek zdrowych pozwala uniknąć i zatamować dalszy rozwój tej plagi. Jakkolwiek Pasteur nie określił natury żyjątku powodującego chorobę, jednak odtąd wyraźnem się stało, że niższe ustroje mogą być przyczyną zmian chorobowych zwierząt wyższych.

Te i wyżej wymienione odkrycia Pasteura, pozwoliły z nieoznaczonej ilości dotąd znanych form wyróżnić niektóre obdarzone wyraźnymi własnościami, co umożliwiło zaprowadzenie pewnego ładu w dotychczasowych pojęciach. Znaleźli się jednak i przeciwnicy, którzy twierdzili, że fermentacja i rozkład zależy od chemicznego składu podłoża, na którym się dana sprawa rozwija, skutkiem czego przy każdej sprawie rozkładowej znajdujemy nie jeden lecz kilka rodzajów różnych drobnoustrojów. Na ten zarzut odpowiedź w owe czasy nie była możebną, ponieważ ścisłe badania z czystymi hodowlami nie mogły być jeszcze przeprowadzone.

Jednym z najzaciętszych przeciwników Pasteura był Béchamp. Niewłaściwie mówimy był, gdyż wystąpienia jego sięgają naszych czasów. Jeszcze przed dwoma laty bronił on przed akademią lekarską w Paryżu swoich poglądów — niestety bezskutecznie. Po raz pierwszy Béchamp wystąpił w roku 1860. Natenczas nadawał on omawianym sprawom zupełnie inne wyjaśnienie niż Pasteur. Na podstawie mikroskopowych poszukiwań przy znacznych powiększeniach doszedł on do wniosku, że wszystkie zwierzęce i roślinne komórki napełnione są drobnymi kulistymi ziarnkami „granulations“, które z śmiercią ustroju nie giną, lecz przeciwnie żyją dalej i mogą być odnalezione w szczątkach organicznych, nawet przed tysiącami lat w formacji kredowej złożonych.

Owe drobne ciała „microzyma“ jak je nazywa Béchamp, są zdaniem jego przyczyną wszystkich spraw rozkładowych, tak we-

wnątrz ustroju, jak i po za nim; one również są przyczyną siły trawiącej soków w ustroju zwierzęcym, one powodują fermentację mleczną, masłową i inne. Po za ustrojem „microzyma“ zmieniają bardzo znacznie swe kształty i przyjmują takie jakie znamy np. w postaci łańcuszków, które Pasteur mianem „torula“ oznacza (obecnie nazywamy takie formy streptococcus). „Microzyma“ wydłużając się tworzą różne kształty znane pod nazwą bakteryj. Choroba jest nienormalnym rozwojem zwykle znajdujących się w każdym ustroju „microzyma.“ To też choroby nie są wcale wynikiem działania drobnoustrojów przeciwnie — drobnoustroje są wynikiem zmian chorobnych, są to niewłaściwie wykształcone „microzyma.“

Niektórzy znani badacze, jak Liebig, byli tego zdania, że przyczyną fermentacji są białkowate ciała zaczynające się rozkładać; to też teorie Pasteur'a nie należą do odrazu przyjętych, wywalczały one sobie podstawy bytu powoli i znajdowały potwierdzenie w spostrzeżeniach często w odmienny sposób i w innym celu wykonywanych.

Takiem jest spostrzeżenie aptekarza Lemaire'a, który doszedł do wyników zgodnych z Pasteur'em, pracując nad smołą gazową i jej produktem, kwasem karbolowym, czyli fenolem. Za pomocą licznych doświadczeń doszedł on do wniosku, że materje te powstrzymują życie drobnoustrojów. Porównując potem działanie fenolu na płyny fermentujące pod działaniem drożdży, oraz na materje będące pod działaniem fermentów bezustrojowych (dyastaza, myrozyna i inne) w pierwszym razie spostrzegł on zupełne znikanie fermentacji pod wpływem fenolu, podczas gdy w drugim — fermentacja szła w najlepsze. Ztąd wyprowadził on wniosek, że fermentacja alkoholowa zależy od istot żywych, podczas gdy fermentacja dyastatyczna zachodzi wskutek działania szczególnej materji chemicznej.

Toż samo działanie wywierał kwas karbolowy na gnijące materje organiczne. Do-

dając do jednego z naczyń napełnionych zdolną do gnicia materią organiczną nieco fenolu L. rozkładu nie otrzymywał, gdy tymczasem tenże występował bardzo szybko w innym naczyniu, do którego fenolu nie dodano. Ponieważ dodając nieco fenolu do limfy ospowej i szczepiąc takową, nieotrzymywał Lemaire żadnego śladu zapalenia i ospa się nieprzyjmowała, doszedł więc do wniosku, że fenol zabija również zarazki chorobowe. Zdaniem jego ropienie następuje pod wpływem ciałek do drożdży podobnych, które dostają się z powietrza i mnożąc się w ranie są główną częścią składową ropy: to też jeżeli przyłożymy do rany rozczyn fenolu ropienie nie powinno się pojawiać lub pozostać znacznie mniejszem. Tak się też rzecz miała w istocie, przyczyna tylko ropienia, jak obecnie wiemy, jest inną.

Wkrótce potem w Anglii pod wpływem prac Pasteura obalających teorią samorożdztwa, oraz teorią rozkładowego działania tlenu powietrza wypowiedzianą przez Gay-Lussac'a, Lister wprowadził opatrunki przeciwważakzne, niewłaściwie przeciwniezmieni zwane. Wyszedł on jak widzimy z zasady uchronienia rany od działania zarazków przeważnie w powietrzu otaczającym, oraz materyałach opatrunkowych i narzędziach zawierających się mogących. Pomimo świetnych wyników takiego opatrunku, brakło Listerowi podstaw do naocznego wykazania, jakie to czynniki wpływają na ropienie, jakie zarazki są jego przyczyną, jak to zrobił Pasteur dla fermentacji znajdując dla każdego jej rodzaju właściwy ferment.

W 1850 r. Davaine wspólnie z Rayer'em zauważyli w krwi padłej na karbunkuł owcy laseczkowate nieruchome twory, którym jednak nienadawali z początku żadnego znaczenia.

Toż samo nieco przedtem (w 1849 roku) zauważył Pollender, lecz dopiero w 1855 r. podjął on bardziej szczegółowe badania i dowiódł za pomocą różnych odczynników, że nie są to cząstki włókien pierwotnych, jak

chciał Meyer, ale raczej istotami roślinnego pochodzenia, przypominającymi *Vibrio bacillus*. Przytem Pollender zaznaczył, że laseczki owe zostają z karbunkułem w wyraźnym związku. Brandl z Dorpatu, potwierdził spostrzeżenie powyższe, przyczem dodał, że laseczki te znajdują się nawet w krwi żywych zwierząt na karbunkuł chorych, że znajdując się w krwi matki nieistnieją w ustroju płodu, nie sądził jednak ażeby laseczki same miały z chorobą jakiś związek. Leisering widział również owe laseczki u zwierząt padłych na karbunkuł, widział je jednak, jak mówi, również u czterech świń padłych na tyfus; uważa on je za cząstki tkanek i skrzepy włókniaka. Delafond znajdował te same laseczki w krwi zwierząt chorych na karbunkuł na pewien czas przed ich śmiercią, poczem ilość ich znacznie się powiększyła. Nastój z krwi i narządów zwierząt zmarłych na karbunkuł oraz ze zdrowych, po dłuższym stanie zawierał zupełnie podobne laseczki w obu razach. Na tej zasadzie Delafond sądzi, że są to rzeczywiście laseczki natury złośliwej, które przy karbunkule przedostają się do krwi z kanału pokarmowego i rosną dalej u zwierząt chorobą osłabionych. U zdrowych rzecz ta nie ma miejsca dla tego, że zdrowy ustrój z kanału pokarmowego nie przepuszcza do krwi takich tworów.

Dopiero po odkryciu przez Pasteura różnych drobnoustrojów obdarzonych zdolnościami fermentacyjnymi Davaine wpadł na myśl, że spostrzeżone przezeń laseczki, tak podobne do wibryona wywołującego fermentację masłową, są również jakimś fermentem. Że się rzecz ma w ten sposób, Davaine dowiódł szczepiąc krew zwierzęcia karbunkułowego zdrowemu. Nawet mocno rozcieńczona wodą—krew taka wywoływała karbunkuł; ztąd Davaine wyprowadził wniosek, że laseczki owe są przyczyną tej choroby. Niewszyscy jednak badacze przyjęli zgodnie spostrzeżenia Davaine'a. Tigri znalazł

takież same laseczki w krwi zmarłych na tyfus, Signol u koni padłych na tyfus, grypę, gangrenę i t. p., Chavlet w krwi ludzi zmarłych wskutek duszności i zmian w obiegu krwi, oraz w krwi królika, poddanej gnicciu, Pouchet przy zapaleniu oskrzeli, w jamie nosowej i zewnętrznym przewodzie słuchowym. Leplat i Jaillard inaczej postawili zarzut przeciwko teorii Davaine'a: ten szczepił krew, która jest płynem złożonym, i przypisywał chorobę tylko laseczkom w niej widzianym, a przecież laseczki mogą być tutaj tworem ubocznym. Wychodząc z zasady, że wszystkie laseczki jednakowo wyglądające muszą być biologicznie tezsame L. i J. przygotowali wyciągi z materii roślinnych i zwierzęcych, znajduwane zaś w nich wzajem do siebie podobne laseczki zastrzykiwali pod skórę zwierzętom bez wywołania karbunkułu. Davaine krytykując te doświadczenia odparł, że nie wszystkie laseczki w naturze spostrzegane są identycznymi własnościami obdarzone, dla tego też laseczki wywołujące gnicie nie są w stanie wywołać karbunkułu, jakkolwiek z pozoru oba rodzaje są do siebie podobne. W odpowiedzi na to L. i J. sprowadzili kawałek śledziony z owcy padłej na karbunkuł w Chartres do Paryża. Śledziona zawierała obficie laseczki; część śledziony została zaszczerpiona królikowi, który padł na karbunkuł, krew jego jednak przy mikroskopowym badaniu na pozór wcale laseczek nie zawierała, a pomimo to, zaszczerpiona wywoływała karbunkuł. To też zdaniem tych autorów laseczki są tylko towarzyszącym objawem, nie zaś przyczyną choroby. Davaine odparł na to, że choroba wywołana u królika przez L. i J. nie była karbunkułem, gdyż okres wylegania jej był znacznie krótszym, że przytem nie było obrzęku śledziony, że zwierzęta gnily szybciej, niż to bywa przy karbunkule ptaki zaś зараżały się również krwią tych zwierząt, co przy karbunkule miejsca nie ma, gdyż ptaki nie są nań wrażliwe.

Pasteur broniąc poglądów Davaine'a wypowiedział zdanie, że laseczki przez L. i J. szczepione są gnilnemi drobnoustrojami, dowodem czego była różnica polegająca na obecności na końcu każdej laseczki lub w jej środku — drobnego błyszczącego owalnego ciała, które znajdują się w fermentach masłowym i gnilnym, nie istnieją zaś w laseczkach właściwych karbunkułowi. Na podstawie wszystkich tych faktów Davaine wypowiedział zdanie, że nieruchome laseczki spotykane przy karbunkule są zupełnie innej natury niż ruchliwe laseczki, znajduwane przy gnicciu, posocznicy lub w nastoju siana. Robin zaliczył je do tworów roślinnej natury i oznaczył jak i Delafond mianem wodorostu *Leptothrix*. Wyraźnego dowodu nie było jednak ani na roślinne pochodzenie laseczek, ani na ich związek przyczynowy z karbunkułem. Dowody te w sposób niezbity dostarczone zostały dopiero przez Roberta Koch'a.

5. Dalsze poszukiwania nad zarazkiem żywym chorób zarazkowych. Wielokształtność grzybów i zmienność ich w zależności od podłoża. Metody hodowli Hallier'a i jego poszukiwania. Poglądy przeciwnie.

Doświadczeniem stwierdzone poglądy Pasteura na teorię fermentów, prace Davaine'a nad karbunkułem, odkrycie trychin, jako przyczyny poważnej bardzo choroby i równocześnie postępujące wiadomości z dziedziny pasorzytów niszczących rośliny zwróciły uwagę ogólną w kierunku żywego zarazka. Chęć odkrycia przyczyny różnych chorób, zmniejszyła krytycyzm konieczny przy podobnych pracach, to też znaczna część owoczesnych poszukiwań zdyskredytowaną została.

Salisbury (1866 — 68) znalazł w płwocienie chorych gorączkujących i zimniczych ogniska złożone z podłużnych komórek zawierających jądro, też same komórki znalazł

on również w cząstkach ziemi malarycznej zdaniem więc jego nie mogło być wątpliwości, że przyczyną malaryi był drobno-ustroj—wodorost zwany Palmella. W ropie przymiotowej oraz rzeżączkowej znalazły się silnie polyskujące ciała — musiały to być zarodniki grzybków *Crypta syphilitica* i *Crypta gonorrhoeica*. U ludzi, mających do czynienia ze zbutwiałą słomą Salisbury zauważył wyrzuty podobne do odry, w słomie zaś znalazł grzybek, który nazwał bez długich zachodów zarazkiem odry. W podobny sposób powynajdywał dla wielu zarazkowych chorób właściwe im pasorzyty, które nie były sprawdzone żadnym doświadczeniem za pomocą hodowli lub zaszczepienia zwierzętom. Wood, Leydig i William Pepper (1868) wkrótce wykazali na jak chwiejnych podstawach wsparł Salisbury swoją budowę, która też bardzo prędko runęła.

Podczas wystąpienia Salisbury'ego w Anglii, w Niemczech zaczął wykonywać swoje próby Hallier (1866) i zdawało się, że biorąc się do rzeczy z większą ostrożnością i ścisłością wprowadzi nieco więcej światła do tych krain nieznanych. Znając wyniki prac Pasteur'a stanął on jednak po stronie rozwijających się podówczas poglądów o wielokształtności form niższych ustrojów pasorzytowej natury.

Jeszcze w 1851 r. Tulasne zrobił godne uwagi spostrzeżenie, że rudawka winorośli (*Erysiphe*) może przedstawiać się trojako, zależnie od fazy rozwojowej narządów rozrodczych, tak, że to co uważano za oddzielny gatunek, było tylko formą przejściową zależną od gatunku rośliny, na której pasorzyt się rozwijał. Skutkiem tego przy badaniach nieodzowną zdawało się rzeczą badać dany grzybek na różnych gruntach odżywczych, od których jak sądzono zależał ten lub inny jego wygląd. Bail (1857) zauważył, że zarodniki pędzelkowatej pleśni — *Penicillium* — w zacierze piwowarskim pączkowały podobnie do drożdży, które nawet były zdolne do rozbudzenia fermentacji. Hoffman

(1860) otrzymał również drożdże przez umieszczenie *Penicillium* w mogących fermentować podłożach. Po zasianiu drożdży na kartoflu, otrzymał on *Penicillium*, *Mucor* i inne pleśnie — ztąd można było wnosić, że drożdże są tylko pewną odmianą wegetacyjną pleśni. Odszukanie związku pomiędzy bakteriami, monadami i wibryonami z jednej a drożdżami z drugiej strony zdawało się już tylko kwestią czasu i rzeczywiście Joanna Lüders (1867) nadała pozornie bardzo wyraźne podstawy temu pogładowi. Spostrzegła ona mianowicie, że z grzybni oraz zarodników różnych pleśni występowały drobne ciała, które rozwijały się dalej w bakterye, wibryony, *Palmella*, *Leptothrix*, lub drożdżowe komórki, zależnie od środka w jakim się znajdowały. Spostrzeżenia te znalazły potwierdzenie u Hensen'a, Karsten'a, Huxley'a i Béchamp'a.

To też wystąpienie botanika Hallier'a nie było wcale odosobnionem. Badając drobno-ustroje, znalazł on ten sam chaos, jaki przed nim spostrzegali inni. Chodziło już tylko o dokładne przestudyowanie całego cyklu form przejściowych z należą ostrożnością. W tym celu Hallier zbudował przyrządy odosabniające i hodowlane. Przyrząd odosabniający składał się z butelki z jednej strony połączonej z pompką powietrzną z drugiej zaś z butelką z kwasem siarczanym. Różne materiały mocno gotowane, były umieszczane w owej butelce i następnie na nich szybko zasiewano pewien grzybek. Dla odświeżenia powietrza przeprowadzano je za pomocą pompki po nad kwasem siarczanym, ażeby oczyścić od obcych domieszek. Za przyrząd hodowlany służył dzwon szklany, który stawiano do nalanej wodą podstawki, na dnie której było podwyższenie do umieszczania ugotowanych materiałów odżywczych.

Przyrząd odosabniający pozostawał zamkniętym do końca doświadczenia. Próby z przyrządu hodowlanego były brane codziennie do badań mikroskopowych. Porównywając wyniki otrzymane w obu przy-

rzędach Hallier sądził, że może z pewnością rozpoznać czy do hodowanego przyrządu dostały się obce drobnoustroje lub też nie.

Wynik tych doświadczeń był bardzo ciekawy—zdawało się, iż rozpoznanie drobnoustrojów zostało niezmiernie ułatwionem. Wszystkie one, o ile są ruchem nieobdarzone (bakterye, drożdże) należą do cyklu rozwojowego grzybów, ruchliwe zaś do cyklu wodorostów. Do jednego gatunku grzybów należą różne odmiany, morphe, np. główkopleśniowa odmiana (to co obecnie znamy jako *Mucor* lub *Aspergillus*), pędzelkowopleśniowa odmiana, (*Penicillum*) śnieciowa odmiana (*Ustilago*). Najważniejszą podstawą powstawania odmiany jest podłoże, na którym się ona rozwija. Ztąd więc grupa botaniczna „pleśni“ nie istnieje, jak również nie ma ścisłych granic między pleśniami i drożdżami: też same bowiem grzyby, które rosną bez powietrza jako drożdże — w powietrzu mają wygląd pleśni. Drożdże powstają w zdolnych do fermentacji podłożach z zarodników pleśni; też same zarodniki w podłożach obfitujących w azotowe części wydają bakterye i mikrokoki. Należy jeszcze według H. wyróżnić drożdże, pojawiające się w postaci kolonij, jak to widać na odmianie zwanej *sarcina* lub *merismopodia*. Powstają one, zdaniem Hallier'a, również z tychże zarodników przez ich podział poprzeczno-podłużny dając początek formom znanym pod postacią czworoboków.

Pochodzenie grzybków chorób skórnych Hallier pookreślał w następujący sposób: grzybek *parcha* (*Favus*) *Achorion Schoenleinii* jest odmianą *Oidium*, która należy do cyklu pędzelkowatego grzybka *Penicillum*, *Trichophyton tonsurans* (grzybek *Herpes tonsurans*) jest odmianą śnieci *Ustilago*; *Microsporon furfur* (grzybek *Pityriasis versicolor*) jest drożdżową odmianą *Aspergillus* i t. d.

Następie rozpoczął Hallier badania nad zarazkami chorób zakaźnych. Główną pobudką była nowa epidemia cholery. Podówczas Leyden i Wiewiorowski znajdowali przy

cholery twory laseczkowate (1866) *Mac. Carthey* i *Dove* silnie ruchliwe ciała, Kłob drobne zarodniki grzybków w ilości niezmiernej w ryżowatych wypróżnieniach. Hallier w swoim przyrządzie wyhodował mikrokok, który nazwał odmianą drożdżową podzwrotnikowej śnieci (*Ustilago*). Przy bardziej szczegółowem badaniu zdawało mu się nawet, że widział owocniki tegoż grzybka (sporangia), w kiszczkach osób zmarłych na cholere. Następnie (1868) znalazł Hallier również, że w różnych chorobach zaraźliwych jak: w ospie, tyfusie, odrze, przymiocie, rzeżączce, nosaciznie, błonicy, suchotach u bydła, i in., istnieje „micrococcus“, który doskonale i zawsze udaje się wyhodować z części chorobą dotkniętych w przyrządzie hodowlanym. Na podstawie tych poszukiwań H. wywnioskował, że wszystkie choroby zaraźliwe zależą od „mikrokoka grzybów i wodorostów“, który jako forma najmniejsza łatwo może przejść przez ścianki naczyń włosowatych. Całe zadanie polega więc według Halliera na odnalezieniu mikrokoka i wyhodowaniu z niego właściwego grzybka.

Odkrycia Halliera zrobiły ogromne wrażenie w kołach badaczy i profanów z powodu łatwej zrozumiałości całego układu ułożonego w doskonałą całość. Z różnych stron nastąpiły potwierdzenia spostrzeżeń przez Halliera dokonanych. Szczupłe jednak koło botaników, jak de Bary i Hoffman odrazu stanęli po stronie przeciwnej. De Bary mianowicie zwrócił uwagę na dziwny fakt: *penicillum*, grzybek bardzo rozpowszechniony w powietrzu, był również postacią, która najczęściej występowała jako ostateczne stadyum w drabinie rozwojowej Halliera. Ztąd powstaje podejrzenie czy zanieczyszczenie tym grzybkiem nie gra w spostrzeżeniach Halliera przeważnej roli. I rzeczywiście pokazało się, że ostrożności przedsiębrane przez Halliera w jego hodowlanym przyrządzie tylko pozornie chroniły od zanieczyszczeń, w rzeczywisto-

ści zaś, jak dowcipnie mówi Brefeld, hodowlany klosz na materyałach do hodowli użytych, był to gumowy płaszcz dany przemokłemu do nitki człowiekowi dla uchronienia go od spadających od czasu do czasu kropel deszczu. Materyały bowiem, na których Hallier szczepił swoje grzybki, pomimo ostrożności, były jednak zarażone już podczas wkładania ich pod dzwon szklany. Hofman znow wypowiedział dobitnie, że bakterye nie mogą powstawać z innych tworów jak tylko z podobnych sobie, a nawet zauważył (1869) że „bakterye punkcikowate nie zmieniają się w laseczkowate.“ Jak wiemy obecnie pogląd ten prawie w całości przyjęć można. Rindfleisch (1872) w poszukiwaniach swoich doszedł do tych samych wyników ze spostrzeżeń nad cząstkami mięsni świeżo wyciętych i umieszczonych w powietrzu zawierającym zarodniki pleśni. Mięso pleśniało, niegniło jednak i bakteryj w niem nie można było znaleźć, co miałoby miejsce według teorii Halliera, gdyby pleśń zmieniała się w bakterye pod wpływem podłoża obfitującego w części azotowe. Do podobnych wyników doszli również Burdon Sanderson (1871) Manassein i F. Cohn (1872). Powstawania bakteryj z pleśni bronił jeszcze Polotebnow (1876), lecz dalsze poszukiwania obaliły zupełnie teorią Halliera.

Znów więc teoria grzybkowego powstawania chorób zakaźnych została zdyskredytowaną; na ten raz o tyle więcej, że teoria Halliera wyglądała na bardzo ścisłą i doskonałą. To też odtąd wszelkie dalsze prace na tem polu przyjmowano z niedowierzaniem i występujący później Klebs nie znajduje wiary nawet w rzeczach bardzo dobrze spostrzeganych. Prace Letzerich'a, Tschamer'a i Talamon'a nad błonicą (*Tilletia diphteritica*) i szkarlatyną (*Zygodemus fuscus*), jako noszące wyraźne pochodzenie ze szkoły Halliera, obecnie również należą tylko do historii błędów bakteriologicznych.

6. Dalsze doświadczenia nad *contagium animatum*, pierwsze próby nad produktami bakteryj. Poszukiwania anatomo - patologiczne. Doświadczenia Klebs'a. Teoria Hüter'a.

Jakkolwiek więc Hallier nie wykrył prawy, ma jednak tę zasługę, że jeden z pierwszych uznał zależność form chorobowych od ciał ustrojowych, komórkowych. Badania dalsze w tym kierunku prowadzone, jakkolwiek obaliły jego teorię i spostrzeżenia, potwierdziły jednak zasadę.

Chauveau (1868) przepłukując kilkakrotnie ropę nosaciznowych wrzodów oraz limfę ospową przekonał się, że przefiltrowany czysty płyn nie zawiera zarazka, podczas gdy osad pozostały po filtracyi zakażał zwierzęta. Toż samo potwierdził Burdon Sanderson, badając limfę ospową. Mikrokok znaleziony przez Hallier'a w limfie ospowej spostrzegają również Keber, Weigert, Cohn, Zülzer, Luginbuhl; mikrob ruchliwy przy nosaciznie przez Halliera spostrzegany znajduje poparcie u Zürn'a i Semmer'a; potwierdzają istnienie bakteryi przy nosaciznie również Christot i Kiener, oraz Schurtz. Hüter i Tommasi znajdują ogromną ilość drobnitkich monad przy błonicy, jak również Buhl, Oertel i Nasiłow, którzy znajdują „mikrokoki“ nie tylko w częściach błonicą dotkniętych, ale nawet w naczyniach limfatycznych podśluzowych oraz w gruczołach limfatycznych. Toż samo potwierdza Eberth (1872).

Pewna liczba spostrzeżeń w owych czasach dokonana została również na gruncie odkryć Davaine'a i Pasteur'a, przyjęły one wszakże kierunek ogólnie wtedy panujący. Mayrhofer znalazł wibryony wewnątrz macicy położnic, mianowicie gorączkujących. (1863). Pouchet znalazł przy zapaleniu oskrzeli w płwocinie podobnie wibryony i bakterye. Leyden i Jaffe (1867) przy gnilem zapaleniu oskrzeli znaleźli bakterye

i spirylle w płwocinie oraz w chorych częściach płuc; toż samo spostrzegł Rosenstein. Traube podaje przykład silnego kataralnego zapalenia pęcherza wskutek dostania się doń bakterji za pośrednictwem nieczystego cewnika (1864). Rindfleisch, Wahl, Recklinghausen, Buhl, Waldeyer, podają różne spostrzeżenia, gdzie bakterje znajdowano w różnych wytworach patologicznych.

W poszukiwaniach wymienionych wyraźnie już kielkują coraz bardziej bliższe prawdy myśli o żywym zarazku „contagium animatum.“ Niektórzy badacze, nie mogąc inaczej objaśnić obecności znajdujących przy różnych sprawach chorobowych drobnych tworów, uważają je wprost za zarazki, nie badając ich natury ani związku z sprawą chorobową. We wszystkich tych spostrzeżeniach mowy niema o prawdziwie krytycznem badaniu, o zestawieniu danych przemawiających za lub przeciw — często drobne kryształki, domieszki, zanieczyszczenia, uważane są za drobnoustroje chorobotwórcze. Mowy nie ma również o racjonalnem oddzielaniu zarazków przez hodowlę i szczenie próbne—co zresztą zrozumieć łatwo z punktu widzenia Halliera, który prawie wszystkie zarazki sprowadzał do odmian penicillum i innych pleśni.

To też występują inni badacze, dla których przyczyną choroby nie są drobnoustroje lecz substancje chemiczne.

Już w r. 1856 Panum otrzymał z gnijącego nastoju mięsa silnie trującą substancję. Hemmer (1866) potwierdził wyniki Panum'a i przypisywał owemu jadowi działanie fermentacyjne. Bergmann i Schmiedeberg otrzymali z substancji gnijących „siarczan sepsyny“ o niezmiernie trującym działaniu na psy i żaby. Zülzer i Sonnenschein (1869) z cieczy gnijących otrzymali jady działające na wzór atropiny i hyoscyaminy.

Jako prawdziwy postęp w badaniach należy zaznaczyć odnalezienie stosunku pomiędzy drobnoustrojami a zmianami anatomo-

patologicznymi w narządach chorobami zaraźliwymi dotkniętych. Najważniejsze w tym kierunku spostrzeżenia datują od czasów Recklinghausena (1871). Dokonanemi zostały one nad ropnicą, gorączką połogową, nad tyfusem, goścem stawowym i t. p. We wszystkich tych sprawach R. znalazł drobne ogniska złożone z mikrokoków, które różniły się od tkankowych części odpornością względem pewnych odczynników jak kwas octowy, ług sodowy, gliceryna. Ogniska te leżały w naczyniach i po za niemi jak np. w pęcherzykach płucnych. Niedługo potem podobne spostrzeżenia, dokonane nad zmianą mięśnia sercowego przy ropnicy, ogłosił Waldeyer. Weigert w tymże czasie znalazł drobinki o charakterze bakteryalnym w skrawkach skórnych z ognisk ospy krwotocznej. Różnica od normalnych elementów tkankowych polegała na odmiennem zabarwieniu zapomocą amoniakalnego karminu. Jeszcze ważniejszym postępowaniem były spostrzeżenia dokonane w ciągu kampanii prusko-francuzkiej w 1870 — 1871 roku przez E. Klebs'a nad wydzielinami ran, w ropie których znajdował on stale bakterje gnilne „ciałka laseczkowate bez ruchu.“ — Klebs zaliczył je według szematu Halliera do Microsporon septicum grzybów pleśniowych. Badając tkanki chore, znalazł on go również w takowych i na podstawie dalszych badań przyjął, że grzybek ten jest przyczyną ropnicy, posocznicy i w ogóle ropienia. Tiegel i Zahn zachęteni przez Klebsa spróbowali wtedy, czy rzeczywiście grzybek znajdujący się w tkankach jest przyczyną tych spraw chorobowych: filtrując wydzieliny chorobowe przez gliniany cylinder nie zdołali oni wywołać u królików choroby przez zastrzyknięcie przefiltrowanego płynu—wywoływali zaś je z łatwością, zaszczipiając nieprzefiltrowany osad.

Dalej Klebs potwierdził spostrzeżenia Pasteur'a i innych, że mikrokoki nie rozwijają się w krwi zwierząt zdrowych. Zatapiając krew z żywego zwierzęcia w rurce wyjął-

wionej w płomieniu, nawet po bardzo długim czasie znajdował krew niezmienną.

Ażeby wykazać bezpośrednio, że mikrokokki są to ustroje obdarzone zdolnością rozmnażania się urządził on doświadczenie tak, ażeby można było widzieć sprawę rozmnażania w biegu. Ponieważ płyn nienadawał się jako podłoże do hodowli, gdyż mikrokokki bezustannie zmieniały miejsce, użył więc Klebs kleju z błon zwierzęcych, który zamknął w małych, płaskich szklanych komórkach i ogrzewał pod mikroskopem za pomocą odpowiednio obmyślanego przyrządu do ciepłoty 37 C°. Galareta topiła się dopiero przy 51°, a więc przy 37° pozostawała jeszcze stałą. Po wymyciu komórki szklanej za pomocą kwasu siarczanego, a potem destylowanej wody gorącej napełniał on ją gotującym się klejem i następnie dodawał kropelkę płynu badanego na bakterye. Takowe rozwijały się w postaci punkcików i za pomocą immersyi wodnej mogły być dość dokładnie widziane. W jednej takiej hodowli na kleju Klebs zauważył dwie laseczki, które po kilku godzinach dały dwie gwiazdkowato ułożone z laseczek grupki. Powoli wyrastały one w kuliste massy, które blisko siebie leżąc uciskały się wzajemnie—następnie wszystko skupiało się coraz mocniej, wreszcie przybierało postać jednostajnej masy, w której pływały niezliczone pojedyncze laseczki. Owe kuliste massy Klebs uważał jako przejściowe stadyum rozwojowe, „microsporon septicum.“ Według obecnych naszych pojęć było to rozwijanie się kolonii bakteryalnych, które stopniowo rozrzedzały klej, aż nareszcie mogły w nim pływać swobodnie oddzielne laseczki. Nie powiedzieliśmy jeszcze w jaki sposób Klebs doszedł, że ma przed sobą hodowlę czystą swego „microsporon.“ Oto sądził on, że w soku wyciśniętym z chorobą dotkniętego narządu bakterye są rozpostarte mniej więcej jednostajnie. Jeżeli za pomocą cienkiej rurki szklanej wziąć drobną kropelkę soku i przemieścić go do płynu odżywczego, — wyhodują

się przeważnie te bakterye, których w soku było najwięcej t. j. microsporon septicum. Jeżeli z tej hodowli zrobimy inną i parę razy zabieg ten powtórzymy, w końcu będziemy mieli przed sobą hodowlę microsporon bez żadnych domieszek. Klebs nie zwrócił jednak uwagi na to, że w jego hodowli będą się znajdowały nie te bakterye, których w soku najwięcej—lecz te, których rozwojowi dane podłoże najlepiej sprzyja. Jako płyn hodowlany został użyty roztwór wianianu amonii. Metodę swą Klebs nazwał „metodą hodowli cząstkowej, „fractionirte cultur,“ która oczywiście została zapożyczoną z metod Pasteur'a.

Jakkolwiek spostrzeżenia Klebsa nad rozwojem kolonii w kleju były prawie zupełnie słuszne i tylko niewłaściwie objaśnione, nie doznały one jednak gościniego przyjęcia u badaczy dopiero co zawiedzionych metodami Halliera. Tylko Letzerich potwierdził spostrzeżenia Klebs'a. Z drugiej jednak strony poszukiwania anatomopatologiczne Klebs'a nad ropnicą i gorączką połogową znalazły naśladowców w osobie Birch-Hirschfeld'a, Vogt'a, Heiberga i Orth'a.

Stosunek bakteryj do spraw chorobowych zyskiwał przytem coraz nowe punkta oparcia. Hüter (1873) wypowiada pogląd, że drobnoustroje są nie tylko przyczyną ropienia, zapalenia, chorób przyrannych, ale w ogóle większej części chorób. Gdzie tylko powstanie uszkodzenie skóry, naskórka lub nabłonkamony znajdujące się masami w powietrzu wtłaczają się tam i powodują choroby: w pęcherzykach płucnych, nabłonka pozabawionych — zapalenie płuc; w otwartych gruczołach łojowych — pryszcz lub trądzik, dostając się do otworu gruczołu ślinowego — zapalenie tegoż i t. p. Przeciskając się przez komórki naczyń krwionośnych dają one początek ich osłabieniu, rozszerzeniu drobnych żył i tętnic, powodują zatrzymanie się obiegu krwi i nagromadzenie w miejscach zajętych białych ciałek krwi, które zostają napełnione bakteryami. Gdy ciała czerwone

zostaną zajęte przez monady następuje gorączka jaką mamy np. przy szkarlatynie, róży, błonicy. Odróżnić należy gorączkę posocznicową, która powstaje skutkiem wessania do krwi bakteryalnych produktów. Przy tężcu monady dostają się wzdłuż nerwów aż do środków nerwowych wszędzie pobudzając i drażniąc układ nerwowy. Żoły powstają wskutek przenikania monad do krwi przez zbyt szerokie naczynia limfatyczne.

Teorya Hütera jakkolwiek bardzo dobrze wyjaśniała powstawanie i szerzenie się w ustroju spraw zakaźnych oraz była w zgodzie z zapatrywaniem Listera—pozostała wszakże tylko teorią, faktycznego oparcia bowiem Hüter jej nie dostarczył, faktami zaś tylko można było udowodnić, że dana sprawa chorobowa zależy od tych, a nie innych pasorzytów, że pasorzyty dane nie są przypadkowym wynikiem lub towarzyszem sprawy chorobowej lecz jej przyczyną.

7. Fakta potwierdzające różnogatunkowość drobnoustrojów. — Hodowle Schroeter'a na stałych podłożach. Klasyfikacya Cohn'a i jego badania nad biologią bakteryj i ich własnościami fizyologicznymi.

Spostrzeżenia, z których wynikać się zdawało, że różne drobnoustroje mają niejednokrotne znaczenie w gospodarstwie przyrody, nieznalazły powszechnego przyjęcia. Jak widzieliśmy już Pasteur zauważył, że gnicie zależy od ruchliwych drobnoustrojów żyjących bez powietrza czyli anaërobijnych; karbunkuł według niego, zależy od innych pasorzytów; gnicie zaś niszczy zarazek karbunkułu. Leber i Rotenstein znaleźli przy pruchnieniu zębów ustroje barwiące się pod wpływem jodu na kolor błękitny; Birch Hirschfeld zrobił spostrzeżenie, że ropnica powstaje przy ranach, pomimo opatrunku wykluczającego możliwość gnicia—oraz, że wydzieliny ropne poddane gniciu tracą zdolność wywoływania ropienia. Niektóre dro-

bnoustroje znajdujące w rozkładających się materjach przez sam kształt do tego stopnia się różnią od innych, że stanowczo mogą być zawsze rozpoznane i od innych odróżnione. Mamy w tej chwili na myśli sarcina ventriculi odkrytą przez braci Goodsir (1842) oraz bacillus amylobacter odkryty przez Trécul'a (1865). Różnią się one kształtem od wszystkich innych znanych, a ostatni barwi się z jodem na kolor błękitny, podobnie jak krochmal, z kąd nazwa amylobacter. Te i inne prace dowodzące, że istnieją wyraźne typy drobnoustrojów o cechach stałych, niewystarczyły jednak; główną przyczyną niewiary w działalność bakteryj było to, że nie można było oddzielić bakteryj jednych od drugich. Dopiero po ścisłych pracach przy zastosowaniu stałego podłoża do hodowania bakteryj zaczynamy otrzymywać wyniki, których wartość pozostaje niezachwianą i pozwala ściśle i dokładnie kontrolować sprawy przez bakterye wywoływane.

Pierwszym badaczem, który zastosował do bakteriologicznych doświadczeń metodę hodowania bakteryj na podłożach stałych i doszedł do ważnych wyników ogólnych, pracując nad bakteriami tworzącymi barwniki, był Schroeter (1871). Wprawdzie już przed nim Hoffman robił podobne badania, nie doszedł jednak do żadnych poważniejszych wyników. Schroeter rozpoczął doświadczenia nad barwnikiem tworzącym się podówczas niezwykle często na różnych artykułach spożywczych w Wrocławiu (1868—70). Dostyc było nakrótka wystawić na powietrze części kartofla lub chleba, ażeby otrzymać plamki różowe, śluzowatej zwartości. Ciałka owalne, bez ruchu, znajdujące w owym śluzie, znane od czasu Ehrenberga jako monas prodigiosum, Schroeter nazwał Bacterium prodigiosum. Najładniejszy kolor różowy występował przy odczynie słabo kwaśnym; gdy ten stawał się nieco alkalicznym barwa przechodziła w pomarańczową; gdy śluz stawał się brudnożółtym natenczas dawał

się spostrzegać ruch pod mikroskopem; Schroeter zrobił słuszną uwagę, że wówczas prawdopodobnie inne bakterye wstępują na miejsce tamtych i ztąd spostrzegać się daje zmiana postaci samej masy oraz ów ruch. Następnie zauważył Schroeter, że obok czerwonych plamek tworzą się na kartoflu inne koloru pomarańczowego — i kolor ten zachowują stale nie zmieniając go na różowy. Jeszcze inne o wyglądzie suchych łuszczyk miały kolor żółty i składały się z czwórek sarciny. Znacznie różnił się od innych rodzaj bakteryj sprowadzający żółknienie mleka. Jeszcze inny rodzaj dawał zabarwienie ciemnofioletowe, które było bardzo trwałe. Mikroskopowy wygląd każdego z wymienionych rodzajów odróżniał je wzajemnie od siebie bardzo wyraźnie.

Z poszukiwań swoich nad bakteryami barwnymi Schroeter wyprowadził wniosek następujący: drobnoustroje tworzące barwniki możemy odróżnić łatwo za pomocą zwykłych naszych środków optycznych; różnią się one pomiędzy sobą tak, jak wytwarzane przez nie barwniki. Ztąd można by więc sądzić, że każdy barwnik bierze początek od właściwego drobnoustroju i na tej zasadzie można by utworzyć rodzaje: bacterium prodigiosum, aurantiacum, luteum, cyaneum, violaceum, brunneum.“ Schroeter popełnił jednak ważny błąd nie zwracając wielkiej uwagi na własności morfologiczne drobnoustrojów przez siebie spostrzeganych, skutkiem czego nie mogło być mowy o ich prawidłowem rozdzieleniu i badaniu czystych hodowli.

Błąd powyższy zostaje usunięty w pracach Ferdynanda Cohn'a (1875). Łącząc biologiczne i morfologiczne właściwości spostrzeganych drobnoustrojów badacz ten zbudował układ, w którym systematyzuje cały dotąd spostrzegany bezład w pewien porządek.

Bakteryami mianuje on „komórki bezchlorofilowe, o kształtach kulistych, podłużnych lub laseczkowatych, komórki, rozmnażające

się przez podział poprzeczny oraz rosnące pojedynczo lub w koloniach.“ Niewłączył on tutaj Sarciny, która wyłamuje się z pod tego układu wskutek swego poprzecznie-podłużnego sposobu rozmnażania.

Cohn dzieli bakterye na cztery grupy (tribus), z których każda zawiera jeden lub więcej rodzajów różniących się na podstawie cech morfologicznych lub rozwojowych.

Grupa I. Sphaerobacteria (bakterye kuliste).

rodzaj 1 Micrococcus (mikrokok).

Grupa II. Microbacteria (bakterye laseczkowate).

rodzaj 2 Bacterium (bakteryja).

Grupa III. Desmobacteria (bakterye nitkowate).

rodzaj 3 Bacillus (lasecznik).

rodzaj 4 Vibrio.

Grupa IV. Spirobacteria (bakterye śrubowe).

rodzaj 5 Spirillum.

rodzaj 6 Spirochaete.

Cohn rozumiał przytem trudności, jakie podobny układ nastęrczał i dla tego zrobił zastrzeżenie co do zmian, jakie zająć mogą w układzie, w razie jeżeli cechy morfologiczne nie będą się mogły ostać przed ściślejszemi późniejszymi badaniami. Mówi on przytem że: ponieważ niepodobna oddzielić pojedynczych bakteryj i w tym stanie ich badać, przy badaniu zaś całych mass hodowlanych zawsze może się znaleźć domieszka innego rodzaju, nieposiadamy zatem dotąd sposobu, któryby pozwolił na ścisłe odróżnienie wieku oraz stanu rozwoju, rodzaju i odmiany; w obec tego każda drobna nawet morfologiczna różnica dużo stanowi musi i lepiej utworzyć więcej nowych rodzajów niż połączyć różne w jeden. Czy należy rozróżnić wzajemnie podobne formy jeżeli, zależnie od gruntu na jakim rosną, wywołują one różne sprawy rozkładowe i fermentacyjne? na to Cohn nie daje stanowczej odpowiedzi, twierdzi jednak, że nie tak się rzecz ma, iż jeden i ten sam rodzaj bakte-

ryj znajdując się w winie lub w moczu tamto robi śluzowatę ten zaś alkalicznym, lub też, że też same bakterye tu tworzą kwas masłowy, tam karbunkę, gdzieindziej na kartoflu tworzą czerwoną plamę lub błonę w gardzieli człowieka, lecz, że zapewne późniejsze badania przy dokładniejszych środkach optycznych wykażą różnicę pomiędzy temi napozór obecnie podobnymi do siebie, jakkolwiek różnymi fizyologicznie, drobno-ustrojami. Cohn sądzi przytem, że fizyologiczne różnice mogą pochodzić wskutek stopniowego przystosowania się jednego gatunku bakteryj do różnych warunków życiowych; w wyższym świecie roślinnym podobny przykład widzi Cohn w słodkim i gorzkim migdale, które pochodzą z jednego pierwotnego gatunku.

Pogląd wypowiedziany w 1853 roku, co do zaliczenia Vibriónów do państwa roślinnego, obecnie Cohn rozszerzył na wszystkie bakterye. Zalicza on je teraz do wodorostów, jakkolwiek warunki życiowe czynią je podobnymi do grzybów. Połączył on je w jeden rząd pod nazwą „Schizosporeae.“ Mikroccoccus i bacterium objął on mianem Chroococcaceae (χρῶς—skóra), Sarcina przyłączył do Merismopodia, bakterye nitkowate do Oscillariaceae — Beggiatoa i Leptothrix, bakterye śrubowe do Spirulina. Drożdże i pleśnie zostały ze związku wyłączone na zasadzie różnicy w rozmnażaniu; jakkolwiek czerwone drożdże tworzą na kartoflu plamki podobne do bacterium prodigiosum, to jednak mnożą się one za pośrednictwem pączkowania, gdy tymczasem bakterye dzielą się poprzecznie. Pleśnie również różnią się sposobem rozmnażania. Ani drożdże, ani pleśnie nie zmieniają się w bakterye i odwrotnie, to też po zasianiu bakteryj tylko bakterye mogą wyrosnąć.

Dla bakteryj kulistych Cohn pozostawił nazwę przez Hallier'a wprowadzoną „micrococcus“, nadając jej jednak zupełnie odmienne znaczenie. Oto jego określenie: są to komórki bezbarwne lub lekko zabarwio-

ne, bardzo drobne, kuliste lub nieco owalne, nieruchliwe, przez podział poprzeczny połączone w podwójne lub z kilku członczków złożone nitki (torula) lub też w grupy z wielu osobników (kolonie, nagromadzenia) albo w śluzowe masy—skupienia (zoogloea). Ponieważ odmiany tego rodzaju z trudnością mogą być odróżniane z kształtu i wielkości — Cohn przyjął za podstawę do podziału ich fizyologiczne własności i rozdzielił na 3 grupy: 1) tworzące barwniki (chromogene), 2) rozkładowe, gnilne (zymogene), 3) chorobotwórcze (pathogene). Bakterye barwnikowe Cohn rozdzielił na 2 klasy: w jedną połączył mikrokokki, których barwniki są w wodzie rozpuszczalne i skutkiem tego rozszerzają się po podłożach na których rosną: m. aurantiacus, m. chlorinus, m. cyaneus, m. violaceus, do drugiej zaś zaliczył te mikrokokki, których barwniki nie są w wodzie rozpuszczalne: m. prodigiosus, m. luteus, m. candidus.

Wszystkie te mikrokokki barwnikowe udało się Cohn'owi wyhodować nie tylko na kartoflu ale i w sztucznych podłożach. Barwnik błękitny m. cyaneus nie formował się w płynie zawierającym winian amonii, tworzył się zaś po dodaniu octanu amonii. Wyniki prac Cohn'a w tym przedmiocie podjętych poniżej w krótkości przytaczamy.

1) Mikrokokki barwnikowe są to drobne kuleczki, z wyglądu mikroskopowego, sposobu rozmnażania, formowania śluzu, potrzeby tlenu i alkaliczności odczynu zupełnie do siebie podobne, przedstawiają zaś bardzo nieznaczne różnice co do kształtu i wielkości.

2) Barwniki utworzone przez nie różnią się znacznie pomiędzy sobą ze względu na własności widmowe (spektralne), mniejszą lub większą rozpuszczalność w wodzie lub alkoholu, podobieństwo do anilinowych, lakmusowego i innych barwników.

3) Każdy rodzaj pomimo ciągłego hodowania na różnych podłożach (białkowe lub bezbiałkowe) stale tworzy ten sam barwnik.

4) Rozmaitość barwników zależy nie od rozmaitości podłoża lub sposobu odżywiania, ale od własności fizyologicznych samego drobnoustroju, które mogą być objaśnione tylko na zasadzie różnic wrodzonych i właściwości gatunkowych.

O mikrokokach rozkładowych i chorobotwórczych Cohn nie daje nam tak dokładnych objaśnień. Za przedstawiciela pierwszego rodzaju uważa zaczyn alkalicznej fermentacji moczu odkryty przez Pasteur'a *micr. urinae*, oraz twór kulisty znajdujący w nastojach roślinnych—*monas crepusculum*. Z chorobotwórczych Cohn wymienia: *micr. vaccinae*, *m. diphtheriticus*, *m. septicus*, *m. bombycis*—wszystkie obecnie odrzucone lub za niepewne uznane.

Bakteriami laseczkowatymi—*Microbacteria*, z gatunkiem *Bacterium*, Cohn mianuje krótkie, cylindryczne lub eliptyczne komórki, które nigdy nie tworzą łańcuszków lub nici, lecz czasem łączą się za pomocą substancji kleistej w zoogloęa czyli skupienia; ruchliwość zaś posiadają lub nie, zależnie od stadyum rozwoju. Jako jedyną przyczynę gnicia Cohn uważa „*bacterium termo*,” wszystkie inne grają przy rozkładowych sprawach, zdaniem jego, rolę podrzędną.

Cohn przyjmuje również jeszcze *b. lineola*, oraz sądzi, że fermenty mleczny i octowy również do bakterij zaliczyć można.

Bakterye nitkowate—*Desmobacteria*, można, według Cohn'a, rozdzielić na dwa rodzaje: *Bacillus* i *Vibrio*; pierwszy jest laseczką prostą, drugi wygiętą; nie tworzą one skupień, bywają ruchliwe lub nie, oddzielne członeczki podobne są do *b. lineola*, intki w miejscach zgięcia nie są przewężone lecz zupełnie równe, jak *Oscillaria*, i w tej formie nazywa je *Leptothrix*.

W rodzaju *Bacillus* Cohn umieszcza: *B. subtilis*, o nitkach bardzo cienkich i gnących się, *B. ulna*, o nitkach prostych grubych, *B. anthracis* podobny do *subtilis*, tworzący jednak inny gatunek ze względu na fizyolo-

giczne własności. *B. subtilis* Cohn utożsamia z fermentem masłowym Pasteur'a.

Mianem *Vibrio* — Cohn oznacza giętkie, śrubowato skręcone laseczki, i odróżnia dwa podrodzaje: 1) *vibrio rugula*, μ ¹⁾ mający 8—16 długości z drobnaziarnistą zawartością, składa się z 2 laseczek o jednym zgięciu, kształtem przypominając literę S; laseczki pływają wyginając się na wzór węgorza. 2) *Vibrio serpens* o połowę cieńszy, składa się z 3—4 wygięć.

Co do bakterij śrubowych Cohn zostawia podział Ehrenberga: *Spirillum* o krótkiej, mniej wygiętej, grubszej formie śrubowej, i *Spirochaete* w formie delikatnej o wielu skrętach cienkiej śruby. Rozróżnia on: 1) *Spirochaete plicatilis*; 1) *Spirillum tenue*, 2) *S. undula* i 3) *S. volutans*. *Spirochaete plicatilis* Cohn znalazł w osadzie na zębach; 3 podrodzaje *Spirillum* różnią się grubością: pierwszy, *S. tenue* różni się od *Spirochaete* mało co większą grubością i jest krótszy. *S. undula* znacznie grubsza i krótsza. *Sp. volutans* posiada grubość *b. subtilis* i na końcach po jednej ruchliwej migawce.

Nadając największe znaczenie cechom morfologicznym, Cohn musiał naturalnie zbadać troskliwie zależność takowych od warunków odżywiania i rozwoju. Wskazówek w tym względzie dostarczyły mu genialne spostrzeżenia Pasteur'a (1858) nad rozwojem drożdży. Wykazał on, że grzybki drożdżowe składają się jak i inne rośliny z węgla, tlenu, wodoru, azotu, oraz soli mineralnych, z pomiędzy których najważniejsze znaczenie posiada potaż i kwas fosforowy; drożdże rozwijają się należycie wtedy tylko, gdy posiadają w podłożu wszystkie te niezbędne składniki. Dalej Pasteur dowiódł, że tlen i wodór drożdże pobierają z wody, azot z amoniaku, węgiel zaś nie z bezwodnika węglowego, jak rośliny zielone, ale z cukru. Jako normalny płyn odżywczy dla drożdży Pasteur podał:

¹⁾ μ = 0,001 milimetra.

100 cz. wagowych wody destylowanej, 10 cukru trzcinowego, 1 winianu amonii, i 0,075 popiołu drożdży otrzymanego z 1 części wagowej drożdży spalonych. Ów płyn Pasteur'a. Burdon Sanderson uznał za bardzo odpowiedni również do hodowania bakteryj.

Cohn zauważył, że bakterye lepiej rozwijają się w płynie Pasteur'a bez dodatku cukru. Obok płynu Pasteur'a Cohn używał również płynu Mayer'a składającego się z 20 cz. wody, 0,1 fosforanu potasu, 0,1 siarczanu magnezyi, 0,01 trójfosforanu wapna i 0,2 winianu amonii. Również używał Cohn płynu Wolffa albo Kopp'a (dodatek azotanu lub chlorku wapna).

Do zakażenia Cohn brał kropelkę bakteryalną (zawierającą około 1 bakteryi) pochodzącą z mocno rozcieńczonego wyciągu roślinnego zawierającego przeważnie lub jedynie b. termo.

W płynach zawierających jedynie sole mineralne w wodzie rozpuszczone, bakterye się nie rozwijały. Zmętnienie następowało dopiero po dodaniu winianu amonii. Ztąd Cohn wywnioskował, że b. termo rozwija się w podłożach pozbawionych cukru i części białkowatych wtedy tylko, gdy za źródło azotu służy im amoniak, bezwodnika węglowego—kwas winny. Inne kwasy organiczne: bursztynowy, mleczny, octowy mogły zastępować kwas winny, również inne związki węgla, jak cukier mleczny, gliceryna i błonnik (celluloza) mogły być chłonięte przez bakterye; tylko bezwodnik węglowy z węglanu amonii nie był chłonięty. Również sam mocznik nie mógł być źródłem węgla, stawał się niem jednak po zmieszaniu z winianem potasu, lub innym jakim bezazotowym związkiem.

Ze spostrzeżeń powyższych Cohn wywnioskował, że bakterye rozwijają się zupełnie prawidłowo, jeżeli znajdują potrzebne sole mineralne w roztworze, oraz jeżeli pobierają azot z amoniaku lub mocznika, a prawdopodobnie również z kwasu azotowego, węgiel zaś z jakichbydzwiązków organicznych.

Ażeby unaocznić całą ważność rozmnażania się bakteryj na otaczającą przyrodę i wynikającą ztąd ilość pracy Cohn przytacza następnę obrachowanie: przyjmując, że jedna bakteria w ciągu pół godziny rozdziela się na 2, te na 4 i t. d. po 24 godzinach ilość ich wyniesie $16\frac{1}{2}$ miliona; po 2 dniach otrzymamy ogromną ilość 281 bilionów; zaś po tygodniu ilość ich możnaby wyrazić liczbą o 51 cyfrach. Ażeby te liczby uczynić bardziej zrozumiałemi obrachujemy objętość i ciężar otrzymany z jednej bakteryi. Pojedyncza komórka b. termo posiada kształt krótkiego cylindra $\frac{1}{1000}$ milimetra średnicy i około $\frac{1}{500}$ mm. długości: w takim razie 1 milimetr sześcienny zawierać będzie 633 miliony bakteryi. Po 24 godzinach z jednej laseczki otrzymujemy $\frac{1}{40}$ sześć. milimetra; po 2 dniach mieć będziemy 442 centymetry sześć. czyli prawie pół litra. Przyjmując, że przestrzeń zajęta przez oceany kuli ziemskiej jest równą $\frac{2}{3}$ powierzchni ziemi i głębokość wynosi przeciętnie 1 mil. otrzymamy zawartość oceanów równą 928 milionów mil sześciennych; gdyby nasze bakterye mnożyły się bez przeszkody to po niespełna 5 dniach zajęłyby całą tę przestrzeń. Ilość ich wyrażałaby się natenczas liczbą o 37 cyfrach.

Niemniej przerażającym jest stosunek wagowy. Przyjmując ciężar właściwy bakteryi jako równy ciężarowi wł. wody wypadnie, że jedna bakteria waży 0,000,000,001,571 miligrama czyli, że 636 miliardów bakteryi waży gram, lub że 636.000 miliardów waży kilogram. Po 24 godzinach ciężar bakteryj z jednej laseczki powstałych wyniósłby $\frac{1}{40}$ miligrama, po 48 godzinach 442 gramy, po 3 dniach około $7\frac{1}{2}$ miliona kilogramów.

Zgodnie z Pasteurem Cohn przyjmował, że „gnicie towarzyszy nie śmierci lecz życiu;“ z powodu jednak braku chemicznych danych nie wiadomo było jak oddziałują bakterye przy gniciu. Mogą one czworako się zachowywać względem substancyj rozkładanych: 1) rozkładając materye białko-

wate i chłonąc je wprost lub też: 2) wydzielając uprzednio ferment rozpuszczający białko; wreszcie; 3) zabierając im tlen, 4) oddając tlen, czyli działając odtleniająco lub utleniająco. Możliwymi są również wszelkie kombinacje czynności powyższych.

Czyniąc doświadczenia nad barwnymi bakteriami Cohn przyszedł do wniosku, że przy żywieniu sztucznem (za pomocą związków amonowych) tworzą one też same produkta jakie otrzymujemy przy żywieniu naturalnem. Ztąd widać, że bakterye rozszczepiają drobinę białka na amoniak i gazowe oraz płynne produkta uboczne: tak samo działają drożdże na cukier rozkładając go na alkohol, bezwodnik węglowy, glicerynę i kwas bursztynowy.

Cohn wypowiedział również wówczas ważny pogląd, przez długi czas zapoznany przez lekarzy, że dopóki nie znajdowaliśmy różnicy między jedną a drugą bakterją i sądziliśmy, że powstają one z zarodników pleśni i grzybów, dotąd nie było mowy o naukowem badaniu zarazków. Pierwszym krokiem do postępu było wyraźne oznaczenie granicy pomiędzy bakterją gnilną a chorobotwórczą. Poszukiwania Davaine'a, Pasteur'a i Klebsa nie pozwalają wątpić, że bakterye gnilne, wszędzie rozpowszechnione, są różne od chorobotwórczych. Poszukiwania Chauveau dowiodły również, że zarazek nie zawiera się w płynie przefiltrowanym przez porowatą glinę, będąc związanym z materją stałą. Jak działają bakterye chorobotwórcze, tego dotąd, mówi Cohn, nie wiemy. Być może, że one zabierają części pożywne, lub też zamykają światło naczyń krwionośnych, lub może tworzą jakieś trucizny, wreszcie może działanie ich polega na odtlenieniu lub utlenieniu. Ponieważ prawdopodobnie są różne gatunki tych bakteryj, zatem różnem być musi i ich działanie.

Szerokie pole do dalszych badań otwarte przez Cohna znalazło jednak nielicznych tylko badaczy, którzyby przy dalszych poszukiwaniach odróżnili rzeczy ważne od pod-

rzędnych lub wyszukali nowe środki pomocnicze.

S. Zarzuty przeciwko układowi Cohna. Microbacteria, microsporina, monadina Klebsa - jego uznanie dla układu Cohna: micrococcus variolae i vaccinae Klebsa. Bacillus malariae, b. typhi, b. diphtheritis. Poszukiwania Listera nad wpływem podłoża na kształt i własności bakteryj. Podobieństwo gonidjów Crenothrix do bakteryj.

Jeżeli przeciwstawić jasno sformułowanym poglądom Cohna dawniejsze spostrzeżenia Halliera, będące wyrazem bujnej jego wyobraźni oraz wynikiem braku ścisłości w wykonaniu doświadczeń, musimy przyznać, że teraz wreszcie mamy podstawy do dalszych w tym kierunku rozumowań i doświadczeń. Jednego brakło jeszcze. Warunek ten jednak o tyle był ważnym, że decydował o ścisłości wszystkich powyższych spostrzeżeń. Cohn *nie podał sposobu oddzielania bakteryj* i dlatego można było zarzucić, że jego gatunki mogą wcale nie być oddzielnymi gatunkami lecz tylko sztucznie dobrane formami.

To też różni badacze skierowali swe zarzuty na ten najsłabszy punkt nauki Cohna. Jedni z nich woleli uznać dawne na błędnych spostrzeżeniach oparte poglądy, jakoby bakterye powstawały z białkowatych pozostałości martwych roślin i zwierząt, a mianowicie z drobnych ziarenek w protoplazmie widocznych. Jeszcze raz podnosimy tutaj przejawy wyobraźni ludzkiej, widoczne do ostatnich jeszcze czasów u poważnych zkadinał badaczy. Karsten (1883) Wiegand (1884) Estor (1886) Winternitz (1887) i inni podnoszą poglądy zupełnie obecnie zarzucone, mianowicie od czasu decydujących prac Roberta Koch'a.

Inni znów badacze odrzucali możność przyjęcia u bakteryj oddzielnych gatunków, gdyż z ich spostrzeżeń, jak sądzili, wynikało, że



cechy morfologiczne zależą wprost od rozmaitości użytego podłoża i wcale nie są o tyle stałymi, ażeby je można było za cechy gatunkowe uważać. Dalej zobaczymy, że jakkolwiek cała ta walka dotąd nie ucihła w każdym razie prace Kocha zupełnie potwierdziły zasady przez Cohn'a wygłoszone i wykazały, że one to właśnie są pierwszymi podstawowymi badaniami, na jakich oparła się nowsza bakteriologia.

Wkrótce potem gdy Cohn ogłosił swoją pracę, Klebs wystąpił przeciwko oddzielaniu bakterij kulistych od laseczkowatych, gdyż zdaniem jego, drugie były tylko stadyum przejściowem pierwszych. Takie przynajmniej wyniki Klebs otrzymał badając swoją „microsporon septicum.“ Skutkiem tego połączył on obie grupy w jedną, którą nazwał microbacteria. Nie utożsamiał on jednak microsporon septicum z gnilnemi bakteriami, jakkolwiek sprawy zakaźne i gnilne były w jego pojęciu dość blisko spokrewnionemi.

Zresztą Klebs nie odrzucał całego układu Cohn'a, przeciwnie uzasadniał różnice badanych przez się drobnoustrojów chorobotwórczych na cechach morfologicznych. Mikro-bakteryje podzielił Klebs na 2 rodzaje: Microsporida i monadina. Do pierwszych zaliczył microsporon septicum i diphtheriticum, do drugich monas pulmonale i monas tuberculosum, które, zdawało mu się, że są właściwemi dla gruźlicy.

Badając w dalszym ciągu limfę ospową i krowiankową. Klebs doszedł do wniosku, że są tam twory, które nigdy się w laseczki nie zamieniają. To też nareszcie uczuł się zmuszonym do przyjęcia podziału Cohn'a, co też i uskutečnił.

Rodzaj Bacillus również został uznany przez Klebsa, po odkryciu dokonaniem wspólnie z Tommasi-Crudeli (1879) szczególnego lasecznika w ziemi wziętej z miejscowości zimniczej. Oznaczył on go mianem Bacillus malariae.

Wszystkie badania Klebsa wykonane z wielkim nakładem pracy w ciągu lat dwudziestu nie dodały wiele nowego, nie wykryły żadnego nowego czynnika; nie do niego też należy zasługa ostatecznego zdecydowania o gatunkach bakterij chorobotwórczych.

Zupełnie inny układ na odmiennych podstawach chciał postawić Ray-Lankester (1873). Pracując w Exeter Collegium znalazł on szczególnie barwiącą materję, która się rozwijała na gnijącym mięsie. Wystawiona na światło przybierała ona miejscami piękny odcień purpurowy. Mikroskopowe badanie wykryło drobnoustroje różnej postaci i wielkości. Jedne z nich były kuliste, inne laseczkowate, inne wreszcie o końcach zaokrąglonych lub w kształcie biskopka zaokrąglonych. Wszystkie te formy miały jedną wspólną cechę, a mianowicie różowe zabarwienie, którego widmo było tak charakterystycznym, że materja barwna uzyskała nazwę „bacteriopurpurin.“ Na podstawie spostrzeżanego zabarwienia R. Lankester ujął wszystkie te formy w jedną całość, uważając je za pochodzące od jednej „plastide.“ Że tak jest Lankester przyjął za dostateczny dowód jednostajność zabarwienia. Na zabarwienie, zapach i inne własności fizyczne i chemiczne, zdaniem Lankester'a należy bardziej zwracać uwagę, niż na własności morfologiczne, mogące zależeć od różnicy w warunkach odżywiania lub podłoża, na którym drobnoustroje rosną. W dalszym ciągu L. zaproponował swój układ, mający być opartym na zasadach bardziej racjonalnych niż wygłoszone przez Cohn'a.

Jeszcze inne poglądy na istotę bakterij ogłosił Józef Lister (1872), znakomity reformator chirurgii. Pod wpływem idei Hallier'a uważał on bakteryje za formy pochodne wyższych grzybów. Kształty napotykanne w przyrodzie są, zdaniem Listera, wynikiem działania podłoża i warunków życiowych. Fizjologiczne i morfologiczne własności są równie zmienne. Bakteryje wyhodowane na jednym podłożu inaczej wy-

glądają i inne okazują własności na innym; przybierają zaś napowrót te same cechy po przeniesieniu na podłoże pierwotne.

Skutkiem tego wszystkie klasyfikacje, oparte na zewnętrznym wyglądzie, nie mają zdaniem Listera racji. Koniecznym bowiem, obok własności samego drobnoustroju, należy zwracać uwagę na charakter podłoża. Przytoczymy tutaj jedno z doświadczeń Listera, ażeby unaooczyć sposoby jakimi doszedł on do powyższych wniosków. Cząstkę mleka po upływie doby skwaśniałego, w którym zawierały się nieruchome bakterie ułożone pojedynczo, po dwie i w łańcuszkach zaszczerpił on do wygotowanego mleka, nastoju buraka i moczu. Po pewnym czasie w ośrodkach tych rozwinęły się ruchliwe oraz nieruchliwe formy odmienne w każdym z podanych płynów. Z moczu Lister przeszczerpił owe bakterie do płynu Pasteura, ztąd znów do moczu, wreszcie napowrót do mleka. Wygląd i ruchliwość spostrzeganych form zmieniały się ze zmianą podłoża. W mleku, do którego ostatecznie zostały przeniesione owe bakterie, uformował się czarny jak węgiel osad, przez nie wydzielony. Po szczegółowym rozpatrzeniu okoliczności Lister doszedł do przekonania, że, szczepiąc jeden drobnoustrój, otrzymał różne formy ze zmianą ośrodka, a więc od owej zmiany zależne. Rzecz szczególna, że biorąc pod uwagę różne okoliczności, Lister przeoczył jedną możliwość: oto, że w mleku wziętem do pierwszego szczepienia, był nie jeden, ale kilka gatunków drobnoustrojów, z których każdy rozwijał się lepiej na jednym podłożu, niż na innych. Tego Lister nie uwzględnił i ztąd doszedł do błędnych wyników.

Wnioski jakie Lister ugruntował na swoim spostrzeżeniu były bardzo ważne. Wskutek zmienności form oraz fizjologicznych własności bakteryj można było objaśnić dla czego nieszkodliwe drobnoustroje mogą się stawać chorobotwórcami, dłaczego np. pod dawno założonym opatrunkiem rozwija się gangrena szpitalna, gdy nie pojawia się ona

pod opatrunkiem zmienianym codziennie. Wiodczna bowiem, sądzi Lister, że pod wpływem wydzieliny rany nieszkodliwe bakterie z powietrza przyjmują jadownicze własności. Również w starych szpitalach zła zdrowotność nie zależy od nowo wprowadzonych drobnoustrojów, lecz od tych, jakie z dawien dawna znajdując się w miejscu, nabrały szkodliwych własności.

Te i inne błędy popełniono wskutek niewłaściwie przeprowadzonych obserwacji. Że nawet fakta dobrze spostrzegane dawały powód do wniosków fałszywych, za najlepszy przykład służy spostrzeżenie Cohn'a nad *Crenothrix*, na czem Billroth ufundował później swoje teorie.

Rzecz miała się w następujący sposób.

W 1870 r. Cohn znalazł w różnych studiach wrocławskich szczególny drobnoustrój z wyglądu podobny do wodorostu, zaś z sposobu żywienia się do grzybów. Składał się on z długich i dosć grubych przezroczystych nitek, które na końcach opatrzone były w zgrubienia. Poniżej zgrubień zarodź (protoplazma) zbierała się w szeregi ziarn równo ułożonych. Jedne z nich były większe inne mniejsze. Otoczka nitki po pewnym czasie pękała, zaś drobne ziarna zarodzi wypływały do otaczającej wody. Drobne były podobne do mikrokoków posklejanych w skupienia, większe zaś bardzo przypominały kształtem nieruchome laseczkowate bakterie. Były to zarodniki czyli gonidia grzybka *Crenothrix*.

Gdybyśmy chcieli wyprowadzić ztąd niewłaściwe wnioski, mówi Cohn, moglibyśmy łatwo owe zarodniki wziąć za bakterie, które w tym razie pochodziłyby wyraźnie od wyższej rośliny. Uwzględniając jednak podobieństwo, nie należy spuszczać z uwagi pewnych różnic, które się pokazują, gdy owe niby bakterie badamy w dalszym ich rozwoju.

Inni jednak badacze, a pomiędzy nimi i Billroth na faktach powyższych przez Cohna

podanych, pobudowali zupełnie odmienne wnioski, właśnie te jakich się Cohn obawiał.

9. Coccobacteria septica Billrotha. Stosunek jej do chorób zakaźnych. — Poglądy Virchow'a przeciwne teorii Billrotha. — Dalsze prace Cohna. — Odkrycie Obermeier'a. — Odkrycie zarodników przez Cohn'a.

Rozpatrzmy poniżej poglądy, jakie wypowiedział słynny chirurg i badacz wiedeński prof. Billroth. Poglądy te, będące wynikiem prac Hallier'a, Hüter'a i innych, w części zaś niewłaściwie pojętych spostrzeżeń Cohn'a posiadają sporą ilość oryginalności, grzeszą jednak brakiem ścisłości oraz znaczną dozą wyobraźni, podobnie jak niektóre z prac wyżej już wymienionych.

Billroth, podobnie jak jego poprzednicy, rozpoczynając swoje spostrzeżenia nad światem bakteryj, czuł się przedewszystkiem zniewolony do systematycznego opisanie spostrzeganych form. Pierwsze prace rozpoczął on, jak już nadmieniliśmy, pod wpływem bałamutnych teoryj Hallier'a (1868). Gdy się pojawiła praca Cohn'a nad *Crenothrix polyspora* Billroth zabrał się do studyowania tworów wody studziennej i wkrótce opisał dwa główne spostrzegane typy: kuleczkę—*Coccus* i laseczkę—*Bacteria*.

W obu typach rozróżniał on odmiany według wielkości; *micro-meso-mega coccus* lub *bacteria*, oraz według ugrupowania: *mono-diplo-strepto* (łańcuszek) *coccus* i *bacteria*. Skupienia połączone w śluzowe masy otrzymały nazwę *glia-coccus* lub *bacteria*, zaś w płaskie łuszczyki — *petalo-coccus* lub *bacteria*. W niektórych bakterjach Billroth dostrzegał okrągłe ziarnka; gdy te znajdowały się na końcu laseczki takowa otrzymywała nazwę *Helobacteria* (ἡλος—gwóźdź). Ziarnka te Billroth uważał za zarodniki; zdaniem jego rośnięcie bakterji odbywa się przez przemianę zarodnika na *coccus* (ku-

leczkę), która się potem wydłuża i daje laseczkę. Jak duża wyrasta owa kuleczka i laseczka zależy to od podłoża na jakim się one rozwijają. Billroth przypuszcza u bakterji różne przemiany form: jedne zmieniają się w drugie: z dużych bakterji powstają drobne mikrokokki, które otaczają się powłoką i formują w ten sposób rodzaj woreczka—*ascococcus*. Było to coś podobnego do mikrogonidyów Cohn'a, którym jednak, jak wiemy, ten ostatni inne zupełnie znaczenie nadaje. Inne znów bakterje na końcach posiadały szerokie pęcherzykowate rozszerzenia, które, jak to wiemy obecnie, są po prostu pośmiertną zmianą, Billroth zaś przypisywał im bardzo ważne znaczenie — uważając je mianowicie za narząd służący do rozmnażania, który posiadają również inne rośliny, np. *Crenothrix*. Ztąd to bakterje mają być pochodniami jakiejś wyższej formy, którą Billroth poszukiwał dalej. W gnijącej serwatce pewnego razu znalazł on bakterje, które przedstawiały wszystkie kształty kuliste i laseczkowate pojedyncze i w grupy złożone. Uważając wszystkie formy napotkane za jedną roślinę, B. nadał jej nazwę *cocco-bacteria septica*, sądząc, że znalazł pierwowzór wszystkich bakterji.

Pomimo znalezienia takiej pierwotnej rośliny, dającej początek różnym kształtom, nasuwały się jednak trudności, niełatwo dające się objaśnić. Dla czego np., jeżeli do pewnego płynu zostały zasiane twory kuliste rozwijały się dalej tylko kuliste—laseczek nie było, lub prawie nie było, i naodwrot? Dla czego, jeżeli zostały zasiane drobne laseczki pozostawały one drobnymi, pomimo przeszczepiania ich na coraz świeży grunt odżywczy? Na pytania te B. wynajdywał różne odpowiedzi, które jednak, jak widać, nie zadawałniały go w zupełności. Dlatego szukał on coraz nowych wyjaśnień i nawet był niedalekim od przyjęcia właściwych odmian, odrzucił jednak tę myśl, jako pozornie z faktami sprzeczną i rozpo-

czął poszukiwania nad chorobowemi wytworami ustroju ludzkiego.

Na tej drodze Billroth przyszedł wkrótce do wniosku, że bakterye spostrzegane w rozkładających się po za ustrojem materjach, nie różnią się wcale od spotykanych przy chorobowych zmianach w ustroju ludzkim. Podział bakteryj na gatunki wedle fizyologicznych własności na wzór Cohn'a niema zatem żadnej podstawy. Fizyologiczne własności bakteryj są równie zmienne jak ich kształt i tak samo zależą od chemicznego składu podłoża. *Micrococcus vaccinae*, *m. diphtheriticus*, *bacillus anthracis*, *zoogloea cholerae asiaticae*, *micr. carcinomatosus*—są to wszystko wydzieliny chorobowe z bakterjami zmieszane. Barwniki jak je bakterye wytwarzają—są zdaniem Billrotha również bez znaczenia dla klasyfikacji, gdyż np. czerwony i biały goździk pozostaną goździkami jakkolwiek są różnie zabarwione. Zkąd jednak powstają te różnice barwne? boć przecie niezależą one od podłoża jak to łatwo sprawdzić—odpowieź Billrotha na to pytanie jest bardzo wymijająca: „wszystko zależy, mówi on, od kaprysu natury, która bakterjom pozwala na łatwe wytwarzanie odmian.“

Stosunek „*coccobacteriae*“ do chorób przyranych polega zdaniem B. na wytwarzaniu w tkankach podczas sprawy chorobowej zapalnych wytworów, których obecność w tkankach zostaje przez bakterye podtrzymywana; następnie zaś, bakterye, pod wpływem owych zapalnych wytworów nabierają szkodliwych własności. Dlatego to bakterye z ropy pochodzące są szkodliwe dla ran i powodują ropienie nawet w zdrowych tkankach. Podobnie bakterye pochodzące z wodnisteo wypróżnienia, dostając się do zdrowego kanału kiszkiowego, powodują tutaj zmiany chorobowe. Nawet zarzek cholery jest również niewinną bakterją, która rozwijając się w gorącym klimacie w chorobliwym kanale pokarmowym nabiera własności trujących i powoduje epidemię,

która się przerywa dopiero po nastaniu zimniejszej pory, gdy bakterye rozmnażać się z taką łatwością niemogą.

Przyczyna, dla której Billroth takie poglądy wypowiedział polegała na tem, że w istocie nie łatwo budować rodzaje nie mając dosyć cech morfologicznych. Jest to jednak rozumowanie czysto botaniczne. „Jeżeli mi ktoś dowiedzie, mówi B., że roślina znajdująca w wypróżnieniach cholerycznych posiada wybitnie różne cechy rozwojowe od tej, jaka się znajduje we wszystkich wodnistych wypróżnieniach, że się następnie różni od bakteryj znajdujących przy gangrenie i t. p., natenczas uznam zależność spraw chorobowych od takich roślin i podzielę je na różne gatunki.“

Na tym punkcie Billroth, jak widzimy, miał do pewnego stopnia słuszość. Badacze tacy jak Virchow, zgadzali się z nim w tej mierze. Bo też w istocie nie znaniemi były wybitne różnice pomiędzy bakterjami mającemi być przyczynami spraw chorobowych.

Virchow w mowie mianej w r. 1874 o postępach wojskowej zdrowotności wypowiada zdanie, że też same formy bakteryj i mikrokoków jakie widział przy cholery, spotykał również przy tyfusie plamistym, przy zwykłym niezycie kiszkiowym, nawet w zawartości kiszkiowej ludzi arsenikiem otrutych. Lewis i Cunningham (1872) w swoich poszukiwaniach i hodowlach z wypróżnień cholerycznych nie znaleźli nic innego, jak w wypróżnieniach niecholerycznych. Do tych samych wyników doszli Eberth i Niedźwiedzki (Dorpat 1872), który padł ofiarą poszukiwań nad zarazkiem cholery. Nawet dla karbunkułu, pomimo stałego znajdowania przy tej chorobie pewnego rodzaju bakteryj—nie zostało stanowczo dowiedzionem, iż te bakterye a nie inny zarzek jest choroby przyczyną.

„Dotąd,“ mówi dalej Virchow, „nie mamy udowodnionej różnicy pomiędzy pasorzytami cholery a dysenteryi, błonicy i odry, różni-

cy, któraby pozwalala stanowczo i dokładnie te i tamte rozpoznać.“

Gdyby Billroth zatrzymał się na wypowiedzeniu prawd powyższych, nikt by mu nie zaprzeczał słuszności jego twierdzeń. Nie poprzestając jednak na wypowiedzianych żądaniach lekcewał on prace Pasteur'a, Schroeter'a, Cohn'a, Birch-Hirschfelda, prace z których niejedna posiada znaczenie wielkopomne, a wszystkie z pewnością niezaprzeczone. Zamiast doświadczeń badaczy tak poważnych Billroth stawia teorie i hipotezy własne oparte na domysłach, nie zaś na spostrzeżeniach i doświadczeniach.

W tem miejscu należy przytoczyć zdanie Virchowa, które wyraźnie określa położenie rzeczy.

„Jestem zdania,“ powiada on, „że zwykle bakterye gnilne wystarczają do wywołania większej części miejscowych i niektórych ogólnych spraw chorobowych. Dotyczy to mianowicie chorób, które określamy nazwą posocznicy, oraz bliską z niemi łączność mających spraw dylferytycznych. Czy jednak ztąd wnioskować należy że zarazek mieszkań, szpitali i obozów jest identyczny? Czy ten sam zarazek może wywołać tyfus i dysenterya, błonicę i różę, gangrenę szpitalną i posocznicę? Dwie mamy możliwości: albo drobnoustroje wszystkich tych chorób są tezsame i natenczas należy przypuszczać, że w ustroju rozwija się przy każdej chorobie właściwy jad, bakterye zaś są wytworem choroby towarzyszącym, lub też, że drobnoustroje posiadają różnice fizyologiczne jakkolwiek jednakie są ich cechy morfologiczne. W tym razie bakterye są jedyną przyczyną i przenośnikiem chorób. Trzeciej drogi nie ma. Z tem wszystkiem sądzę, że ze względu na drobną wielkość tych tworów główną uwagę zwracać musimy na ich własności fizyologiczne, nie zaś na morfologią: jeżeli zaś takowe są różne, to pomimo jednostajności wyglądu za różne uznać je trzeba. Jajka różnych zwierząt są do siebie bardzo podobne zewnątrznie, a jednak

jak różne stworzenia z nich wyrastają. Jeżeli więc przez zaszczepienie lub przypadek patologiczny z bakteryj podobnych do gnilnych otrzymujemy karbunkuł, zaś z gnilnych nieotrzymujemy takowego, to musimy przypuścić między temi a tantemi taką choćby różnicę jaka istnieje między pietrasznikiem plamistym a pietruszką.“

W przeciwstawieniu do poglądu Billroth'a, chcącego różnice między bakteryami oprzeć na cechach morfologicznych, Virchow na pierwszym planie stawia różnice fizyologiczne i decydującą rolę zostawia doświadczeniu patologicznemu.

Jak obecnie wiadomo współczesne istnienie cech morfologicznych i różnic fizyologicznych warunkuje rozpoznanie drobnoustrojów.

Ważne odkrycie jakie dokonaniem zostało w 1873 r. przez Obermeier'a, który odkrył bakterye gorączki powrotnej w krwi żywej zachwiałyby poglądami Billrotha, gdyby zechciał on zwrócić na nie w czasie właściwym należną uwagę. Weigert dowiódł, że spirochaety Obermeier'a żyją przez pewien czas po za ustrojem tylko w słabym roztworze soli i w surowicy krwi. Czy nie jest to dowodem związku sprawy chorobowej z tym jedynie rodzajem bakteryj?

W następnym roku (1875) Cohn wystąpił z krytyką poglądów Billroth'a. Trzymał się on w niej ściśle wytycznych dawniej postawionych. „Lepiej jest, powiada, utworzyć więcej rodzajów, na zasadzie spostrzeganych różnic fizyo- i morfologicznych, niż połączyć różne w jeden bez pewnej podstawy.“

W dalszych poszukiwaniach Cohn znalazł w powietrzu kuleczki podobne do żabiego skrzeku połączone zapomocą śluzowatej otoczki w jedno skupienie. Przyjmując określenie Billrotha mianuje on je „ascococcus.“ Z mikrokokiem moczu i barwnika mają one tę cechę wspólną, że tworzą alkaliczny odczyn; tem właśnie różnią się od większości bakteryj laseczkowatych, jak octowe i mleczne, które tworzą odczyn kwaśny.

Podział Lankestera oparty na fizjologicznych własnościach bakteryj, bez uwzględnienia cech morfologicznych, nie może również oprzeć się krytyce Cohn'a. Jak to wyżej mieliśmy sposobność zaznaczyć, Lankester połączył w jeden gatunek różne drobnoustroje znajdujące w gnijących roślinnych i zwierzęcych płynach na zasadzie wytwarzania przez nie czerwonego barwnika. Cohn dowiódł, że barwnik czerwony wytwarzany bywa przez bardzo rozmaite gatunki nie zostające w żadnym pokrewieństwie pomiędzy sobą.

Bezkształtne plamki, pływające kuleczki i pęcherzyki utworzone z jednostajnych komórek należą, zdaniem Cohn'a, do jednego gatunku—*Clathrocystis roseopersicina*. Również różowe kuleczki spostrzegane przez Ehrenberg'a i opisane jako *Monas vinosa*, należą do tegoż gatunku.

Inne ustroje, spotykane pośród wymienionych, Cohn określił jako należące do innych gatunków: bladioróżowe o ziarnistej zawartości wrzecionowate komórki—nazwał *Rhabdomonas rosea*; krótkie cylindryczne, o ciemnym jądrze i jednej migawce twory — *Monas Okenii*; większe od poprzedzających o końcach zaokrąglonych wypełnione różowemi ziarenkami — *Monas Warmingii*.

Dalej znalazł Cohn, że pewne drobnoustroje, zamieszkujące źródła siarczane, do jakich zaliczył *Ophidomonas jenensis* i *sanguinea*, zawierają we wnętrzu ziarenka, które po bliższym zbadaniu pokazały się kryształkami siarki. W ten sposób przybył jeszcze jeden dowód przemawiający na korzyść odmienności tego gatunku bakteryj od innych.

W gnijącej wodzie obok *Clathrocystis* znalazł Cohn jeszcze 2 rodzaje podobnych tworów. Na powierzchni znajdował on bezbarwne śluzowe kropelki 10 — 17 μ średnicy mające, które wewnątrz zawierały pozwiżane o ziarnistej zawartości niteczki. Lankester, który je dawniej spostrzegał, zaliczył je do stadjum rozwojowego pewnej *Spirylli*.

Cohn wierny zasadzie, nie mając dosyć danych morfologicznych, utworzył dlań oddzielny gatunek — *Myconostoc gregarium*. W tymże płynie Cohn znalazł niteczki widelkowato podzielone; przy silniejszym powiększeniu pokazało się, że widelki owe powstawały nie z połączenia się lecz z blizkiego ułożenia pod kątem rosnących nitek. Ustrój obdarzony taką pozorną widelkowatą podzielnością Cohn określił jako *Cladotrix dichotoma*.

W końcu Cohn opisał jeszcze jeden ustroj (znaleziony po raz pierwszy w kamykach kanałów łzowych przez Graefe'go w r. 1855), uznając go za oddzielny i różny od *Leptothrix buccalis* rodzaj — *Streptothrix Foersteri*.

Widzimy więc, że Cohn stopniowo uzasadniał coraz bardziej pogląd swój na rozmaitość gatunków bakteryj. Coraz nowe spostrzeżenia pozwalały mu coraz wyraźniej odzielić bakterye od pokrewnych im grzybków i wodorostów — zachowując jednak blizki z ostatnimi związek. W ten sposób Cohn ujął bakterye mianem *Schizophytae* i podzielił na rodzaje według położenia komórek, wielkości i zawartości barwnika.

Schizophytae.

Tribus I. *Gloeogenae.*

Komórki wolne lub połączone za pomocą substancji międzykomórkowej.

A. Komórki wolne, podwójne lub poczwórne:

Komórki okrągłe—*Chroococcus* Naeg.

Komórki cylindryczne—*Synechococcus* Naeg.

B. Komórki w stanie spokojnym połączone masą śluzową:

a) Otoczki zlewają się z substancją międzykomórkową.

0 Komórki bez barwnika bardzo drobne.

Komórki kuliste—*Micrococcus* Hall. emend.

Komórki cylindryczne — *Bacterium* Duj.

- 00 Komórki zawierają barwnik, większe.
Komórki kuliste—*Aphanocapsa* Naeg.
Komórki cylindryczne—*Aphanothece* Naeg.
- b) Międzykomórkowa substancja złożona z warstewek.
Komórki kuliste — *Gloeocapsa* Kg. Naeg.
Komórki cylindryczne — *Gloeothece* Naeg.
- C. Komórki połączone w masy ograniczone śluzowate.
- c) Masy jednowarstwowe w jednej płaszczyźnie leżące.
- 0 Komórki ułożone czwórkami—*Merismopedia* Meyen.
- 00 Komórki bez ładu na jednej kulistej powierzchni.
Komórki kuliste, masy rozdzielne siatkowato—*Clathrocystis* Henfr.
Komórki cylindr. słupkowate, masy rozdzielone widelkowato—*Coelosphaerium* Naeg.
- d) Masy komórkowe wielowarstwowe.
- 0 Ilość oznaczona.
Komórki kuliste bezbarwne, w czwórkach — *Sarcina* Goodsir.
Komórki cylindryczne słupkowe z barwnikiem — *Gomphosphaeria* Kg.
- 00 Ilość komórek nieoznaczona, znaczna.
Komórki bezbarwne, drobne—*Ascococcus* Billr. emend.
Komórki barwnikowe większe — *Polycystis* Kg.—*Coccochloris* Spr.—*Polycoccus* Kg.

Tribus II. Nematogenae Rab.

Komórki w postaci nitki.

A. Komórki nierozgałęzione.

- a) Nitki wolne lub skupione.
- 0 Nitki cylindryczne, bezbarwne, niewyraźnie członkowane.
Nitki bardzo cienkie, krótkie—*Bacillus* Cohn.

- Nitki bardzo cienkie, długie—*Leptotrix* Kg. em.
Nitki grubsze długie — *Beggiatoa* Trev.
- 00 Nitki cylindr., barwnikowe, członkowane.
Sposób rozmnażania nieznany—*Hypheotrix* Kg.—*Oscillaria* Bosc.
- 000 Nitki cylindryczne członkowane formują gonidyę.
Nitki bezbarwne — *Crenothrix* Cohn.
Nitki barwnikowe — *Chamaesiphon*.
- 0000 Nitki śrubowate bez barwnika.
Nitki krótkie, lekko wygięte—*Vibrio* Chr. em.
Nitki krótkie, niegnące się — *Spirillum* Ehr.
Nitki krótkie, śrubowe, giętkie—*Spirochaete* Ehr.
z barwnikiem
Nitki długie, śrubowate, giętkie—*Spirulina* Link.
- 00000 Nitki w postaci łańcuszków bez barwnika — *Streptococcus* Billr. z barwnikiem — *Anabaena* Bory.
- 000000 Nitki biczowate na końcach cieńsze. *Spermosira* Kg. i inni—*Mastigotrix*.
- b) Nitki połączone masą śluzową.
- 0 Nitki cylindr. bezbarwne — *Myconostoc* Cohn.
- 00 Nitki cylindr. barwnikowe — *Chthonoblastus*, *Limnochlide* Kg. i in.
- 000 Nitki w łańcuszkach—*Nostoc*, *Hormosiphon* i in.
- 0000 Nitki biczowate ku końcowi cieńsze. *Rivularia* Roth.—*Zonotrichia* Ag. i in.
- B. Nitki rozgałęzione pozornie.
- 0 Nitki cylindryczne bezbarwne—*Cladotrix* Cohn.—*Streptotrix*.
- 00 Nitki cylindryczne barwnikowe—*Calothrix* Ag.—*Scytonema* Ag. i in.
- 000 Nitki w łańcuszkach — *Merizomyria* Kg.—*Mastigocladus* Cohn.
- 0000 Nitki biczowate ku końcowi cieńsze. *Schizosiphon* Kg.—*Geocyclus* Kg. i in.

Jednym ze środków pomocniczych do odróżnienia bakteryj jednych od drugich, a w szczególności do odróżnienia rodzaju „baccillus“ był sposób rozmnażania się za pomocą zarodników temu szczególnie rodzajowi właściwy, a przez Cohn'a dokładnie określony.

Jak już wiemy z przytoczonych powyżej prac różnych badaczy zarodnik był dostrzegany kilkakrotnie. Pierwszy o nim wspomina O. F. Müller, mówiąc, że niektóre laseczki w nalewkach roślinnych i zwierzęcych spostrzegane, ujawniają wewnątrz kuleczki silnie łamiące światło. Laseczki te nazwał on vibrio bi-i tripunctatus. Podobnie Perty spostrzegał także same twory w laseczkach, które nazwał sporonema gracile.

Pasteur wreszcie spostrzegał również podobne ciała kuliste wewnątrz niektórych wibryonów gnilnych i w kanale pokarmowym chorych gąsienic jedwabnika; uważał on je za narządy rozrodcze i rozmnażanie się takie nazywał „reproduction par noyaux intérieurs.“

Już w r. 1851 Cohn zwraca uwagę na silnie łamiące światło kuleczki znajdujące wewnątrz niektórych laseczek. W 1872 r. dokonał on spostrzeżenia, że w nalewce z siana rozwijają się laseczki, które nazwał bacillus subtilis Po. pewnym czasie na powierzchni nalewki tworzy się kożuszek, a w nim spostrzegać się dają ogromne ilości tychże laseczek opatrzonych owalnym, silnie łamiącym ciałkiem, podobnym do kropelki tłuszczu.

Zanurzając nieco takich ciałek do świeżej kropelki nalewki z siana i umieszczając kroplę pod mikroskopem, Cohn zdołał zauważyć, że z nich wyrastają powoli laseczki, przyczem z początku całość przyjmuje kształt bakterii zaopatrzonej łebkiem (Hellobacteria Billroth'a), wreszcie zawartość zarodnika traci ostrość zarysów, laseczka zaś wykształcona w bakterię pływa w płynie.

Dalej Cohn stwierdził odporność zarodni-

ków względem podwyższonej ciepłoty i wysuszenia, czem udowodnił raz jeszcze, że samorodztwo nie istnieje, drobnoustroje zaś powstają z ustroju macierzystego w formie niezmiernie odpornej na czynniki zewnętrzne.

10. Koch udowadnia doświadczalnie istnienie przyczynowego związku karbunkułu z baccillus anthracis. Zaprzeczenie Paul Bert'a i potwierdzenie spostrzeżeń Koch'a przez Pasteur'a; odkrycie „vibron septique.“

Niedługo, bo w tym samym roku, w którym Billroth wypowiedział wymagania co do sposobu określenia gatunków bakteryj chorobotwórczych — Robert Koch, podówczas będący lekarzem powiatowym (Kreisphysicus), potwierdził spostrzeżenia Cohn'a i rozwiązał, długo będące niejasnym, zagadnienie przyczynowości karbunkułu.

Davaine, jak to już z poprzedniego wiadomo, wypowiedział wprawdzie z zupełną stanowczością zdanie, że bakterye, znajdujące w krwi zwierząt padłych na karbunkuł, są tej choroby przyczyną, nie mógł on jednak udowodnić tego w sposób żądany przez Billroth'a — wyhodować czyste bakterye i szczepiąc takowe wywołać chorobę z wszystkimi cechami karbunkułu. Ponieważ jednak epidemie karbunkułu zostawały w wyraźnym związku z porami roku — pojawiały się bowiem najsilniej w sierpniu i wrześniu, zależały przytem od wilgotności ziemi — najbardziej się srożyły w miejscach wilgotnych, w dolinach rzek i na błotnistych łąkach — wszystkie te okoliczności zdawały się świadczyć przeciwko zależności choroby jedynie od bakteryj.

Bollinger (1872) jakkolwiek wierzył w istnienie zarazka karbunkułu, przypuszczał jednak, że zarazek ten nie jest laseczką, ponieważ szczepiąc krew zwierząt na karbunkuł padłych, w której laseczek tych mikroskop nie wykrywał, otrzymał on pomimo to chorobę, a w krwi charakterystyczne laseczki. Stąd wywnioskował B. że we krwi

szczepionej istniały zarazki w kształcie drobnych zarodków—kuleczek. Skutkiem tego same laseczki karbunkułu, zdaniem Bollingera, składają się z kuleczek. Toż samo wypowiedzieli Semmer, Eberth i inni. Cohn jednak nie potwierdził powyższego poglądu. Nie zdarzyło mu się w krwi karbunkułowej dostrzegać kuleczek, ani też laseczki z nich się nie składały. Przeciwnie, wypowiedział on wtedy zdanie, że bakterye karbunkułowe należą do tegoż rodzaju co i bacillus subtilis i zapewne posiadają także zarodniki.

Kwestyę, będącą w mowie, rozstrzygły stanowczo prace Koch'a i Pasteur'a.

Koch (1876) zauważył naprzód, że bakterye karbunkułowe rozmnażają się w krwi i sokach zwierząt zdrowych nadzwyczaj szybko. Przenosząc cząstkę krwi jednej zarazonej myszy na drugą Koch zauważył, że po kilkunastu lub nieco więcej godzinach mysz padała; w krwi zaś a przede wszystkim w śledzionie znajdował on wtedy ogromną ilość bakteryj. Dalej spostrzegł on, że w sokach zwierzęcych np. w świeżej cieczy wodnistej oka lub surowicy krwi wołowej przy ciepłocie 18—40 C° laseczki wyrastały w ogromnej ilości i niektóre z nich, mianowicie w obecności powietrza, formowały zarodniki. Zmiany te można było dokładnie zauważyć hodując bakterye na stoliku ogrzewanym M. Schultzego w wyżłobionem szkiełku. Zarodniki uformowane w powyższy sposób w kropelce wiszącej przeniesione do świeżej kropli—dawały początek nowej hodowli bakteryj, które zaszczipione zwierzęciu wywoływały karbunkuł. Doświadczenie Koch'a dowiodło jak najwyraźniej, że karbunkuł zależy od bakteryj, że nic innego nie jest jego przyczyną. Wkrótce Frisch, Nasilow i Eberth potwierdzili spostrzeżenia Koch'a. Przeciwnikiem Koch'a ogłosił się jednak we Francyi znany fizyolog Paul Bert z tej przyczyny, że krew karbunkułowa, poddana silnemu ciśnieniu tlenu nie traciła jadowitości, gdy tymczasem wszystkie bakterye w obec tego

ginęły, pozostawały zaś nienaruszonymi tylko bezustrojowe fermenty. Za taki to ferment Paul Bert poczytał zarazek karbunkułu.

Wkrótce jednak Pasteur, przerabiając spostrzeżenia Koch'a, potwierdził je całkowicie za pomocą wynalezionych przez siebie metod hodowania w płynie odżywcym. Szczepiąc nieco krwi zwierzęcia padłego na karbunkuł do wyciągu mięsnego otrzymał on hodowlę, która, pomimo przeszczipiania do coraz świeżych ilości płynu, zachowywała pierwotną jadowitość. Filtrując hodowlę przez cylinder z glinki i szczepiąc płyn po przefiltrowaniu oraz osad w cylindrze—Pasteur przekonał się, że tylko osad zawiera zarazek. A więc ów męt, owe laseczki stanowią jedyną przyczynę karbunkułu.

W ten sposób Pasteur dokonał pierwszego niezmiernie ważnego dla patologii spostrzeżenia na polu dla siebie zupełnie obcym, bowiem był on, jak sam mówi, „étranger aux connaissances médicales et vétérinaires.“

Gdy teraz Pasteur przesłał Paul Bert'owi hodowlę bakteryj karbunkułowych, ten zaszczipił je śwince morskiej, która padła po 30 godzinach z ogromną ilością tychże bakteryj we krwi. Poddając krew tę działaniu tlenu przy zwiększonym ciśnieniu P. Bert przekonał się, że bakterye zostają zabite i krew działać przestaje. Jakże teraz objaśnić poprzedni wynik niezgodny z obecnym? Jak to Koch zauważył a Pasteur potwierdził—b. karbunkułowe formują zarodniki, „corpuscules brillants,“ lub „corpuscules germes,“ jak je Pasteur nazywa, które mogą bez szkody dla siebie wytrzymać ciśnienie 10 atmosfer tlenu w ciągu 20 dni.

Pojawiły się jednak spostrzeżenia sprzeczne z wymienionemi dotąd. Leplat i Jailard, potem P. Bert, a później Signol spostrzegali śmierć zwierzęcia przy objawach karbunkułu bez obecności bakteryj we krwi. Signol mianowicie (1875) znalazł, że krew żylna zwierząt uduszonych zawiera laseczki identyczne z karbunkułowemi. Zaszczipie-

nie takiej krwi świnie morskiej wywoływało objawy karbunkułu: stan zapalny mięśni brzucha, różowawy płyn w tkance podskórnej, miejscami zaś w tkance pęcherzyki gazu. W krwi bakteryj znaleźć nie było można. Śledziona nie była jednak powiększona jak to ma miejsce przy karbunkule.

Pasteur wytłumaczył fakta powyższe w sposób zadawalniający. Zauważył on w trupach koni, krów i owiec padłych na karbunkuł, że bakterye z kanału pokarmowego drażą przez tkanki do soków i krwi i po pewnym czasie niszcząc bakterye karbunkułowe zabierają ich miejsce. Jeżeli taką krew zaszczerpić świnie morskiej—ta umiera bez śladu bakteryj karbunkułowych we krwi, ale ze znacznym rozwojem bakteryj w soku mięśniowym; bakterye owe przypominają nieco b. karbunkułu. Jeżeli zwierzę poleży przez czas pewien, to też same bakterye znajdują się potem i we krwi. Bakterye te są silnie ruchliwe—nie są to więc bakterye karbunkułu ale innej choroby, którą Pasteur nazwał posocznicą lub gnilnym rozkładem żywego ustroju „putrefaction sur le vivant.“ Pod wpływem tlenu pod ciśnieniem bakterye te nie giną, ale się zmieniają w „corpuscules germes“ czyli zarodniki. Oto dla czego Paul Bert i inni biorąc krew zawierającą obok bakteryj karbunkułowych jeszcze i te bakterye posocznicy (obecnie znane pod nazwą b. złośliwego obrzęku—oedema malignum, vibrion septique), po zaszczerpieniu otrzymywali śmierć zwierzęcia bez śladu bakteryj we krwi.

W ten sposób Pasteur nietylko udowodnił, że karbunkuł jest chorobą od bakteryj zależną, ale wykrył zarazem, że istnieje drugi podobny zarazek, różny jednak od karbunkułowego — który nazwał „vibrion septique.“

Po tem odkryciu sądził Pasteur, że łatwem będzie objaśnienie faktu dla czego krew posocznicowa nabiera coraz silniejszej jadowitości w skutek bezustannego przeszcze-

piania z jednych zwierząt na drugie. Sądził on, że się to wyjaśnia w ten sposób, że bakterye posocznicy przenoszone z krwi do krwi stają się coraz obfitsze i czystsze, t. j. tracą domieszkę innych bakteryj.

Przyczynę tego zjawiska rozstrzygnął jednak znów Robert Koch, w pracy swojej nad chorobami przyrannymi.

Ponieważ obecnie dochodzimy do czasów coraz nowszych, skończymy więc nasz krótki przegląd historyczny walk różnych prądów. Bakteryologia od czasu ostatnich spostrzeżeń Koch'a i Pasteur'a przybrała postać nauki poważne mającej znaczenie dla zrozumienia przyczyn chorób zakaźnych.

Stopniowo metody zostały udoskonalone o tyle, że spełniły się życzenia wypowiedziane przez Henle'go i Billrotha. Obecnie posiadamy dokładne sposoby do odróżnienia bakteryj chorobotwórczych od gnilnych i nieszkodliwych, jak również jednych gatunków od drugich. Metody są ścisłe i polegają na wzajemnej kontroli — co jest nieodzownym warunkiem słuszności rozpoznania; nie zadawalniamy się np. prostem znalezieniem bakteryj przy danej formie chorobowej ażeby je za chorobotwórcze uznać; potrzeba nam je oddzielić, wyhodować w postaci istotnie czystej hodowli, zbadać własności za pomocą próbnych szczepień na zwierzętach i dopiero na zasadzie danych temi różnemi drogami otrzymanych wyprowadzamy wnioski. Metoda barwienia za pomocą barwników anilinowych staje się nam pomocą w rozpoznaniu bakteryj pod mikroskopem; metody hodowania w płynach i na rozmaitych stałych podłożach dopomagają nam do ich oddzielenia — obecnie wreszcie do badań niektórych bakteryj zostają wprowadzone pewne środki chemiczne. O tych metodach, będących zdobyczą najnowszych czasów, pomówimy w następnym rozdziale.

II.

Badanie drobnoustrojów.

1. Uwagi ogólne. — Wygląd pleśni, drożdży i bakteryj. — Badanie wstępne za pomocą mikroskopu bakteryj żywych i zabarwionych. — Barwienie na szkiełku.

W niniejszym rozdziale rozpoczynamy właściwą pracę nad drobnoustrojami. Wzorem znanych podręczników moglibyśmy zacząć od klasyfikacji drobnoustrojów, przejść do opisu warunków życiowych, podać systematyczny przegląd znanych form i następnie dopiero wyszczególnić metody jakimi się posługujemy przy badaniu. My jednak rozpoczniemy od ogólnych metod badania, idąc w ten sposób drogą naturalną, jaką każdy przebyć musi chcąc się zapoznać z całością przedmiotu w sposób ułatwiający następnie bardziej szczegółowe zgłębienie oddzielnych części. Dla tego też trzymać się będziemy tutaj porządku niejako przez naturę przedmiotu wytkniętego. Pominiemy nateraz historią literatury i wyszczególnienie nazwisk autorów, o ile to nie będzie koniecznym, podamy zaś tylko najważniejsze fakta, potrzebne do oryentowania się w tej nowej, a tak już silnie rozwiniętej gałęzi wiedzy przyrodniczo lekarskiej. Ktoś może nam poczytać zechce na karb nieznamomości literatury ten brak chęci wyliczania nazwisk autorów, którzy złożyli się na zbudowanie tego gmachu, — usprawiedliwi nas jednak chęć napisania możliwie treściwego studjum mającego na celu ułatwienie zadania każdemu chcącemu zapoznać się z bakteriologią. Literaturę traktując obszernie podręczniki francuzkie a szczególnie niemieckie, do nich też odsyłać będziemy czytelnika w miejscach odpowie-

dnich. Jeżeli ktoś zechce jakąś kwestyą do gruntu poruszyć, musi szperać w źródłach, przedewszystkiem zaś w czasopismach specjalnych, które również wymienimy.

Obecnem zadaniem naszym jest przedewszystkiem, jak już powiedzieliśmy, podać jak najszczegółowiej fakta i dlatego na dalszym planie stawiamy stronę literacką.

Forma w jakiej przedmiot nasz poruszamy, wyda się może niezbyt ponętną; dla ludzi przywykłych do naukowego stylu prac podobnych, początek zdawać się może zbyt popularnym — proszę się jednak nie zrażać. Należy to do naszego sposobu traktowania rzeczy, całość zaś pokaże o ile potrafilismy dostosować się do wymagań współczesnej nauki.

Jeżeli kropelkę świeżo ugotowanego klarownego wyciągu z mięsa — czyli jak pospolicie mówimy bulionu, umieścimy pod silnem nawet powiększeniem mikroskopu — nie spostrzeżemy w nim nic szczególnego. Pole mikroskopowe będzie przezroczystem, gdzieś niegdzie pływa drobna kropelka tłuszczu, cząstka węgla wpadłego przy gotowaniu, lub drobna cząstka tkanki pochodzącej z użytego do gotowania mięsa. Gdy płyn jest zupełnie czysty i klarowny, nie dostrzeżemy tych nawet cząstek.

Po jakimś czasie po kilku lub kilkunastu godzinach stania — płyn mętnieje; mikroskop wykaże nam natenczas w każdej kropli drobne kuleczki i nitki, jedne nieruchome inne w szybkim ruchu. Drobne te żyjątka zaledwo dostrzegalne przy słabych powiększeniach (mikroskop Hartnacka oku-

lar № 2, obiektyw № 7 przedstawiający powiększenie 240 razy), są to właśnie bakterye. Pomędzy temi drobnemi tworami napotyka my jeszcze owalne lub kuliste ciała opatrzone pączkiem z boku—są to drożdże i długie, prawie teźże co drożdże grubości, nitki przebiegające przez całe pole mikroskopu—są to pleśnie. Drożdże i pleśnie są o tyle już dużemi tworami, że za pomocą wymienionego powiększenia doskonale możemy je rozróżniać; pojedyncze zaś kuleczki i laseczki bakteryj widzimy wprawdzie już przy tych powiększeniach, nie możemy jednak za ich pomocą rozpoznać ani kształtów, ani długości, ani grubości. Nic też dziwnego—pojedynczy bowiem lasecznik (kształt laseczkowaty) lub mikrokok (kształt kulisty), przedstawia się w polu mikroskopowem tworem bez porównania mniejszym.

A więc mikroskop wykaże w naszym płynie trzy rodzaje tworów: pleśnie, drożdże i bakterye. Bakteryologia ma na celu głównie badanie tylko ostatniego rodzaju; niepodobna jednak tworów tych tak pokrewnych zupełnie rozłączać, tembardziej, że wszystkie one dla medycyny i higieny posiadają pewne znaczenie. I my też rozpatrzemy je teraz w krótkości—potem obszerniej.

Pleśnie mają kształt długich i względnie dość grubych, mocno rozgałęzionych, nitek. Znamy je w postaci pierzastych kożuszków pokrywających konserwy owocowe, chleb i t. p.

Mikroskopowo odróżniamy cztery ich rodzaje, różniące się sposobem owocowania.

1. Mucor przedstawia się w postaci massy (mycelium—grzybnia) poplątanych nitek (hyphę), z pośród których wystrzelają słupki opatrzone na końcu kulistym woreczkiem (sporangium), którego całą zawartością są kuliste lub owalne zarodniki (spora). Rodzaj ten jest bardzo rozpowszechniony i poznać go łatwo z powodu iż oddzielne zarodnikowe woreczki są dostrzegalne gołym okiem i wznoszą się nad siecią grzybni w postaci lasu delikatnych lepków od szpilek.

2. Aspergillus różni się od poprzedzającego wyglądem owoconośnych słupków, które nie są zakończone woreczkami, ale kolbowatemi rozszerzeniami, na których wyrastają pałeczki (sterigma) opatrzone zarodnikami. Pałeczki na kolbowatym rozszerzeniu ułożone są promienisto, wskutek czego główka aspergillusu pod mikroskopem przedstawia się w postaci promienistej gwiazdy.

3. Penicillium jest pleśnią najbardziej rozpowszechnioną, rosnącą w postaci szarozielonawego kożucha na różnych płynach i artykułach spożywczych. Grubość nitek jest tutaj znacznie mniejszą aniżeli u poprzedzających; nitki owoconośne dzielą się kilkakrotnie widelkowato—ostatnie widelki zakończone są rzędem drobnych kulistych zarodników. Całokształt takiego owoconośnego słupka przedstawia formę pedzelka—ztaąd nazwa penicillium.

4. Oidium jest gatunkiem najmniej rozpowszechnionym. Najczęściej spotykamy go w postaci białego kożuszka na mleku. Słupki owoconośne na końcu wprost oddzielają zarodniki—jest to więc sposób mnożenia się podobny do posiadanego przez bakterye, za pomocą poprzecznego podziału laseczki, jakkolwiek tylko na końcu, podczas gdy bakterye dzielą się całe poprzecznie.

Drożdże przedstawiają się w postaci pecherzyków kulistych, owalnych lub wydłużonych wielkości mniej więcej ciała ludzkiej krwi; opatrzone wewnątrz kulistą przezroczystą przestrzenią wypełnioną płynem (banieczka—vacuola). Drożdże mnożą się przez wypuszczanie z boku komórki pączków, mających pozór brodawki, która stopniowo wyrasta do wielkości komórki drożdżowej. Niektóre gatunki mnożą się za pomocą tworzenia zarodników we wnętrzu komórki.

Bakterye mają pozór laseczek lub kulek i z zewnętrznego wyglądu otrzymują nazwę laseczników (*bacillus*), gdy mają formę laseczkowatą, mikrokoków lub koków (*micrococcus*), gdy mają formę kulistą, streptococcus,

gdy kuleczki układają się rzędami paciorkowato, *spirillum*—jest to laseczka skręcona na wzór śruby, *spirochaete*—taką laseczką o delikatniejszych skrętach.

Kuleczki lub laseczki połączone w skupienie otrzymały nazwę *zoogloea*.

Bakterye, jakieśmy już powiedzieli, są to twory z drobnoustrojów najmniejsze i dla tego do badań nad nimi używać musimy daleko znaczniejszych powiększeń mikroskopu. Obecnie posiadamy je w wielkim wyborze i znakomicie wydoskonalone w fabrykach Zeissa, Hartnacka, Reicherta i innych. Poniżej rozpatrzemy szczegółowo jakie powiększenia i jakie mikroskopy potrzebne nam będą do badań nad bakteryami.

Powracamy teraz do kropli płynu, w której wszystkie twory pomienione znalazły możność rozwoju.

Gdy weźmiemy kroplę wody stojącej, ze stawu, znajdziemy tam również drobnoustroje, niektóre nawet mocno podobne do powyżej wyszczególnionych. Spotkamy tu wszelako twory przeważnie odmienne, wyraźnie zielono zabarwione lub opatrzone ziareczkami zielonego barwnika roślinnego — chlorofilu. Drobnoustroje takie są to wodorosty. Różnią się one od bakteryj zawartością chlorofilu i zdolnością życia w ośrodkach znacznie mniej zawierających soli i pierwiastków organicznych, niż tego wymaga większość bakteryj.

W bulionie czy w wodzie drobnoustroje nie powstały same. Wiemy już z poprzedniego rozdziału, gdzie była mowa o pracach nad samorodztwem, że należy ono już tylko do historii. Obecny stan nauki samorodztwa nie uznaje. Wiemy również, że drobnoustroje nie zamieniają się jedne w drugie, że tak obszerna przemiana gatunków miejsca nie ma.

A zatem drobnoustroje w płynach przez nas badanych powstały z ustrojów macierzystych do nich podobnych.

Rozpatrując kroplę bulionu z drobnoustrojami zapomocą mikroskopu, spostrzeżemy ja-

keśmy już wyżej powiedzieli, różne formy. Obecnie poruszymy sposoby, zapomocą których badanie nasze będzie mogło oddać nam większe przysługi przez uwydatnienie niewidzialnych dotąd szczegółów, następnie postaramy się oddzielić zapomocą różnych sposobów bakterye jedne od drugich, wreszcie przekonać się o ich własnościach chorobotwórczych lub nieszkodliwych.

Badanie bakteryj żywych w płynie jest potrzebnem, obecnie jednak używa się mniej często, niż badanie bakteryj zabarwionych. Metoda barwienia zapomocą barwników anilinowych zastosowana po raz pierwszy do bakteryj przez Hoffmanna w 1869 została należycie opracowaną dopiero przez Weigerta w 1875 i Kocha 1877.

Jak już wyżej powiedziano bakterye są z natury bezbarwne, przezroczyste, przytem światło załamują tak słabo, że nawet przy bardzo silnych powiększeniach są słabo widoczne. Barwniki anilinowe jak: fuksyna błękit metylowy, fiolet metylowy i gencyanowy posiadają własność bardzo szybkiego i silnego przenikania w wodnym roztworze do ciała bakteryj, które pozostają natenczas mocno i trwale zabarwione.

Oto sposób przez Kocha wprowadzony i obecnie najwięcej stosowany z pewnemi drobnemi zmianami, jakie wprowadziliśmy.

Za pomocą drucika platynowego zgiętego w kółko (p. niżej opis przyrządów), bierzemy drobną kropelkę płynu z bakteryami, puszczaemy na cienkie kwadratowe szkiełko pokrywkowe i rozcieramy poczynając od środka do obwodu ruchem kolistym, nie dochodząc do brzegów. Drucik uprzednio musi być wyjałowiony za pomocą wypalenia w płomieniu gazowym (lub spirytusowym); przy wypalaniu należy ująć ukośnie szklaną pałeczkę, w którą jest oprawiony i, trzymając ku górze kółkiem, przesuwając powoli przez płomień, aż cały drut wypali się do czerności. Również należy zlekka wypalić przylegającą do drutu część szklanej oprawki dla oczyszczenia jej od cząstek kurzu, mo-

gących się na niej znajdować. (Ostrożność ta przy robieniu preparatu nie jest zresztą tak ważną, jak później przy hodowaniu i przeszczipianiu).

Po roztarciu kropli z bakteriami na szkiełku, kładziemy je na podstawkę szklaną (opisaną niżej) na czarno polakierowanej połówce i czekamy aż warstewka wyschnie, co na czarnej powierzchni łatwo można spostrzedz patrząc pod światło. Po wyschnięciu ujmujemy szkiełko za rożek zapomocą delikatnych i miękkich w dotknięciu szczypczyków i przeprowadzamy trzykrotnie przez górną trzecią część płomienia (jako najgorętszą a zarazem jednostajną) z szybkością jednej stopy na sekundę. Jeżeli zrobimy to zbyt wolno, natenczas preparat się przypali, jeżeli zaś zbyt prędko — warstewka niedość się silnie umocuje; ogrzewanie bowiem ma na celu ścięcie śluzu i białka i umocowanie drobnoustrojów na powierzchni szkiełka.

Teraz możemy przystąpić do barwienia.

Barwniki mamy przygotowane w odpowiednich flaszeczkach, umieszczonych w drewnianej podstawce, a opatrzonych szklanymi rurkami, pełniącymi rolę pipetek. Pierwszym i trzecim palcem prawej ręki ujmujemy za pipetkę, wskazującym zatykamy w niej otworek górny i, trzymając ją po nad szkiełkiem umocowanym w szczypczykach, w lewej ręce trzymany, podnosimy powoli palec wskazujący prawy z otworu pipetki; natenczas spływa kropelka barwnika, którą przez pochylanie szkiełka w różne strony rozlewamy po całej spreparowanej powierzchni szkiełka. Cała procedura barwienia nie trwa dłużej nad pół minuty jeżeli mamy do czynienia z fuksyną lub gencyaną (fiolet gencyanowy), nieco dłużej z błękitem (metylowym), a najdłużej z wezuwiną. Barwnik należy puszczać z blizką, prawie dotykając szkiełka końcem pipetki, w przeciwnym bowiem razie preparat łatwo może być opłukanym.

Teraz, trzymając szkiełko wciąż w szczypczykach, zanurzamy je do naczynia z wodą czystą rzeczną lub destylowaną i, kilkakro-

tnie wyjmując i zanurzając, opłukujemy z śladów barwnika tak, że ze szkiełka powinna spływać czysta woda. Opłukiwanie można przeprowadzić lepiej w ten sposób: z naczynia, stojącego kilka stóp po nad stołem preparacyjnym, opatrzonego rurką kauczukową z końcem szklanym oraz ściskaczem na kauczukowej rurce puszczaemy powoli kroplami wodę destylowaną na spreparowaną powierzchnię szkiełka albo na przeciwległy jego rożek (ażeby nie splukać preparatu), lub nawet odwracając szkiełko stroną spreparowaną ku dołowi wodę puszczaemy na stronę niespreparowaną. W ten lub inny sposób otrzymujemy po upuszczeniu kilkunastu kropel wody szkiełko z zabarwionymi bakteriami i z niezabarwionem lub słabo zabarwionem tłem. Drobne cząstki i kłaczkii organiczne pozostaną również zabarwione; przy mniej dobrem barwieniu osiada również kropelki barwnika, mikroskop jednak przy należytych powiększeniach i dobrem oświetleniu wszelkie wątpliwości usunie.

Teraz, odwracając szkiełko stroną spreparowaną na dół, oglądamy na białem tle, położonej na stole białej bibuły, czy preparat nie został splukany — przy barwieniu fuksyną powinniśmy spostrzedz lekko zabarwioną czerwoną warstewkę — i kładziemy szkiełko na szkło czworoboczne *przedmiotowe*. Jeżeli podczas całego barwienia zapomnieliśmy, która strona szkiełka jest spreparowaną, natenczas pocieramy drucikiem po jednej lub drugiej stronie patrząc z której robią się rysy na zabarwionej warstewce. Błędu uniknąć łatwo, jeżeli zawsze jednakowo szkiełko trzymamy, zmieniając położenie zawsze w ten sam celowi odpowiadający sposób.

Po ułożeniu szkiełka przykrywkowego na szkło przedmiotowym preparatem do wewnątrz, osuszamy z wody powierzchnię szkiełka zapomocą przyłożenia paska białej bibuły (do atramentu używanej). Nie należy bibuły posuwać po szkło lecz przyłożyć dwa lub trzykrotnie i potem pozostałe

kropelki różkiem bibuły z lekka usunąć. Posuwając bibułę po powierzchni szkiełka, otrzymujemy w preparacie wałeczki do cylindrów nerkowych podobne, mocno przeskadzające w oglądaniu. Obecnie mamy preparat gotowy do obejrzenia pod mikroskopem.

2. Barwniki i ich przygotowanie.

Barwniki używane do barwienia bakteryj są to wszystko, z małym wyjątkiem, pochodne aniliny czyli amidobenzolu, ($C_6H_5NH_2$) produktu ze smoły węgla kamiennego. Barwniki otrzymane z aniliny działaniem różnych środków utleniających posiadają charakter zasadowy lub kwaśny i współcześnie odmienne działanie na tkanki i bakterye; widać ztąd, że działanie barwienia polega na tworzeniu słabych związków chemicznych barwnika z materią barwną. Ogólnie biorąc barwniki zasadowe silniej barwią bakterye i jądra komórek, podczas gdy barwniki kwaśne silniej barwią zarodki i otoczkę. Mikrokokki barwią się pod wpływem kwaśnych barwników (np. safraniny) nieco lepiej, niż laseczniki.

Do zasadowych barwników, według Ehrlich'a, zaliczamy: fuksynę (Fuchsin), fiolet metylowy (Methylviolett), fiolet genyanowy (Gentianaviolett), błękit metylenowy (Methylenblau) wezuwinę (Vesuvium), te są częściej używane; zaś rzadziej: zieleń metylową (Methylgrün), cyanina, safranina, magdala, dahlia. Niektóre z nich, posiadają własności odmiennego barwienia jednych części składowych preparatu od innych: fiolet metylowy barwi np. bakterye i zdrową tkankę na fioletowo, tkankę zaś amyloidalnie zwyrodnioną na różowo. Błękit metylowy barwi tkankę i bakterye na błękitno-niebiesko ziarenka zaś t. zw. komórek tuczonych (Mastzellen) na ciemno-fioletowo.

Z kwaśnych barwników są używane: kwaśna fuksyna (saure Fuchsin), kwas pikrynowy, fluorescyna, eozyna, tropeolina, kwas rozolowy, alizaryna, purpuryna.

Do podbarwiania tkanek, w których się bakterye znajdują, używane są również inne barwniki jak: karmin, pikrokarmin, hematoxylina; do uwydatniania bakteryj z pośród tkanek używamy również kwasu octowego, lub potażu gryzącego, niekiedy zaś posiłkujemy się również wodnym roztworem jodu.

Bakterye jak już powiedzieliśmy zostają silnie zabarwione przez zasadowe barwniki anilinowe. To też do ich barwienia najczęściej używamy roztworów wodnych fuksyny, błękitu i fioletu. W podobny sposób otrzymujemy również zabarwienie drożdży i pleśniowców, jakkolwiek pleśnie najlepiej oglądać w stanie niebarwionym.

Przy pewnej wprawie można dojść do tego, że z łatwością oznaczyć możemy, jak długo należy barwić dany gatunek bakteryj, oraz jakiego barwnika najlepiej używać. Ogólne zasady jużesmy podali, bardziej szczegółowe podamy przy opisie różnych rodzajów bakteryj.

Koch wskazał pierwszy możność *barwienia podwójnego* t. j. jednym kolorem zabarwił tkankę, innym zaś bakterye, lub nawet inaczej jedno bakterye niż drugie, wreszcie inaczej bakterye i zarodniki. Metody, szczegółowo opracowane przez Weigert'a, Ehrlich'a, Unna'ę i innych, stanowią obecnie najważniejszy sposób odróżniania bakteryj z pośród otaczających tworów.

Metoda podwójnego barwienia znajduje zastosowanie przeważnie przy barwieniu i badaniu tkanek ze znajdującymi się w nich bakteryami, dotąd bowiem tylko dla niektórych bakteryj posiadamy w niej sposób odróżniania ich od innych. Bakterye gruźlicze np. tem się różnią od wszystkich innych (prócz b. trądowych), że będąc zabarwione w alkalicznym roztworze fuksyny na różowo, nie tracą tej barwy pomimo działania kwasów mineralnych (solnego i azotowego); gdy następnie preparat t. j. skrawek lub szkiełko z roztażoną wydzieliną, zawierającą laseczniki gruźlicze, poddamy działaniu błękitu metylowego, wszystko zabarwi się na błękitno, prócz

bakteryj gruźliczych, które pozostaną różowemi. Na tej też podstawie Ehrlich podał łatwą metodę badania tych bakteryj. Pierwotnie bowiem Koch użył tej ich własności nieco odmiennie. Barwił on w ciągu 24-ch godzin szkiełka lub skrawki z bakteriami gruźliczemi w alkalicznym roztworze błękitu metylowego, potem na kilka sekund przekładał je do roztworu wezuwiny: tkanki i inne bakterje przyjmowały barwę brunatną, bakterje gruźlicze pozostawały błękitnemi.

Nieco podobnie do bakteryj gruźliczych zachowują się zarodniki bakteryj sianowych lub karbunkułowych. Gdy je zabarwimy w alkalicznym roztworze fuksyny i następnie poddamy krótkotrwałemu działaniu kwasu lub zakwaszonego alkoholu, działając potem roztworem błękitu, otrzymamy błękitne zabarwienie bakteryj, różowe—zarodników.

Rozpatrzmy teraz *sposoby przygotowania różnych barwników* oraz gotowe roztwory; znaczna ich część służy do badania bakteryj w tkankach chorobowemi zmianami dotkniętych.

1. *Wodne roztwory barwników anilinowych* należy przygotowywać z wodą destylowaną, świeżo przegotowaną, gdy się staną mętne filtrować, nie trzymać wystawionych na światło słoneczne, ponieważ łatwo się psują—lepiej używać rozcieńczonych alkoholowych, które robimy ze stężonych w sposób niżej opisany.

Ulegające rozkładowi roztwory barwników mogą zanieczyszczać preparaty i spowodować różne błędy; opisujemy tutaj dla przykładu wypadek, jaki się zdarzył pewnemu wytrawnemu badaczowi, a stał się powodem przykrego rozczarowania. Badając skrawki z rdzenia zwierząt dotkniętych wścieklizną w celu wyszukania zarazka, pewnego razu odnalazł on pod mikroskopem laseczki, zawarte przeważnie w drobnych naczyniach włosowatych, barwiące się błękitno z fioletem genecyanowym. Kilkakrotnie powtórzone poszukiwania dały

jednakowe wyniki i badacz nasz sądził, że odkrył poszukiwany zarazek. Gdy jednak, powtarzając jego doświadczenie, nie znadaliśmy bakteryj pomimo usilnych starań — pokazało się, że pikrokarmin użyty do barwienia był zanieczyszczony bakterjami.

Dla uniknięcia podobnych przykrych zajść powodujących dużą stratę czasu i niepotrzebną emocją należy działać barwnikami, w których nie widać mętu ani kłaczków, w razie zaś wątpliwości filtrować lub wprost świeżo przygotowywać. Najlepiej dochodzimy do tego, mając gotowe roztwory alkoholowe i z tych słabsze świeżo przygotowując. Niektóre jednak barwniki nie rozpuszczają się w alkoholu, lub też ulegają przytem chemicznym zmianom, np. karmin, pikrokarmin i wezuwina. Wezuwinę należy przygotować z wodą w postaci stężonej, t. j. z pozostającym na dnie nierozpuszczonym nadmiarem barwnika. Ażeby zaś płyn się nie rozkładał dodać można 5—10% alkoholu lub 20% gliceryny; przed użyciem zaś filtrować. Pikrokarmin i karmin przyrządzamy inaczej, ale również dla trwałości możemy dodać 5—10% alkoholu. Błękit metylowy źle rozpuszcza się w alkoholu i dla tego lepiej również przygotować go jak wezuwinę, potem zaś dodać alkoholu 10—20%.

Wodny roztwór, ażeby mógł dobrze i szybko zabarwiać bakterje, powinien posiadać ciemny kolor, w przeciwnym razie otrzymamy zbyt słabe zabarwienie.

2. *Alkoholowe stężone roztwory barwników* przygotowujemy, rozpuszczając około 0.2 gr. barwnika w 50 c. sześć. alkoholu. Roztwór taki nie używa się do barwienia i służy do przygotowania rozcieńczonych roztworów. W tym celu, według Kocha, alkoholowy roztwór wpuszczamy kroplami do nalanej do połowy wodą destylowaną fiaszeczki, mającej 3 cm. szerokości, 10 wysokości, przez której szyjkę przechodzi rurka szklana na końcu ostro wyciągnięta. Alkoholowego roztworu

wkraplamy tyle, ażeby otrzymać ciemny płyn nieprzezroczysty lub zaledwo przezświecający (fuksyna). Takich roztworów używamy najczęściej do barwienia preparatów na szkiełku pokrywkowym. Fuksynowy roztwór barwi w ogóle bardzo szybko; dość jest puścić kroplę barwnika na szkiełko, pochylić je parę razy w tę i ową stronę ażeby w ciągu $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ minuty otrzymać ciemne zabarwienie bakteryj.

Podobnie szybko barwią roztwory gencyanowego i metylowego fioletu. Najslabiej i najpowolniej barwi błękit metylowy, to też do zabarwienia tym barwnikiem należy pozostawić szkiełko na podstawie przez kilka do kilkunastu minut. Ważną zaletą tego barwnika jest brak osadów jakie się otrzymują przy innych i skutkiem tego czystość preparatu. Ujemną stroną jest łatwość uchodzenia czyli blednienia preparatu—co przy innych barwnikach ma miejsce w słabszym daleko stopniu. Ważną wypowiemy tutaj uwagę co do preparatów barwionych — nie należy ich nigdy wystawiać przez czas długi na światło słoneczne, lecz zawsze trzymać w zamkniętych pudełkach, inaczej bowiem szybko blednieją.

Prócz alkoholowych i wodnych roztworów, używane są płyny z dodatkiem różnych substancyj, które, użyte do rozcieńczenia stężonych alkoholowych roztworów zamiast wody destylowanej, znakomicie w pewnych razach ułatwiają barwienie; mianowicie wtedy gdy chodzi o uwydatnienie bakteryj wpośród tkanek. Wyszczególnimy je poniżej.

1) *Alkaliczny roztwór Koch'a*. 1 cm. sześć. stężonego alkoholowego roztworu błękitu. 200 c. sz. wody destyl. 0,2 c. sz. 10% roztw. potażu gryzącego.

2) *mocny alkaliczny roztwór Loeffler'a*. 30 c. sz. stężonego alkoh. roztw. błękitu, 100 c. roztworu potażu gryzącego 1:10000.

3) *roztwór amoniakalny*. 10 c. sz. zwykłego wodnego roztworu błękitu z dodatkiem 0,10 amoniaku (liq. amonii caust.) do natchmiastowego użycia.

4) *Woda anilinowa (Ehrlich'a)*. Handlowa anilina przedstawiająca się jako żółtawy oleisty płyn z zapachem swoistym. W ilości około 3—5% kłóci się silnie z wodą destylowaną i po upływie kilku minut filtruje otrzymaną mleczanekę przez zmoczony wodą bibułowy sączek; przesącz winien być zupełnie przezroczysty, jak woda, bez oleistych kropelek. Płyn ten służy jako ośrodek do rozcieńczania alkoholowych roztworów zasadowych barwników, np. fuksyny lub gencyany. Do nalanego na szkiełko zegarkowe dodaje się tyle stężonego alkoholowego roztworu barwnika, ażeby otrzymać po wierzchu metaliczną opalizację oraz zmętnienie samego płynu. Do tak przygotowanego roztworu barwnika zanurzamy szkiełka lub skrawki, a przy badaniu bakteryj gruźlicznych szkiełka z roztartą na nich plwociną i, jeżeli mamy zamiar niedługo badanie wykonać, ogrzewamy silnie w słabym płomyku gazowym do otrzymania pierwszych pęcherzyków pary; dla uniknięcia pęknięcia szkiełek można je umieszczać na ogrzanej blaszce.

Otrzymane silnie zabarwione preparaty odbarwiać należy kwasem azotnym 1:3 wody, solnym 1:2 (wody), lub według metody Gram'a.

Woda anilinowa łatwo się rozkłada i dla tego nie może być długo trzymaną. Dla większej trwałości można dodać 5% alkoholu natenczas trwać może dni 3—4 w ciemności.

Zamiast aniliny można użyć w podobny sposób toluidyny, terpentyny, 5% kwasu karbolowego, $\frac{1}{2}$ % amoniaku lub boraksu.

Modyfikacją wody anilinowej, z korzyścią mogącą zastąpić ją przy badaniu laseczników gruźliczych jest

5) *Płyn Neelsen'a*

fuksyny	1,0
alkoholu	10,0
5% wodn. roztw. karbolu	100,0

6) *Płyn z boraksem (Sahli)*

wody destylowanej	40
stężonego wodnego roztw. błęk. metyl.	24
5% roztworu boraksu	16
przefiltrować po 24 godzinach stania.	

7) *Roztwór Friedländera do barwienia bakteryj zapalenia płuc (w skrawkach)*

Fuksyny (lub gencyany)	1
wody	100
alkoholu	5
kwasu octowego	2

Skrawki leżą w tym roztworze 24 godzin, ztąd się przenoszą do alkoholu, potem na 1 — 2 minuty do 2% kwasu octowego, dalej opłukują w wodzie, przenoszą do alkoholu, olejku terpentynowego i w końcu do balsamu kanadyjskiego.

8) *Roztwór hematoksyliny*

Hematoksyliny	2.
Alkoholu	100.
Wody destylow.	100.
Gliceryny	100.
Ałunu	2. (Hüppe).

Roztwór ten barwi silnie jądra komórkowe, słabiej niektóre koki i skupienia (zoogloea) oraz bakterye.

9. *Pikrokarmin Ranvier'a*: stężony roztwór kwasu pikrynowego zmieszany ze stężonym amoniakalnym roztworem karminu wyparowany do $\frac{1}{5}$ objętości daje osad, który się odrzuca; płyn pozostały odparowany do suchości przy słabem ogrzewaniu daje proszek rozpuszczalny w wodzie.

10) *Pikrokarmin Hoyer'a* w stanie suchym rozpuszcza się przed użyciem w wodzie destylowanej z dodatkiem śladu amoniaku. Płyn otrzymany posiada barwę ciemno czerwoną z żółtym odcieniem.

Płyny służące do odbarwiania są następujące:

1) *Alkohol* używa się ten, jaki w handlu znany pod nazwą bezwodnego, właściwie jest on około 98%. Wystarcza do wszelkich celów: stwardniania preparatów, odbarwiania, rozpuszczania barwników. Najlepiej porozumieć się z destylarnią i prosić o pierwszą porcję alkoholu, jaki się destyluje—ten jest zawsze nieco mocniejszy.

2) *Kwas azotny* do odbarwiania metodą Ehrlich'a używa się w stężeniu 1 objętości na 3 objętości wody. Nie powinien być żółtym,

gdyż wtedy zawiera tlenki azotu, które działają silnie utleniająco i tem samem za mocno odbarwiają. Zamiast niego może być z korzyścią użyty:

3) *Zwykły kwas solny* (acidum muriaticum crudum), w naszej pracowni ma bardzo liczne zastosowania; używamy go też do odbarwiania bakteryj zamiast kwasu azotnego w stężeniu 1 na 1 lub 2 wody, posiada zaletę wielkiej taniaści.

4) *Woda destylowana* używa się do rozcieńczania barwników i zmywania preparatów. Powinna się znajdować w obszernej butli z korkiem i rurką u dna.

Dodatek kropli kwasu octowego lub kropli 20% roztworu wodoru potasu lub sodu ($\frac{1}{2}$ —1%) do 10 c. sześć. wody ułatwia odbarwienie.

5) *Roztwór jodowy*

jodu	1
jodku potasu	2
wody dest.	300

Używa się do odbarwiania przy metodzie Grama, jak również do barwienia niektórych drobnoustrojów, przedewszystkiem drożdży, pleśni, b. amylobacter.

6) *Wodny roztwór sublimatu 1%*. Sublimat rozpuszczony w małej ilości alkoholu z dodaniem następnie wody w ilości potrzebnej służy do odbarwiania przy metodzie Gram'a.

7) *Stężony wodny roztwór kwasu pikrynowego*, bardzo dobry środek odbarwiający, przez prof. Hoyera wprowadzony.

8) *Kwas chromny* używa się w roztworze $\frac{1}{2}$ % albo w postaci płynu Müllera

chromianu potasu	2.0
siarczanu sodowego	1.0
wody	100.

9) *Płyn Kleinenberga* do stwardniania i odwapniania zębów i kości.

Stężonego (nasyconego) roztworu kwasu pikrynowego

	100
kwasy siarczanego	3

po przefiltrowaniu dodać wody

	300
--	-----

10) *Mocny 30% roztwór potażu gryzącego* (wodoru potasu) lub sody gryzącej dodany

w ilości około 3%, do wody służy do uwidocznienia bakteryj z pośród płynów i tkanek.

11) *Eter* i *chloroform* używają się do odtłuszczania szkiełek i skrawków. W tym celu nalewamy nieco eteru lub chloroformu do szerokiej probówki i wpuszczamy szkiełko lub skrawki, mające być odtłuszczonemi, następnie zaś zlekka ogrzewamy, poruszając w tę i ową stronę w ciągu 5 minut. Po upływie tego czasu tłuszcz się rozpuszcza, szkiełka mogą być wyjęte za pomocą zakrzywionego drucika i ułożone do wyschnięcia na podstawce, skrawki zaś przełożone do alkoholu, ztąd zaś do roztworu barwnika.

Do *sprzezrocyszczania* tkanek w skrawkach używamy olejku terpentynowego, goździkowego, cedrowego i innych. Olejek goździkowy nie jest dobry z powodu rozpuszczania anilinowych barwników w preparatach, skutkiem czego zabarwienie staje się rozlanem i blednie. Najlepiej używać świeżego olejku terpentynowego. Stary olejek terpentynowy gęstnieje i staje się mętnym.

Do przechowywania preparatów używamy *gliceryny*, lub też najczęściej *lakieru kanadyjskiego*, rozpuszczonego w olejku terpentynowym.

Gliceryna rozcieńczona wodą (3 obj. gliceryny 1 obj. wody) używa się do przechowywania preparatów pleśniowych i drożdżowych, mianowicie niebarwionych, lub zabarwionych wezuwiną. Inne barwniki stopniowo rozpuszczają się w glicerynie i preparat się w ten sposób odbarwia. W lakierze kanadyjskim pleśnie i drożdże zbyt zmieniają kształty i dla tego rzadziej są przechowywane, chyba tylko w skrawkach z tkanek lub hodowli.

Lakier kanadyjski (Canadabalsam) lub damarowy (Damarlack) jest wybornym środkiem konserwacyjnym z powodu szybkiego wysychania, przezroczystości i pochłaniania powietrza. Ta ostatnia własność pozwala zostawiać w preparacie duże pęcherzyki powietrza bez obawy, ażeby miały na długo

pozostać. Już po kilkunastu minutach zmniejszają się one, potem zaś zupełnie rozpuszczają. Pęcherzyk $\frac{1}{2}$ mm. średnicy rozpuszcza się w 10—15 minut. Należy uważać, ażeby lakier nie był rozpuszczony w chloroformie, gdyż ten wyciąga barwniki anilinowe. Najlepiej do przechowania lakieru używać tutek blaszanych, w jakich olejne farby się sprzedają.¹⁾

3. Badanie żywych drobnoustrojów w wilgotnej przestrzeni. — Szczepienie próbne zwierzętom, obchodzenie się ze szczepionkami, przyrządami i zwierzętami.

Upřednio wspomnieliśmy, że badanie żywych bakteryj wykonywamy rzadko, ponieważ w skutek nieznacznych rozmiarów obok przezroczystości twory te bez zabarwienia trudniej dają się odróżnić. Wyjątek stanowią większe grzybki, jak drożdże i pleśnie, które mogą być badane bardzo dobrze w stanie naturalnym.

W niektórych razach musimy jednak posiłkować się badaniem wprost bez użycia jakichbądź środków, niszczących życie drobnoustrojów. Bywa to wtedy, gdy chcemy szczegółowo rozpoznać własności i warunki życiowe danego drobnoustroju, oraz cechy morfologiczne i ich kolejne zmiany pod wpływem hodowania. Sposób ten służy do współczesnego badania i hodowli.

W tym celu najlepiej posiłkować się używaniami obecnie szkiełkami przedmiotowemi z wyłobieniem (Hohlobjectträger). Szkiełka te, nie różniące się kształtem ani wymiarami (prócz grubości, — która jest dwa razy większą) od zwykłych szkiełek przedmiotowych, posiadają zagłębienie o średnicy 1 centymetra. W celu badania żywych drobnoustrojów przenosimy na końcu świeżo wyżarzonego drucika platynowego cząstkę hodowli czystej do kropelki bulionu lub innego

¹⁾ W tej formie można go nabyć w Warszawie w składzie Fiszera przy ul. Chmielnej.

pływu, stosownie do jakości drobnoustrojów, — wreszcie do kropelki galarety, umieszczonej na powierzchni dokładnie oczyszczonego cienkiego (0,1 mil. grubości) szkiełka przykrywkowego, mieszamy dokładnie końcem tegoż drucika i umieszczamy po nad zagłębieniem szkiełka przedmiotowego, kierując kroplę ku wewnątrz. Brzegi zagłębienia oprowadzamy uprzednio pędzelkiem umaczanym w wazelinie, ażeby przestrzeń, w której się kropla z badanymi drobnoustrojami znajdzie, była całkowicie zamkniętą w celu uniemożliwienia wysychania.

W ten sposób otrzymujemy „hodowlę w kropli wiszącej“ lub „hodowlę w przestrzeni wilgotnej.“ Kropla, nie mogąc parować, nasycyca szybko własną wilgocią zamkniętą przestrzeń, w której się znajduje i może być w ciągu kilku i więcej dni badaną zwykłym sposobem za pomocą mikroskopu, z zachowaniem możliwych ostrożności, ażeby nie zgnieść preparatu końcem rury mikroskopu, co się, niestety, dość często przytrafia.

Tak zrobiony preparat służy do przekonania się, czy bakterye są ruchliwe lub nie, czy tworzą barwnik lub też są same zabarwione, jak się mnożą, czy i jak tworzą zarodniki.

Za pomocą tej metody przekonywamy się np., że *micrococcus prodigiosus* będąc bezbarwnym wytwarza w koło różowe kropelki barwnika łatwo dostrzegalne; że inne bakterye barwne wogóle, nie będąc same zabarwionemi, wytwarzają barwnik w podobny sposób; że *bacillus coeruleus*, znaleziony przez nas w wodzie wiślanej różni się w tym względzie od innych, ponieważ nie tworzy kropelek barwnika, lecz sam posiada błękitne zabarwienie; że bakterje cholery mają dwa stadya — ruchliwe i nieruchliwe; że *bacillus anthracis* różni się od *bacillus subtilis* brakiem ruchu, będąc doń zresztą bardzo na oko podobnym.

Po ułożeniu preparatu na stoliku ogrzewającym (opis poniżej) możemy badać zachowanie się drobnoustrojów względem róż-

znego stopnia ciepłoty, szybkość wzrostu i t. p.

Stosując badanie bakteryj w kropli żelatyny, która, oczywiście, w zwykłej ciepłocie będzie stałą, otrzymamy rozrastanie się bakteryj w postaci kolonij trzymających się jednego punktu; możemy tutaj otrzymać wzrost kolonii bakteryjalnej z jednej laseczki i kontrolować czystość w ten sposób rosnącej kolonii.

W pewnych razach można po rozwinięciu się bakteryj dodawać niewielką ilość barwnika do kropli z hodowlą — natenczas bakterye nie zostają zabite i żyją pomimo słabego zabarwienia. Dopomaga to wielce w potrzebie do odróżniania bakteryj jednych od drugich współcześnie się rozwijających, jeżeli zaszła niepożądana domieszka do danych hodowli obcych drobnoustrojów.

Badania żywych drobnoustrojów nie należy uskuteczniać pod zwykłym szkiełkiem pokrywkowym, ułożonem na przedmiotowym płaskim: natenczas bowiem warstewka płynu pomiędzy obydwoma szkiełkami jest zbyt ciekłą i czynności życiowe drobnoustrojów nie mają możności rozwinąć się należycie. Dla tego też metoda badania żywych bakteryj nie da się w ten sposób uprościć.

Badanie pasożytnych drobnoustrojów za pomocą zaszczepienia ich do zwierzęcego ustroju jest ważnym środkiem pomocniczym dla rozpoznania fizyologicznych własności drobnoustrojów. Nieszkodliwe bakterye, w powietrzu zwykłym się znajdujące mogą być w ogromnej ilości zastrzykiwane do krwi lub wprowadzane pod skórę zwierzęciu bez wywołania najmniejszych szkodliwych dla jego zdrowia następstw; gdy tymczasem zaszczepienie bakteryj karbunkulowych końcem igielki wywołuje śmierć po krótkim przeciągu czasu.

Próby na zwierzętach nabrały największego znaczenia od czasu prac R. Koch'a, który wykazał dobitnie, że zwierzę przedstawia często najlepsze podłoże do rozwinięcia się pewnych gatunków chorobowych

drobnoustrojów. Tak np. bakterye karbunkułowe działają zabójczo w małych nawet ilościach na świnki morskie, króliki i myszy. Odkryta przez Koch'a bakteria posocznicy mysiej staje się dla myszy zabójczą w niezmiernie drobnej ilości.

Nie wszystkie jednak bakterye są bezwarunkowo szkodliwe. Bakterye karbunkułowe nie zabijają np. żaby, kury, gołębia, z trudnością zabijają białe szczury. Posocznica mysia u królików nie zawsze wywołuje śmierć; będąc dla białych myszy niezmiernie zabójczą, nie zabija wcale polnych myszy, świnek morskich, zabija zaś wróble i gołębie.

Znane bakterye ropne — staphylococcus aureus stają się szkodliwymi i powodują ropienie, jakśmy to wykazali niedawno, w obecności cukru gronowego: bez takowego nawet wielkie ilości tych bakteryj pod skórę królikowi wstrzyknięte nie wywołują żadnych zaburzeń. Wskazuje to na odmienny stosunek bakteryj do gleby i zależności rozwoju w wysokim stopniu od chemizmu tkanek.

W ten sposób dochodzimy stopniowo do zrozumienia znaczenia odporności lub usposobienia.

Według terażniejszych pojęć usposobienie lub odporność ustroju względem zarazka danej choroby polega na obecności lub braku pewnych substancyj chemicznych.

Do szczepienia używamy różnych zwierząt większych i mniejszych. Najczęściej są w używaniu myszy białe, (rzadziej domowe i polne) białe szczury, świnki morskie, króliki, gołębie; rzadziej większe zwierzęta. Nieszkodliwość bakteryj dla jednego gatunku, jak widzimy, nie jest wcale dowodem absolutnej nieszkodliwości danych bakteryj, również i szkodliwość dla jednego gatunku nie wyrokuje o bezwzględnej szkodliwości. To też próba za pomocą szczepienia jest jednym z sposobów dojścia prawdy, wcale zaś nie jedynym. Zawsze pamiętać musimy o postulatach Henle'go: 1) znaleźć bakterye pod mikroskopem, 2)

wyhodować je, 3) wywołać chorobę właściwą.

Szczepienie wykonywamy w różny sposób. Jeżeli bakterye wyhodowano w płynie, natenczas możemy wstrzyknąć kroplę płynu z hodowlą pod skórę badanemu zwierzęciu; chcąc działać mniejszą ilością zadawalniamy się dotknięciem do ranki skórnej końcem igielki platynowej, umaczonej w hodowli. W każdym razie ranka powinna być zrobioną na skórze, oczyszczonej roztworem sublimatu i eterem, włosy ze skóry ostrzyżone i przecięcie skóry dokonane delikatnymi nożyczkami. U myszy i szczura robi się to zwykle po nad nasadą ogona, u królika i świnki morskiej nad łopatkami, w celu uniemożliwienia zwierzęciu dotknięcia rany łapkami lub językiem. Po przecięciu skóry, robimy drobną kieszonkę w tkance podskórnej za pomocą igielki spłaszczonej, składamy w nią cząstkę hodowli i uciskając z wierzchu równocześnie staramy się rozprowadzić bakterye pod skórą i zbliżyć brzegi ranki.

Robiąc iniekcję podskórną z płynu, używamy strzykawki iniekcyjnej Koch'a, która się składa z szklanego cylinderka, zaopatrzonego z jednego końca kranem i balonikiem kauczukowym, z drugiego zaś igielką, która łatwo daje się usuwać i oczyszczać. Przed użyciem cylinderek z igielką należy oczyścić wodą sterylizowaną i wyprażyć w płomieniu lub przyrządzie sterylizacyjnym, poczem przystawiamy balonik kauczukowy. Przyrząd może służyć do naciągnięcia płynu.

Za tłok w strzykawce Kocha służy powietrze, zawarte w gumowym baloniku. Pociśkając go mniej lub więcej wstrzykujemy potrzebną ilość płynu. W baloniku od tyłu znajduje się otworek do wpuszczania powietrza, gdy ilość płynu doń naciągniętego jest wystarczającą. Zamiast tej strzykawki, która w każdym razie jest dość skomplikowaną używamy w naszej pracowni rurki szklanej 5—8 mm. szerokości mającej o dość grubych ściankach. Oba jej końce wycią-

gamy w długie i cienkie, prawie włosowate rurki. Długość szerokiej części rurki wynosi 5—10 c. długość końców 2—3 c. Końce rurki obcinamy do potrzebnej długości, robiąc lekką ryse za pomocą płytki z twardej stali. W miejscu tem rurka łamie się równo i łatwo. Wewnątrz rurki bliżej ku jednemu z końców umieszczamy przed wyciągnięciem tegoż końca nieco waty. Służy on do założenia nań małego gruszkowatego kauczukowego balonika, na którego przeciwległym końcu robimy rozpalonym drucikiem mały otworek do wpuszczania powietrza. Koniec rurki wciskamy w szyjkę balonika i przed użyciem ogrzewamy rurkę w płomieniu gazowym do wyjałowienia. Po ostudzeniu naciskamy balonik dwoma palcami prawej ręki i, zatykając trzecim lekko zwilżonym otworem balonika, wciągamy płyn z hodowlą mającą być zaszczeponą nie dochodząc na 1—2 cent. do watowej zatyczki, która z jednej strony chroni balonik od przedostania się doń płynu, z drugiej zaś zmusza powietrze balonika tłoczące płyn do przejścia przez watę i oczyszczenia się w ten sposób od kurzu i drobnoustrojów mogących być w baloniku zawartemi. Powietrza samego obawiać się wogóle nie należy, gdyż zawiera ono bardzo mało bakterij i prawie wcale nie zawiera szkodliwych, mogących popsuć wyniki szczepienia. Trzymając strzykawkę poziomo, wkłuwamy wolny koniec szklany pod skórę, do mięśni lub otrzewnej bez obawy złamania rurki, jeżeli koniec jej jest dość ostry i niezbyt cienki. Osobliwie nadają się takie strzykawki do wstrzykiwań do otrzewnej lub opłucnej, gdyż nie tak łatwo mogą zranić w głębi leżące trzewia lub płuca, jak to bywa przy użyciu ostrej igielki stalowej. Drugą zaletą jest możność odrzucenia rurki po jednorazowym użyciu w razie szczepienia jakichś trudno zniszczalnych lub bardzo złośliwych bakterij np. karbunkułu, gruźlicy, nosacizny.

Również można na jednym z końców rurki umieszczać igielkę iniekcijną stalową umo-

cowując ją po każdorazowej sterylizacji za pomocą szellaku—mamy wtedy ostrą igielkę nie tak łatwo łamliwą, rurkę zaś również za każdym razem zmieniać możemy. Wadą igielek stalowych jest łatwe zanieczyszczenie się wewnątrz. Do oczyszczenia można silnie ogrzaną rurkę po ostudzeniu przeczyszczyć stężonym kwasem siarczanym, wciągając takowy za pomocą balonika lub ustami, podczas gdy igielka jest przymocowaną szellakiem do końca szklanej rurki, — następnie przepłukujemy wodą i znów kwasem, aż do otrzymania dość dużego otworu przepuszczającego wyraźne i duże pęcherzyki powietrza do szklanki z wodą. Po takim wymyciu należy rurkę osuszyć, i do ogrzanej na druciku wprowadzić nieco oliwy.

Można również używać zwykłych strzykawek z tłoczkami. Te jednak mają tę wadę, że dokładnie wysterylizować na gorąco można je tylko przy uszkodzeniu równoczesnym połączeń kauczukowych lub skórzanego tłoczka. Zamiast sterylizować na gorąco, można robić to za pomocą 10% roztworu kwasu solnego, siarczanego lub 1% sublimatu, po kilku minutach należy w tym razie starannie przepłukać strzykawkę świeżo gotowaną lub sterylizowaną wodą.

Strzykawka Straus'a wyrobu Collin'a w Paryżu posiada tłoczki z bibułki, które można za każdym razem zmieniać po wstrzykiwaniu. Przedstawia ona wielkie dogodności, w naszej też pracowni używamy ją wyłącznie, zamiast zwykłych ze skórzanymi tłoczkami. Tłoczek przygotowujemy bezpośrednio przed użyciem strzykawki, okręcając koniec stępla paskiem zwykłej wysterylizowanej angielskiej bibułki, zmaczanej w słabym roztworze sublimatu. Paski takie przygotować należy w większej ilości i wysterylizować trzykrotnie w ciągu 10 minut co 7—12 godzin w strumieniu pary.

Przed zastrzykiwaniem należy igielkę zlekka wokół wypolerować na delikatnej oselce kamiennej do brzytw w kropli oliwy, ażeby ranka skórna pozostała możliwie de-

likatną i niepodrażnioną, co ma wielkie znaczenie przy iniekcjach mianowicie nowych, nieznanach, lub niewypróbowanych gatunków drobnoustrojów.

Zastrzykując do otrzewnej lub opłucnej, należy ciśnienie umiarkować w ten sposób, ażeby nie skaleczyć ważnych narządów. Dla tego też wkłucie należy skutecznie przy stopniowym naciskaniu igielki pionowo do otrzewnej, słabo ukośnie, prawie pionowo do opłucnej. Koniec igielki nie powinien być zbyt ostry, sama zaś powierzchnia igielki winna być należycie wypolerowaną.

Jeżeli mamy bakterye wyhodowane na galarecie lub agar—agar, surowicy i t. p. natenczas, chcąc je mieć w płynie, należy zebrać hodowlę platynowym dość grubym drutem, na końcu w łopatkę wyklepanym, wprowadzić do naczynka świeżo wysterylizowanego w płomieniu, mającego kształt krótkiej szerokiej probówki, dodać kroplę bulionu, lepiej zaś sterylizowanego płynu przyrządzonego z wody destylowanej z dodatkiem 0,7% soli kuchennej i rozmacić tymże drutem na jednostajny płyn, mający postać mleczanki. Jeżeli mamy do czynienia z gęsto splecionymi hodowlami nitek pleśniowych, twardymi łuszczkami hodowli gruźlicy i t. p., należy rozetrzeć je z pomienionym płynem za pomocą szklanej pałeczki świeżo uciętej (wzmiankowaną płytką stalową) i sterylizowanej. Końca takiej pałeczki nie należy zaokrąglać w płomieniu, gdyż wtedy po gładkiej powierzchni cząstki hodowli ześlizgują się i nie pozwalają rozetrzeć.

Bulionu ani wody czystej nie zalecamy używać do rozprowadzania hodowli zastrzykiwanych, gdyż tak gęstsze, jak również rzadsze od surowicy krwi płyny wywołują podrażnienie tkanki, tem samem zaś wprowadzają do działania bakterij czynnik uboczny. Dla tego też nieraz nieszkodliwe bakterye mogą wywoływać po zastrzyknięciu objawy zapalne, jeżeli zostały zastrzyknięte do podrażnionej środkami chemicznymi lub

fizycznymi tkanki zwierzęcej. W tym też celu nie należy zastrzykiwać roztartej żelatyny, surowicy, agaru i innych środków odżywczych razem z probowanymi drobnoustrojami, gdyż obraz zmian wywołanych zostaje natenczas zmienionym.

Dla tego też posiłkujemy się sterylizowanym roztworem 0,7% soli kuchennej jako blizkim co do gęstości surowicy krwi i wskutek tego nie drażniącym tkanek.

Do szczepień gęstej masy hodowli używamy również płaskich igieł, w kształcie lancy, jakie posiadają okuliści. Też igły służą do zaszczepień hodowli gruźlicy i innych do przedniej komórki oka. W tym celu zwierzę, najlepiej królik, umieszczony pomiędzy kolanami, zostaje ujęty przez pomocnika za uszy, łącznicę oka chwyta się szczypcami i robi nakłucie rogówki przy granicy z białkówką. Często można się zadowolnić trzymaniem za uszy bez ujmowania fałdy łącznicowej.

Zaszczepienie do żyły usznej królika robi się w ten sposób, że królik wyciągnięty zostaje na desce brzuchem ku dołowi, a przednie i tylne kończyny w pętelkach z mocnej tasiemki zaciskają się w otwórki deski za pomocą kołeczków drewnianych. Następnie obnażamy ostrożnie największą z żył przebiegających wzdłuż ucha bliżej tylnej jego części, podprowadzamy dwie niteczki, z których górną zawiązujemy, wprowadzamy ostrożnie tępą igielkę przez nacięcie zrobione w żyłę trzymanej na nitce, przyczem igielka powinna się swobodnie zagłębić w żyłę na 1—2 centymetry, zawiązujemy mocno nitkę na igielce węzłem chirurgicznym i wykonujemy zastrzykiwanie. Należy zachować wielką ostrożność, ażeby zamiast do żyły nie zrobić iniekcji do tkanki otaczającej, co się poznaje po jej nabrzmieniu, iniekcya zaś do żyły żadnego obrzmienia po sobie nie zostawia. Podczas zastrzykiwania do żyły pod palcami nie czujemy oporu, który daje się ucuć wyraźnie, jeżeli zamiast do żyły trafiliśmy do jej otoczki.

Po zaszczepieniu zwierzę należy umieścić w miejscu suchym, czystym i przewietrzanym, ażeby działanie probowanych bakteryj nie zostało zamącone przez okoliczności uboczne. Karmienie i pojenie zwierząt szczepionych powinno być robione troskliwiej jeszcze jak zdrowych. Do szczepień też tylko zdrowe zwierzęta brać należy, nie używać zaś wychudzonych, z pomiętą i wypełzłą sierścią i w ogóle niezdrowych z wyglądu.

Myszy przechowywać należy w słojach szklanych, na których dno nasypało warstwę, kilka centymetrów grubości mającą, trocin drzewnych. Ziarna, chleb moczony w mleku, są dla nich najlepszym pożywieniem. Słój przykrywa się drucianą, dobrze przystającą, pokrywą.

Szczury białe przechowujemy w podobnych ale większych słojach, lub w blaszanych klatkach z dnem dziurkowanym do spuszczenia płynnych nieczystości i przewiewu. Do klatki kładziemy trochę siana. Z przodu klatki mamy wysuwaną szybę szklaną, z góry drucianą siatkę.

Szczury potrzebują więcej wody, niż myszy i w tym celu należy stawiać im od czasu do czasu płaskie naczynia.

Króliki przechowujemy w drucianych klatkach z obfitością siana i wogóle dostarczamy im suchej paszy a tylko od czasu do czasu (raz dziennie) nieco kartofli, buraków, marchwi, lub innych warzyw w stanie wilgotnym na surowo.

Przestrzeń, gdzie się zwierzęta znajdują winna być suchą i umiarkowanie ciepłą oraz jasną. Dobre utrzymanie zwierząt jest koniecznym przy porządnym badaniu inaczej bowiem otrzymujemy niepewne lub kapryśne wyniki.

4. Sekcja zwierzęcia. Przyrządzenie i badanie skrawków.—Mikrotom. Metody barwienia pojedyncze, podwójne i złożone popospolitszych gatunków bakteryj w tkankach. Mikroskop.

Po śmierci zwierzęcia nastąpięj wsu-tek szczepienia lub też po zabicju jego dla

przekonania się o wywołanych zmianach, przystępujemy do badania.

Przedewszystkiem w razie nastąpięj śmierci należy zachować ostrożność co do okoliczności towarzyszących, ponieważ zdarza się, iż śmierć następuje z powodów ubocznych. Jeżeli zwierzę umiera w kilka godzin po zaszczepieniu, zdarza się to z powodu zbyt nieogłędnie wykonanej operacyi szczepienia, chloroformowania lub eteryzacyi.

Na psy, szczury i inne zwierzęta chloroform oddziaływa często w sposób zabójczy, dla tego też lepiej używać ostrożnie eteru (szczura wkładamy do słoja i wpuszczamy kawałek waty napojony eterem etylowym).

Może się to również zdarzyć wskutek nieostrożnego trzymania podczas operacyi, skutkiem czego zwierzę zostaje przyduszonym i pada w parę lub kilka godzin. Również ciasnota miejsca może spowodować uduszenie zwierzęcia, a ponieważ przy wyższej ciepłocie szybko zaczyna się rozkład i bakterye drażą do tkanek z kanału pokarmowego, zdarzyć się może, iż znajdziemy je w krwi i narządach tak uduszonego zwierzęcia. Zdarzyło się to pewnemu berlińskiemu profesorowi, który sądził, iż znalazł jakieś szczególnie zabójcze dla białych szczurów bakterye, gdy po zaszczepieniu na drugi dzień 11 sztuk odrazu padło; pokazało się zaś, że posługacz wstawił klatkę na noc do ciasnej skrzynki, gdzie zwierzęta wszystkie się podusiły.

Zwracać należy również uwagę na położenie, w jakim się zwierzę po śmierci znajduje, gdyż przy każdej prawie chorobie bywa ono innym, a jednak charakterystycznym. Posocznica np. charakteryzuje się u większości zwierząt nieregularnie powyginanemi kończynami; karbunkuł przykurczonemi, wścieklizna wyciągniętemi i t. p.

Do sekcyi zwierzę wyciągamy na desecce, przytwierdzamy kończyny szpilkami, lub goździkami, oraz przygotowujemy potrzebne narzędzia do sekcyi, zebrania i zbadania so-

ków, tkanek i narządów, również przygotowujemy podłoża odżywcze do szczepień kontrolujących.

Deseczkę z zwierzęciem umieszczamy na arkuszu bibuły, obok kładziemy narzędzia i stawiamy naczynia również na bibule, ażeby po skończeniu operacji resztki razem z bibułą spalić. Koło deseczki umieszczamy: nożyczki proste i zgięte, nożyki większy i mniejszy, szczypczyki, parę pałeczek szklanych, druty platynowe do szczepień, parę naczynek szklanych lub szkiełek zegarkowych z przykrywkami, naczynko z alkoholem i kawałkiem waty na dnie do włożenia wyjętych narządów, szkiełka przedmiotowe i przykrywkowe, mikroskop, barwniki, wodę destylowaną, bibułę w paski pokrajaną, roztwór sublimatu i płomień gazowy.

Po rozcięciu podłużnem skóry zapomocą świeżo lekko wypalonych w ogniu nożyczek (u małych zwierząt), lub takiegoż nożyka (u większych zwierząt)—zdejmujemy ostrożnie skórę, obnażając od dołu brzuch i klatkę piersiową oraz kończyny od strony tułowia, oglądamy, czy nie ma włóknikowego przesięku na mięśniach brzucha (karbunkuł), pęcherzyków gazu w tkance łącznej podskórnej (obrzęk złośliwy i zgorzel gazowa) ropni w miejscu szczepienia (bakteryje ropne) lub przerzutowych w koło miejsca szczepienia (nosacizna), ognisk zserowaciałych lub gruźleków (gruźlica, pleśnica). Znalazłszy coś szczególnego przenosimy cząstkę do zbadania na szkiełko, lub do próbowki z galaretą, lub innem podłożem odżywczem.

Następnie rozcinaemy klatkę piersiową i wycinamy mostek, badamy płuca, po przekrajanu dotykamy do powierzchni płuca szkiełkiem dla zbadania na bakteryje w soku płuc (karbunkuł i inne ogólne zakażenia), wycinamy serce, bierzemy również na szkiełko kropelkę krwi do zbadania mikroskopowego po zabarwieniu. Dla zabarwienia szkiełko zlekką osuszone w powietrzu przeprowadzamy przez płomień, puszczamy kropelkę barwnika

i postępujemy tak, jakeśmy wyżej podali dla otrzymania barwnego preparatu z bakteryj.

Wyjęte narządy wkładamy do szkiełek zegarkowych dla dalszego zbadania, lub wprost zanurzamy do alkoholu dla stwardnienia i zrobienia skrawków.

W ten sam sposób badamy wątrobę, nerki i śledzionę, dotykając się nie palcami ale szczypczykami i przecinając nożyczkami, lub nożem obmytemi w roztworze sublimatu, otartemi paskiem bibuły i sterylizowanemi w płomieniu. Jeżeli znajdujemy gdziekolwiek jakie ognisko, leżące nieco w głębi tkanki, rozpalamy pałeczkę szklaną i dotykamy powierzchni dla pozabawienia jej zanieczyszczeń bakteryalnych, jakie się podczas sekcji dostać mogły; następnie wkłuwamy do żądanej głębokości igiełkę, lub kółko platynowe, okracamy kilkakrotnie, ażeby się drobne cząstki przykleiły i przenosimy takowe do odżywczego podłoża, robiąc rysę powierzchnią na pochyło skręplem agar lub galarecie, albo też wkłuwając w głąb: za pierwszym razem, gdy bakteryje po 2—3 dniach wyrosną otrzymamy *hodowlę rysową*, za drugim *hodowlę kłutą*.

Wyjęte narządy jakeśmy powiedzieli kładziemy do bezwodnego alkoholu; na dnie naczynia winna się znajdować warstewka waty, ażeby włożona tkanka nie przyległa do dna naczynia i nie zmieniła kształtu. Nie należy kłaść wielu kawałków równocześnie, ażeby uniknąć przylegania jednych do drugich, jak również zbytecznego rozcieńczenia alkoholu wodą z tkanek pochodzącą.

Po 1—2—3 dniach można przystąpić do robienia skrawków z tkanki w ten sposób zestalonej.

Do ustalenia drobnych kawałków tkanek nie przenoszących średnicą 0,5—1 centymetra, wystarcza już 14 godzin leżenia w mocnym wysoku dla większych trzeba dłuższego czasu.

Skrawki przyrządzamy za pomocą brzytwy ręką, lub też za pomocą mikrotomu.

Brzytwa do robienia skrawków powinna być bardzo ostrą, nie posiadać wyszczerbień, nadto różni się ona od brzytwy do golenia używanej spłaszczeniem strony dolnej do skrawka przylegającej; górna może być wyłobioną lub płaską stosownie do woli.

Zestaloną tkankę przeznaczoną do krajania utrzymuje się w lewej ręce pomiędzy wielkim, wskazującym i trzecim palcami, brzytwa trzyma się lekko prawą ręką i ukośnem posuwaniem bez naciskania powoli się odcina jaknajcieńszą warstewkę. Powierzchnia krajana winna być wyskokiem zwilżoną jak również i brzytwa, ażeby powstający skrawek powoli posuwał się w warstewce płynu ku górnej powierzchni brzytwy; gdy powierzchnia brzytwy i krajanego przedmiotu jest suchą, łatwo następuje kruszenie się, lub zwijanie skrawka. Zrobiwszy skrawek, umieszczamy go w szkiełku zegarkowym z alkoholem, starając się zdjąć go ostrożnie zapomocą zwilżonego w wyskoku pendzelka. Najlepsze szkiełka zegarkowe są zaopatrzone u dołu płaską powierzchnią, wskutek czego nie są tak wywrotne. Po zrobieniu dostatecznej ilości skrawków najlepsze z nich t. j. największe i najcieńsze przenosimy teraz do barwnika.

Do bakteriologicznych badań w większości wypadków dostatecznymi są i skrawki ręką otrzymane. Jakkolwiek przy wielkiej wprawie można dojść do tego, że skrawki otrzymane ręką posiadają obok znacznej cienkości wielką powierzchnię — to jednak obecnie metoda ta zostaje zupełnie zarzuconą w obec udoskonalenia mikrotomów.

Nie będziemy wchodzić w opis szczegółowy tych przyrządów, gdyż dla zupełnego obznajmienia się z ich użyciem trzeba je w użyciu widzieć — nie będziemy tembardziej opisywali kolei, jakie przeszedł mikrotom w ciągu lat 20, przyczem z przyrządu bardzo mało wygodnego, jakim był pierwotny podwójny nóż, został zbudowany przyrząd bardzo złożony potrzebny przy obecnych metodach badania.

Technika skrawków w zastosowaniu do bakterjologii jest dość prostą i dla tego również nie będziemy wymieniali różnych sposobów zestalania tkanek, jakimi się posługują zoologowie i histologowie. Poruszymy tylko metody i sposoby bezpośrednio do bakterjologii zastosowane.

Mikrotom jest to przyrząd składający się z 2 części głównych:

1) brzytwy, która umocowuje się w dość ciężkiej metalowej osadzie, posuwającej się w wyłobieniu ciężkiej, do stołu przykręconej podstawy w sposób przypominający ruch sanek.

2) z klamry do umocowania preparatu, posuwanej do góry za pomocą śruby mikrometrycznej, mającej podziałkę na 1/100 — 1/200 milimetra.

Cały przyrząd przyśrubowanym zostaje do ciężkiego stołu, gdzie żadne chwiania się zachodzić nie mogą; dostęp doń winien być otwartym; podziałka mikrometryczna widoczną; zachować również należy ostrożność przed możliwem skałeczeniem się brzytwą, lub teź nieostrożnem potrąceniem, które może ją zepsuć.

Brzytwa z oprawą bywa poruszana już to ręką, już też za pomocą odpowiedniego mechanizmu w rodzaju korby, przyczem uzyskuje się większą dokładność w skrawkach. Osada, w której brzytwa zostaje umocowana, winna być nasmarowana oliwą w punktach zetknięcia z podstawą dla zupełnego uniknięcia tarcia. Brzytwa powinna być ostrą i wypolerowaną na obu powierzchniach bez najmniejszych wyszczerbień, które psują robotę, gdyż skrawek podczas krajania kruszy się lub rozdziera. Podczas krajania górna powierzchnia brzytwy winna być ciągle zwilżana wyskokiem lub wodą stosownie do tego, w jakim płynie tkanka zestaloną została, jeżeli w wyskoku to tylko wyskokiem tegoż stężenia. Skrawki należy zdejmować z brzytwy zapomocą pendzelka zmaczanego w tymże wyskoku i składać do naczynia, z którego po ukończeniu krajania

przenosi się je, wybierając największe i najcieńsze. Gdy krajanie trwa przez czas dłuższy, należy zdjąć brzytwę, zetrzeć ostrożnie skórka lub cienkim płótnem obie jej powierzchnie, a głównie oczyścić dolną z tłuszczy i przyklejonych cząstek, poczem przyciągnąć samą brzytwę parę razy po suchym pasku, jakiego do ostrzenia używamy.

Mikrotomy prostej budowy możemy znaleźć u Katsch'a w Monachium, Schanze'go w Lipsku, jedne zaś z najlepszych u Junga i Walba w Heidelbergu. Cena ich wynosi od 80—100 marek. Bardziej złożone przyrządy mamy również u wspomnianych fabrykantów, jak również w Warszawie u Berendta, zbudowane według pomysłu tego mechanika i odznaczające się niezmierną dokładnością. Bardzo ładny i subtelnie wykonany przyrząd ¹⁾ swego pomysłu przedstawił również Dr. Mikołaj Bruner; za najlepszy z dotąd widzianych uważam mikrotom Dra Krysińskiego.

Do bakteriologicznych poszukiwań nie może służyć mikrotom z przyrządem zamrażającym, jakie są w częstem użyciu u patologów i histologów, zbyt ciężkie są również przyrządy zbyt złożone, a skutkiem tego drogie. Wystarcza średni model jeden z wyżej wspomnianych.

Ponieważ robienie skrawków bez odpowiedniego umocowania krajanych cząstek nie byłoby możliwem dla tego więc przed krajaniem należy je umieścić na odpowiednio twardej podstawie lub też całkowicie utrwalić w massie krzepnącej, których kilka rodzajów posiadamy.

Pierwotny sposób polegał na umieszczeniu kawałków tkanki pomiędzy cząstkami innej twardszej, łatwo się krajającej tkanki roślinnej lub zwierzęcej—np. pomiędzy kawałkami rdzenia białego bzu lub kawałkami zestalonej w wysokoku wątroby. Obecnie używane metody polegają na zastosowaniu mas krzepnących.

Najpierw w tym celu została zastosowana guma arabska. Tkanka np. płuco umieszczoną była na pewien czas do gęstego kleju z gumy, poczem umieszczoną na kawałku korka przenoszono ją do mocnego wysokoku. Po 24—48 godzinach można było przystępować do krajania.

Guma arabska nie jest jednak odpowiednią z powodu zbyt silnego tężenia w wysokoku i, co zatem idzie, zbyt twardości preparatu powodującej łatwe wyszczerbianie się brzytwy.

Dla tego też za odpowiedniejszą masę należy uznać glicerynową galaretę Kocha. Oto sposób jej przyrządzania: na 10 gramów żelatyny białej bierzemy 20 cent sześ. wody destylowanej i po napęcznieniu żelatyny dolewamy 40 c. sześ. gliceryny. Wszystko ogrzewamy na kąpeli wodnej do otrzymania jednostajnego gęstego kleju, który możemy w razie niedość dokładnej czystości na gorąco przez bibułowy sączek przedzić i przechowywać w kolbce Erlenmeyer'a zatkanej watą z zanurzoną w galarecie szklaną laseczką. Masa taka przechowuje się bardzo długo nie psując się ani pleśniejąc. Jeżeli potrzeba umieścić cząstkę tkanki np. kawałek lub całą nerkę małego zwierzęcia, płuca i t. p. osuszamy zlekką żądaną cząstkę z wysokoku kawałkiem bibuły, umieszczamy ją na powierzchni gładko przyciętego korka, którego górną powierzchnię pokrywamy przy pomocy ogrzanej szklanej laseczki warstewką płynnej glicerynowej galarety, która powinna dokładnie opasać boki umieszczonej cząstki oraz przylgnąć do jej powierzchni, również powleczonej zlekką warstewką tejże galarety.

Po ostudzeniu i skrzepnięciu galarety kładziemy korek z umieszczoną na nim tkanką do wysokoku starając się aby cała tkanka wraz z galaretową obwódka była zatopiona w wysokoku. Po 24 godzinach galareta o tyle tężeje, że można przystąpić do krajania.

Skrawki umieszczamy po wyjęciu z wysokoku w ciepłej wodzie, w której żelatyna

¹⁾ Wykonany w prywatnej pracowni autora.

rozpuszcza się całkowicie i preparatu nie zanieczyszcza.

Glicerynowa galareta jest bardzo odpowiednią masą do otrzymania skrawków; zupełnie wystarcza ona do bakteriologicznych poszukiwań.

Jedną z metod częściej używanych, bardzo odpowiednią, jest zaklejanie cząstek tkanki do krajania przeznaczonej w fotoksylinie (Krysiński). W tym celu przyrządzamy 2 roztwory substancji; jedno i pięcioprocentowy, rozpuszczając czystą fotoksylinę w mieszaninie równych objętości wysokoku i eteru. Z początku kładziemy tkankę na 24 godzin do roztworu 1%, ztąd przekładamy na takiż przeciąg czasu do 5%, wyjęte cząstki tkanki umieszczamy na korku (jak wyżej), czekamy aż warstwa lekko przyschnie i zanurzamy wszystko do 80% wysokoku, zktąd po 24 godzinach możemy otrzymać tkankę zdatną do robienia skrawków.

Przy tej metodzie udaje się otrzymać skrawki nieco cieńsze jak przy sposobie z galaretą: wielkich wszakże różnic nie osiągamy.

Fotoksyлина przylegająca do tkanki może pozostać przy skrawku, gdyż większość barwników oddziaływających na tkankę słabo ją zabarwia.

Metoda zatapiania w parafinie nie znajduje szerszego zastosowania przy bakteriologicznych poszukiwaniach. W głównych zarysach polega ona: 1) na stwardnieniu cząstki badanej tkanki w mocnym wysokoku; 2) na usunięciu wysokoku z tkanki za pośrednictwem innego płynu rozpuszczającego parafinę jak: benzol, toluol, olejek terpentynowy, ksylol lub chloroform; 3) na nasyceniu tkanki parafiną rozpuszczoną w jednym z powyższych płynów; 4) na usunięciu za pomocą słabego długo trwającego ogrzania lotnego rozpuszczającego płynu z pozostawieniem samej tylko parafiny, którą tkanka jednostajnie nasiąkała. Metoda parafinowa jest dość kłopotliwa i wymaga wprawy; otrzymane skrawki są cieńsze niż przy innych metodach, jednak są bardziej kruche. Za-

letą metody jest: 1) możność barwienia preparatów bez przekładania z jednego naczynia do drugiego, 2) łatwość otrzymania seryi skrawków, które układamy jeden obok drugiego, oraz barwimy i splukujemy bez obawy ich zniszczenia.

Skrawki przy tej metodzie można robić na sucho; ponieważ przytem one dość łatwo się zwijają, przy krajaniu zastosowujemy więc specjalny szklany wałeczek do rozwijania i prostowania. Metoda nadaje się w ogóle do bardzo drobnych przedmiotów i cząstek tkanek.

Po otrzymaniu skrawków za pomocą mikrotomu wybieramy metodę badania.

Najprostszą jest bez zaprzeczenia podana przez Recklinghausena, polegająca na użyciu 50% kwasu octowego lub 1—3% roztworu potażu lub sody gryzącej, w których to płynach tkanka mocno pęcznieje, staje się szklistą i przezroczystą, bakterye zaś uwidoczniają się dosyć wyraźnie. Sposób ten jednak obecnie nie używa się wcale, gdyż posiadamy inne, które odpowiadają celowi daleko lepiej, wreszcie mikroskopy obecnie budowane szczególnie się do tych metod nadają. Chcemy mówić o metodach barwnych, które obecnie znalazły powszechne zastosowanie.

Barwienie skrawków z bakteryami polega na zastosowaniu jednego tylko barwnika i w tym razie jest to jeden z barwników anilinowych barwiących silnie bakterye, nie barwiący tkanki — lub też stosujemy dwa lub więcej barwników, z których jeden barwi bakterye, drugi jądra, trzeci otoczki lub substancję międzykomórkową, tkankę łączną i t. p.

Jedną z używanych dawniej była metoda polegająca na przetrzymaniu tkanki w ciągu 6—30 minut w wodnym lub słabym wysokowym roztworze fioletu gencyanowego (rzadziej fuksyny porówn. barwniki) i następnym odbarwieniu w słabym roztworze kwasu octowego (1 kropla na 20 c. sześć. wody). Ogrzanie płynu do 50—60 C° przyspiesza

barwienie. Skrawek zanurza się do tego płynu na 1 — 3 minut i następnie wyprostowany na łopatkę platynowej wprowadza do mocnego wysokoku; tutaj tkanka traci barwnik, który szybko występuje w postaci smug; gdy się odbarwienie skończyło, co ma miejsce przy poruszaniu skrawka w ciągu 2 — 5 minut, przekładamy go do świeżego mocnego wysokoku, ztąd po paru minutach do olejku goździkowego, terpentynowego lub cedrowego, następnie zaś po sprzezoczeniu skrawka do lakieru (wolnego od chloroformu).

Przekładając skrawek z jednego płynu do drugiego bacznie należy zwrócić uwagę na różne okoliczności drobne z pozoru, lecz niezmiernie ważne do otrzymania należytego zabarwienia, a mianowicie:

nie należy barwić i odbarwiać kilku skrawków na raz; dopóki metoda nie została wydoskonaloną w rękach naszych, poprzestać należy na jednym skrawku możliwie cienkim;

nie należy przetrzymywać skrawka zbyt długo w barwniku, gdyż przebarwiony trudno się odbarwia, barwa zaś, gdy dłużej odbarwiamy ustępuje również i z bakteryj;

przenosząc skrawek z wody do wysokoku uważać należy, aby on był należycie wyprostowany; załamany bowiem lub pokurczony nie da się wyprostować po wyjęciu z wysokoku; jeżeli inaczej nie można należy go z wysokoku wyjąć i puścić na powierzchnię wody: wyskok szybko ustępując sprzyja rozpostarciu skrawka.

przenosząc skrawek do mocniejszego wysokoku, należy łopatkę obetrzeć z wilgoci, ażeby wyskok pozostał należycie bezwodnym: w tym samym celu nie należy nachylać się zbyt nad powierzchnię szkiełka zegarkowego z wyskokiem, ażeby para z oddechu nie rozwadaniała wysokoku.

Przenosząc skrawek z wysokoku do olejku, uważać należy, ażeby był on już dość twardym nie zaś wiotkim; również łopatkę winna być należycie wysuszoną, a skrawek bezpośrednio po włożeniu do olejku jaknajgłębiej

w nim zanurzony, ażeby się nie stykał z kropelkami wypływającego płynu, który pozostawia po odparowaniu szare matowe plamy.

Gdy takie plamy występują w skrawku i nie znikają w olejku po kilku minutach, oraz gdy wkoło skrawka zaczynają pływać szare wodniste kropelki — na czarnem tle papierowej podkładki łatwo dostrzegalne, oznacza to, że wyskok jest za słaby, lub, że olejek został wyskokiem przesycony.

Naczyńka do barwienia używane są to szkiełka zegarkowe o 5—7 c. średnicy, zaopatrzone u dna w płaską powierzchnię, ażeby mocniej stać mogły. Szkiełka winny się znajdować na kawałku białej bibuły do łatwiejszej oceny jakości zabarwienia i sprzezoczenia; obok winna się znajdować podkładka z czarnego papieru, do porównania stopnia odbarwiania i sprzezoczenia.

W końcu skrawek zupełnie przezroczysty zostaje przeniesionym na szkiełko przedmiotowe i pokrywkowem przykryty. Badanie odbywa się zaraz w olejku, lub też po usunięciu olejku za pomocą paska bibuły puszczaamy kroplę lakieru, uważając, ażeby była wystarczającą do objęcia preparatu i nie za dużą, ażeby z po za brzegów szkiełka pokrywkowego nie występowała. Grubość szkiełka pokrywkowego powinna się zawierać pomiędzy 0,10 — 0,15 m. Grubsze możemy stosować przy słabszych powiększeniach, których odległość ogniskowa jest dość dużą.

Barwienie w sposób powyższy nie jest odpowiedniem dla wielu gatunków bakteryj, jak np. dla bakteryj tyfusowych i nosaczynowych, gdyż je kwas szybko odbarwia.

Najbardziej pewną z metod pojedynczego zabarwienia jest barwienie roztworem Loefflera, lub roztworem amoniakalnym (p. barwniki). Ten ostatni lepszym jest z tego powodu, iż daje preparaty czystsze, podczas gdy roztwór Loefflera, pomimo częstego filtrowania, pozostawia dość dużo osadów.

Po kilku minutach leżenia w barwniku, skrawki oplukują się w wodzie czystej lub

z dodatkiem kropelki kwasu octowego, następnie odwadniają wyskokiem; dalsze postępowanie odbywa się sposobem podanym powyżej. Należy zwrócić uwagę, iż przy tym sposobie łatwiej niż przy innym barwią się t. zw. komórki tuczzone—Mastzellen lub Plas-mazellen. Są to owalne lub wrzecionowate ciała, gęsto wypełnione kuleczkami zupełnie podobnymi do mikrokoków. Różnica polega tylko na niejednostajnej wielkości jak również na tem, że istnieją one w każdej zdrowej tkance. Obfituje w nie szczególnie łącznotkankowa osnowa wszystkich narządów mięszzowych np. płuc, nerek, wątroby.

Inne barwniki alkalizowane w sposób podobny, lub dodatkiem wody anilinowej, fenolu i t. p. nie mają żadnych szczególnych zalet i dla tego mogą być pominięte.

Ażeby przy zabarwieniu się bakteryj, tkanka została odbarwioną, należy według Koch'a wyjęte z barwnika mocno zabarwione skrawki włożyć na 5 minut do stężonego roztworu węglanu potasu, rozcieńczonego równą ilością wody, następnie przełożyć do mocnego wyskoku, potem do olejku cedrowego i na koniec do lakieru.

Metoda Gram'a, która dla pewnych gatunków bakteryj jest bardziej od innych odpowiednią, daje wyniki podobne do poprzedzającej; ponieważ jednak tkanka zostaje przy tem inaczej zabarwioną niż bakterye, należy ją uważać za metodę podwójnego barwienia.

Metoda ta polega na mocnem zabarwieniu skrawków w ciągu kilku minut w roztworze gencyanowego fioletu w wodzie anilinowej, opłukaniu wyskokiem i zanurzeniu do roztworu jodu w jodku potasu (p. powyżej barwniki) na przeciąg 2—3 minut. Ztąd po ciemniałe skrawki przeniesione zostają do wyskoku, aż do zupełnego odbarwienia, poczem do olejku i lakieru jak zwykle. Zamiast do czystego wyskoku można naprzód przełożyć skrawki z jodowego roztworu do wyskoku z dodatkiem 10—20% kwasu octowego, a potem dopiero do czystego bezwo-

dnego wyskoku. Przy tem postępowaniu jądra lepiej się uwydatniają.

Bakterye przy metodzie Grama zostają zabarwione na kolor ciemno-błękitny, tkanka na żółtawy. Ze zmianą barwników na inne oraz ze zmianą stężenia ich roztworów, należy zmieniać postępowanie przy tej metodzie, nie mogącej być ściśle w każdym przypadku ujednostajnionej. Toż samo stosuje się do pewnych gatunków bakteryj, które przy tej metodzie zupełnie nawet się odbarwiają, jak bakterye tyfusu, nosacizny, zapalenia płuc.

Barwienie podwójne w ścisłem tego słowa znaczeniu osiągamy przy metodzie Grama w ten sposób, że skrawki po wyjęciu z wyskoku przekładamy do słabego wodnego roztworu wezuwiny lub pikrokarminu, lub też do roztworu eozyny w słabym wyskoku, poczem przekładamy je do stężonego wyskoku; w tym razie bakterye ciemno-błękitno zabarwione dobrze odbijają od brunatnego lub różowego tła tkanki.

Barwienie pikrokarminem i hematoksyliną możemy skutecznie wtedy, gdy bakterye metodą Koch'a zostały zabarwione na ciemno-błękitno lub różowo; w każdym razie należy tak dobierać barwnik tła, ażeby bakterye wyraźnie odbijały, będąc same zabarwione na kolor odmienny.

Barwiąc bakterye metodą Weigerta w 1% wodnym roztworze fioletu gencyanowego należy po odbarwieniu w wyskoku kłaść tkankę na $\frac{1}{2}$ —1 godziny do pikrokarminu.

Toż samo można robić inaczej, barwiąc najpierw skrawki w ciągu 10—15 minut zapomocą karminu, pikrokarminu lub hematoksyliny; bakterye nie zostają przy tem zabarwione—barwią się tylko jądra i komórki. Po opłukaniu w wodzie, skrawki przełożone zostają do zasadowego anilinowego barwnika, gdzie bakterye się zabarwiają, tkanka zaś zatrzymuje zabarwienie pierwotne: pikrokarmin zabarwia na żółto tkankę łączną i zarodź komórek, na różowo

jądra — mamy więc w ten sposób zabarwienie potrójne.

Wyborne zabarwienie podwójne otrzymujemy działając na skrawki mocno zabarwione w anilinowodnym roztworze fioletu gencyanowego, zapomocą stężonego kwasu pikrynowego. Otrzymujemy wtedy bakterye ciemnofioletowo zabarwione na jasno karnarkowożółtem tle.

Ponieważ nie można podać ogólnej reguły barwienia bakteryj — wymienimy tutaj sposoby najstosowniejsze dla różnych gatunków.

Bakterye gruźlicy w skrawkach barwimy na zasadzie wspomnianej już, odkrytej przez Koch'a, własności tych drobnoustrojów zabarwiania się trwale w alkalicznych barwnikach. W tym celu używamy najczęściej gencyanowego fioletu lub krystalicznej fuksyny w postaci stężonego alkoholowego roztworu, który wpuszczamy kroplami do świeżo przygotowanej wody anilinowej. Roztwory przyrządzamy według przepisu podanego przy barwnikach, wodę anilinową świeżo przygotowaną filtrujemy przez zwilżony wodą destylowaną sączek bibułowy (zwilżenie wodą nie dopuszcza przechodzenia zawieszonych kropelek aniliny) do szkiełka zegarkowego, poczem dolewamy tyle stężonego alkoholowego roztworu barwnika, ażeby otrzymać ciemno zabarwiony prawie nieprzezroczysty płyn. W tym płynie umieszczamy skrawki na przeciąg 1—24 godzin. Chcąc zabarwienie przyspieszyć i w ciągu $\frac{1}{2}$ —1 godziny otrzymać, należy płyn zlekka zagrzać. Skrawki jednak otrzymujemy lepsze, jeżeli barwimy je wolniej.

W tymże celu możemy użyć i innych opisanych barwników, jak płyn Neelsen'a i roztwór Sahli'ego.

Do odbarwiania używamy kwasu azotowego rozcieńczonego wodą (1 na 3 objętości) lub też kwasu solnego (1:2).

Odbarwianie odbywa się w ten sposób: skrawek wyjęty z barwnika zapomocą zwykłego szpatelka lub jeszcze lepiej łopatki platynowej (oprawionej w szkło) umieszcza-

my na szkiełku zegarkowym, zawierającym rozcieńczony kwas, poruszamy skrawek w różne strony w ciągu $\frac{1}{2}$ —1 minuty, przekładamy do wysoku, w którym podobnie poruszamy skrawek w różne strony dla spłukania kwasu, przenosimy do świeżego alkoholu, powtarzamy tę operację po raz trzeci, w końcu po dokładnem zmyciu śladów kwasu przenosimy skrawek do olejku terpentynowego lub cedrowego, który znajduje się w szkiełku stojącym na czarnem tle; łopatka przed zanurzeniem skrawka w olejku winna być z alkoholu szybko o bibułę osuszoną, inaczej nadmiar alkoholu nie zostaje w olejku rozpuszczony i skrawek olejkim nie przesiąka, za dowód czego służą szare plamy występujące na całym skrawku. Dla przyspieszenia tej sprawy należy skrawek zanurzyć na dno naczynka z olejkiem. Po 5—10 minutach, jeżeli olejek należycie usunął alkohol, skrawek jest zupełnie przezroczysty, na czarnem tle nie widać matowych szarych plam, powierzchnia łopatki pod skrawkami jest widoczną, połyskującą. Teraz kładziemy skrawek na szkiełku przedmiotowym, przykrywamy i rozpatrujemy w olejku lub w kropli lakieru.

Jeżeli chcemy otrzymać zabarwienie podwójne, natenczas po wyjęciu z kwasu zanurzamy skrawek do pierwszego alkoholu, i nie przekładając do 2 i 3 zanurzamy go do wodnego roztworu barwnika tła, t. j. do błękitu metylenowego, jeżeli bakterye zabarwiamy fuksyną, zaś do wezuwiny, jeżeli barwimy je fioletem gencyanowym; następnie idziemy wskazaną kolejną bez opłukiwania barwnika w wodzie, (łatwo bowiem powstają osady).

W podobny sposób barwimy również bakterye trądu.

Bakterye zapalenia płuc zabarwiamy w sposób podany przez ich odkrywcę Friedländer'a (p. barwniki).

Bakterye tyfusu barwią się bardzo dobrze w płynie Neelsen'a i odbarwiają w wysoku. Najlepsze wyniki otrzymywaliśmy

barwiąc je amoniakalnym stężonym roztworem błękitu (p. barwniki) i odbarwiając po 1—kilku godzinach alkoholem. W tenże sposób najlepiej barwią się również *bakterye nosacizny*.

Bakterye przymiotu według Lustgarten'a barwimy przez 12—14 godzin w anilinowodnym roztworze gencyanowego fioletu przy ciepłocie zwykłej, poczem przez 2 godziny przy 40 C° w termostacie; następnie skrawek zlekka opłukujemy w alkoholu, dalej przenosimy do 1,5% roztworu nadmanganianu potasu, gdzie pozostaje przez kilkanaście sekund, poczem przekładamy go do kwasu siarkawego: utworzony brunatny osad dwutlenku manganu rozpuszcza się w jednej chwili, tworzy się siarkan manganu i następuje odbarwienie. Jeżeli skrawek odbarwił się słabo, natenczas po opłukaniu w wodzie ponownie przenosimy go do nadmanganianu potasu i kwasu siarkawego, działając teraz jednym i drugim przez czas bardzo krótki. Bakterye zostają zabarwione na niebiesko na tle bezbarwnem. Podbarwianie tła w ogóle źle się udaje. Różnica od bakteryj gruźliczych, które się przy tej metodzie również barwią, polega na szybkim odbarwianiu bakteryj Lustgartena w kwasach mineralnych. Giacomi i Gottstein podają sposób łatwiejszy, polegający na zabarwieniu skrawków w ciągu 24 godzin w roztworze wyżej wymienionym lub fuksynowym, poczem skrawki opłukuje się w wodzie, zanurza do rozcieńczonego roztworu półtorachlorku żelaza, opłukuje w alkoholu i sprzezroczyusza w sposób zwykły. W fuksynie zabarwione skrawki wyglądają jasnofioletowo, jądra zostają odbarwione, bakterye zaś zabarwione na różowo aż do ciemnofioletowego; fiolet gencyanawy barwi je na kolor ciemnobłękitny.

W sposób ogólnie przyjęty, a najlepiej zapomocą amoniakalnego roztworu błękitu metylenowego barwią się skrawki tkanek dotkniętych *pleśnią*.

Grzybki *promienicy* według Weigerta za-

barwia najlepiej roztwór orselu (orseille) rozpuszczony w mieszaniu 20 c. sześ. alkoholu 5 c. sz. kwasu octowego i 40 wody do otrzymania ciemnopurpurowego płynu, który się przefiltrowuje. Do tego płynu kładzie się na 24 godzin skrawki, uprzednio, jeżeli potrzeba, odwapnione przez trzymanie w słabym roztworze kwasu solnego. Następnie opłukuje się je w alkoholu, zanurza do 1% wodnego roztworu fioletu gencyanowego i postępuje dalej w sposób zwykły. Części wewnętrzne grzybka promienicy zabarwione zostają przy tym sposobie na błękitno, zewnętrzne na kolor rubinowy, jądra na błękitnofioletowy, tkanka łączna na słabo pomarańczowy. Podobnem bywa zabarwienie, gdy zamiast fioletu użyjemy błękitu. Również możemy zastosować tutaj metodę Grama i alkaliczny roztwór błękitu metylenowego.

Obecny stan wiedzy zniewala nas do uznania za chorobotwórcze pasorzyty innych tworów, które nie mogą być zaliczone do bakteryj—ponieważ jednak niema dotąd osobnego dla nich działu wiedzy lekarskiej należy je w bakteriologii uwzględnić.

Prace Laveran'a wyjaśniły przyczynę *zimmicy* wykazując w krwi chorych protoplazmatyczne żywe ustroje, dające się zaliczyć do pełzaków (amoeba). Laveran nazywa je plasmodium, Meczniow zaś — haematophylum malariae.

Można przypuszczać, że i przy innych chorobach żyjątko z tego rodzaju odgrywają również pewną rolę. Sposoby badania wystarczające w bakteriologii nie są tutaj wystarczającami: potrzeba użyć nowych mianowicie w kierunku stwardniania tkanek, które wyskok bądź co bądź znacznie zmienia, a nawet stosunek bakteryj do elementów tkankowych nieraz zaciera. Słuszną więc jest uwaga Hüppego, dotycząca wyszukiwania innych sposobów zestawiania tkanek.

Do uwydatniania *pełzaków* Brass poleca roztwór równych części części: alkoholu, chlorni-

ka platyny i kwasu octowego w 400—1000 częściach wody. Do zestalenia tkanek zaleca on $\frac{1}{8}$ do $\frac{1}{2}$ % roztworu kwasu chromnego do którego po pewnym czasie dodaje się kilka kropel tegoż roztworu; następnie zaś preparat przekłada się do 30% wysokoku, stopniowo zaś dla zupełnego odjęcia wody do coraz silniejszego, wreszcie do absolutnego.

Mieszanka kwasu octowego, chlorku platyny i kwasu chromnego jest bardzo dobrą do ostrożnego stwardniania tkanek, osobliwie wtedy, gdy na 100 gr. roztworu dodamy 4—6 kropel 1% kwasu osmowego.

Barwienie *pasorzytów zimnicy*, haemato-phylum malariae, według Chęcińskiego, odbywa się zanurzając krew badaną wysuszoną i utrwaloną zwykłym sposobem w płomieniu na szkiełku, w roztworze mieszanej błękitu metylenowego i eozyiny, przyrządzonej ze zmieszania równych objętości stężonego wodnego roztworu błękitu zmieszanego do połowy z wodą i $\frac{1}{2}$ % roztworu eozyiny w 60% wysokoku. Szkiełka mają leżeć w barwniku 4—5 minut, poczem zostają opłukane w wodzie. Czerwone ciała krwi zabarwione zostają na różowe, białe zaś ciała i pasorzyty na błękitno.

Badanie cząstek skóry dotkniętej pasorzytami takimi jak *grzybek strupienia* (Favus) lub *łuszczycy pstrej* (Pityriasis versicolor) dokonywa się najlepiej zdejmując o ile można cienkie łuszczyki, które najpierw pozbawić należy tłuszczu zapomocą wygotowania w eterze. Odtłuszczone cząstki zanurzają się w 20—30% roztworze sody gryzącej, gdzie pozostają w ciągu $\frac{1}{2}$ —1 godziny do zupełnego napełnienia, poczem obmywają kilkakrotnie wodą i zanurzają do alkalicznego (amoniakalnego) roztworu błękitu metylenowego na kilka minut, dalej opłukują się w wysokoku, odwadniając w zmienionym 2—3 razy i przekładają do olejku cedrowego i lakieru. Jeżeli cząstki są zbyt grube, co się tyczy mianowicie strupienia należy je natenczas rozdzielić igielkami po wyjęciu z sody gryzącej na cienkie łus-

czki i w tym stanie włożyć do roztworu błękitu.

Wybór *mikroskopu* do badań bakteriologicznych jest rzeczą pierwszorzędną wagi. Drobne twory ażeby mogły być należyście widziane wymagają specjalnych urządzeń jakie od niedawna dopiero posiadamy. Na pierwszym miejscu obecnie stoi firma Zeiss'a z Jeny z swemi apochromatycznymi obiektywami, które do naszych badań są najodpowiedniejsze z powodu wyrazistości zarysów jaką za ich pomocą osiągać się daje. Jedyną wadą tych mikroskopów jest wysoka cena.

Drugie miejsce zajmie fabryka Hartnacka, którego immersye są bardzo dobre. Reichert w Wiedniu wyrabia mikroskopy które nie ustępują Hartnackowi, a niektóre nawet przewyższają, zaś pod względem ceny są o $\frac{1}{3}$ tańsze. Dobre i tanie mikroskopy wyrabia również Leitz w Wetzlarze.

Mikroskop do badań nad bakteriami winien posiadać powiększenia znaczne, a przede wszystkim olejną immersyą co najmniej № 1 z ogniskową odległością $\frac{1}{12}$, oraz przyrząd oświetlający czyli kondensor Abbe'go. Okulary zbyt silne, po za № 3, nie powinny być używane, gdyż 4 i 5 dają zbyt mało światła. Mikroskop taki powinien posiadać również przyrządek rewolwerowy pozwalający bez odkręcania śruby umieszczać po nad preparatem żądane powiększenia; rewolwer taki mający 2 lub 3 miejsca wystarczy: do jednego przykręcamy bardzo słabe powiększenie np. № 2, do drugiego, № 7, do trzeciego immersyą.

Mówimy w tej chwili o numerach takich jakie mamy w mikroskopach Hartnack'a. Z użyciem mikroskopu najlepiej obeznać się przed rozpoczęciem badań u kogoś co dany mikroskop posiada, gdyż nietrudno coś zepsuć, co potem z wielką trudnością da się naprawić, a czego łatwo przy ostrożności uniknąć. Podamy tutaj pewne praktyczne wskazówki, które w znacznej części wystarczają.

Przedewszystkiem wyjmując mikroskop z pudełka należy zauważyć czy okulary i obiektywy dostarczone zostały wszystkie i w całości, oraz czy za pomocą lupy patrząc pod światło nie spostrzeżemy drobnych rysek na szkiełkach obiektywowych i okularowych.

Ustawiamy statywę mikroskopu przed oknem zasłoniętym roletą od zbytniego górnego światła i umieszczamy czarny kwadratowy kawałek kartonu 40 cmtr. wysoki i 30 szeroki, przed oczami tuż poza rurą mikroskopu, tak ażeby światło padało tylko od dołu, z przed lusterka, a żebyśmy przed oczami mieli zupełnie zasłonięte inne źródła światła, które niepotrzebnie rażą wzrok i zmniejszają wrażliwość oka na obraz mikroskopowy.

Teraz, ponieważ mamy pracować nad bakteriami, usuwamy z pod stolika mikroskopowego t. zw. diafragmę, rodzaj zasuwki, z wprawionemi większemi i mniejszemi otworami, które potrzebne są do celów histologicznych zaś przy bakterjach nigdy się nie zastosowują, natomiast zaś przykręcamy przyrząd oświetlający Abbé'go. I ten również posiada dyafragmy, które jednak przy bakteriologicznych badaniach możemy raz na zawsze odrzucić, gdyż to co one nam zapewniają t. j. lepszą wyrazistość konturów da się doskonale zastąpić przez opuszczenie soczewki przyrządu oświetlającego.

Następnie przykręcamy rewolwer do śruby mikroskopowej i dokręcamy do niego kolejno obiektywy. Przed przyśrubowaniem oglądamy czy w rurce obiektywu lub na szkiełku nie znajdują się cząstki kurzu, które ostrożnie delikatnym pędzelkiem usuwamy (po uprzednim oczyszczeniu z włosków i kurzu końca pędzelka). U góry na rurę mikroskopową zakładamy okular, przedtem jednak patrząc w rurę zwracamy uwagę, czy światło z obiektywu pada na środkową część rury t. j. czy się znajduje w osi mikroskopu; gdy to miejsca nie ma należy dokręcić śrubę rewolweru, poruszyć kondensator w jedną lub drugą stronę, wreszcie obejrzyć czy

należycie przykręconemi zostały wzmiankowane części. Dobre mikroskopy w tym względzie rzadko posiadają niedokładności mogące być niejaką przeszkodą w badaniu.

Okular przed włożeniem należy dobrze obejrzyć czy na jego górnem lub dolnem szkiełku w świetle odbitem nie spostrzeżemy kurzu lub włosków, które natychmiast usunąć należy i za pomocą lupy przekonać się raz jeszcze o czystości, inaczej bowiem drobne napozór cząstki stanowią często poważną przeszkodę odbijając się w obrazie mikroskopowym w postaci pyłków, krążków i gwiazdek.

Teraz odchylamy nieco statywę zastosowując odchylenie do wysokości wzrostu i wygodnego sposobu siedzenia oraz do źródła światła. Niedobrze gdy statywa nie jest urządzoną do przechylania.

Z obu stron w odpowiednich otworkach umieszczamy zaciskacze stalowe do trzymania szkiełka przedmiotowego służące, oraz wyciągamy rurę, przykręcamy obiektyw i zakładamy okular. Wiadomo, że im większe jest powiększenie tem bardziej zbliżamy rurę mikroskopową do preparatu, tak, że przy bardzo silnych powiększeniach, gdzie odległość ogniskowa jest bardzo małą obiektyw prawie dotyka powierzchni pokrywki szkiełka. Do pewnego stopnia sposób wyrobienia obiektywu może ową odległość czynić większą. Stosuje się to mianowicie do mikroskopów Zeissa, w których odległość obiektywu od preparatu jest możliwie największą, tak, iż przy wysokich nawet systemach można używać dość grubych szkiełek pokrywkiowych. Mikroskopy z innych fabryk pochodzące posiadają często tę właśnie niedogodność, skutkiem czego szkiełka pokrywkiowe grubsze nad 0,10 mm nie dają się zastosować.

Powiększenie mikroskopu zależy od obiektywu i od okularu. W ogóle jednak wysokie $M\bar{M}$ okularów dają zbyt mało światła (przy apochromatach Zeissa najlepsze są 4, 6, 8, 12).

Objektywy dają powiększenie mocniejsze od okularowego i od nich głównie ono zależy. Dzielą się one na suche i immersyjne. Immersja bywa wodna i olejna. Immersyjny obiektyw tem się różni od suchego, że przy zastosowaniu jego preparat oglądamy nie przez warstewkę powietrza lecz przez warstewkę płynu, (wody lub tłuszczu) którego współczynnik załamania światła bliższym jest szkła niż współczynnik powietrza. W wodnych immersjach w tym celu używaną jest woda — w olejnych, obecnie najczęściej używanych, po największej części znajduje zastosowanie zgęszczony olejek cedrowy.

Ażeby preparat obejrzyć, należy ułożyć go na stoliku mikroskopowym, bacząc, ażeby po za brzegi szkiełka nie występowała woda olejek lub lakier, gdyż takowe mogą zanieczyścić lub nawet zniszczyć obiektyw, dlatego też z brzegów i powierzchni szkiełka pokrywkowego obetrzeć należy za pomocą paska bibuły wszelki nadmiar płynu: również uważać należy, ażeby szkiełko ani stolik mikroskopowy nie były zamoczone.

Teraz zlekka uciskamy brzegi szkiełka za pomocą bocznych zaciskaczy i ustawiamy światło za pomocą lusterka. Nigdy nie należy używać zbyt jaskrawego światła, które razi wzrok, najlepszem jest zwykle białe od obłoków odbite. Jeżeli preparat jest niezabarwiony używamy wklęsłego lusterka i pokręcając śrubę opuszczamy oświetlacz Abbe'go nieco wdół aż do wyraźnego wystąpienia konturów preparatu (co kontrolujemy zaraz zapomocą powiększeń). Gdy zaś mamy do czynienia z preparatem zabarwionym natenczas stosujemy lusterko płaskie i oświetlacz wysuwamy ku górze prawie tuż pod samo szkiełko przedmiotowe. Za pomocą śruby większej kręcimy rurę na dół lub ku górze dotąd aż wystąpi wyraźny obraz mikroskopowy; jeżeli światło jest zbyt jaskrawe a obraz zatarty należy je zmniejszyć zapomocą odwrócenia lusterka lub nieco opuścić oświetlacz ku

dołowi — w razie przeciwnym postąpić odwrotnie. Im większe powiększenie tem ostrożniej należy pokręcać śrubę i wogóle zapamiętać odległość na oko, a potem opuściwszy jak najniżej kręcić śrubą ostrożnie i powoli ku górze. W razie nieotrzymania obrazu należy opuszczać rurę ku dołowi zapomocą śruby mikrometrycznej trzymając przez ten czas preparat palcami i posuwając go zlekka w jedną i drugą stronę, ażeby wypadkowe zbyt niskie opuszczenie rury natychmiast odczuć w postaci przycisnięcia szkiełka, jakkolwiek nigdy nie należy do tego dopuścić, gdyż obiektyw łatwo może się zepsuć.

Gdy mamy do czynienia z immersją olejną puszczaamy na górną powierzchnię szkiełka pokrywkowego małą kropelkę oleju (którego flaszeczka dodaje się do immersyjnego obiektywu) i zanurzamy w nią koniec obiektywu.

Przytem ze zdwojoną usilnością baczyć należy, ażeby olejek z preparatu nie zmieształ się z olejkiem immersyjnym, gdyż jako rzadszy, często dostaje się do wewnątrz obiektywu i zaciera kontury, lub nawet rozkleja szkiełka. Wtedy niepozostaje nic innego, jak odesłać immersję do właściwego fabrykanta dla naprawy.

Osobliwie trudnem jest oglądanie zapomocą immersji preparatów niebarwionych i ze zdwojoną bacznością uważać wówczas należy ażeby czego nie uszkodzić, co się nawet i wprawmemu przytrafić może.

Dla tego też najlepiej wybrać naprzód miejsce do oglądania przez immersję za pomocą słabego powiększenia, a potem dopiero zastosować silniejsze lub immersyjne.

Wielkie ułatwienie posiadamy w przyrządzie rewolwerowym, który pozwala nam przykręcić 2 lub 3 obiektywy i z łatwością przechodzić od słabszych do silniejszych.

Rzeczą wielkiej wagi przy badaniu mikroskopem jest właściwe użytkowanie światła. Najważniejsze wskazówki w krótkości streścić się dadzą w ten sposób:

1) Przy preparatach niezabarwionych — używać należy lusterka wklęsłego — przy zabarwionych płaskiego.

2) Im drobniejszy preparat, im wyraźniej chcemy widzieć jego zarysy, tem węższy snop światła puszczamy od dołu przez zakładanie coraz węższej dyafragmy, oraz zmniejszamy jego natężenie przez opuszczanie przyrządu oświetlającego ku dołowi.

3) Staramy się spożytkować również oświetlenie ukośne, jeżeli tego zachodzi potrzeba przez ustawienie w sposób skośny dyafragmy.

4) Ustawiamy lusterko tak, aby największe natężenie światła wypadło w środkowej części rury mikroskopowej, co sprawdzamy przez usunięcie okularu i ustawienie części oświetlających (lusterka i kondensora porów. wyżej).

5) Ani przy sztucznem świetle, ani tem bardziej przy słonecznem nie należy zbierać światła zbyt silnego, które razi wzrok i jest wprost nieużytecznem dla mikroskopu (prócz fotografii, o czem poniżej).

6) Przy *badaniu zabarwionych bakteryj* dyafragmy wcale używać nie należy; natomiast przyrząd oświetlający wysuwamy jak najwyżej do osiągnięcia najmocniejszego natężenia białego rozproszonego światła.

Przy sztucznem świetle pożytecznem bywa ustawienie przed lusterkiem na drodze wiązki światła szkła błękitno zabarwionego.

Nowsze mikroskopy Zeiss'a posiadają dyafragmę rozszerzalną dowolnie promienisto (Irisblendung) oraz zamiast rewolweru rodzaj saneczek, osobno przykręcany do każdego obiektywu. Saneczek takich używać można z równą łatwością jak rewolweru przy jednocześnie lepszem ześrodkowaniu światła i pola widzenia.

Powiększenie da się obliczyć z dołączanej zwykle przez optyków tabliczki, przy czem jednak bywają dość duże niedokładności, zależne od każdej z osobna soczewki; to też każdy powinien umieć sprawdzić powiększenie swego mikroskopu sam.

W tym celu używamy szkiełka, na którem znajduje się 1 mil. podzielony na 100 części; patrząc lewem okiem na stolik mikroskopu prawem zaś na podziałkę, zapomocą cyrkla odmierzamy 5, 10, 15 podziałek i przenosimy na leżący na stoliku biały papier.

Po pewnej wprawie jednoczesne patrzenie na stolik i pole mikroskopu o tyle staje się łatwem, że różnice odmierzeń stają się bardzo małe; natenczas za pomocą prostego rachunku obliczamy powiększenie. Jeżeli np. przy wyciągniętej rurze, okularze 2 i № 7 obiektywu 20 podziałek równa się 6,1 centymetra, znaczy to że $0,02 = 6,1$ czyli $2 \text{ c.} = 610 \text{ c.}$ z kądem powiększenie $= \frac{610}{2} = 305$ razy.

Powiększenie obliczyć można również za pomocą okularowego mikrometru, którego podziałka dla każdego obiektywu odpowiada pewnej oznaczonej wielkości. Okularowy mikrometr Krysińskiego ma przewagę nad innymi z tego powodu, że można brać od razu 2 wymiary, oraz że go można nad preparatem dowolnie przesuwac. Okularowy mikrometr Zeiss'a № 6 posiada zaletę łatwości obliczania, gdyż każda podziałka jego jest równą ilości mikromilimetrów ($\mu = 0,001$ mil.) wyrażonej przez odległość ogniskową wypisaną na każdym z obiektywów = 16, 8, 4, 3 i 2.

Dla bakterjologii mierzenie nie ma dotąd bardzo wielkiej wagi, gdyż wielkość bakteryj jak i ich kształt znacznie zależy od warunków życiowych. Dostateczną jest znajomość wielkości względnej i ta najczęściej zastosowanie znajduje.

6. Badanie i utrwalanie bakteryj zapomocą fotografii, opis przyrządu fotograficznego Zeiss'a, oraz wykonanie fotografii mikroskopowej.

Zapomocą rysunku możemy uwydatnić wszystko co zamierzamy, a nawet zrobić to w sposób daleko dokładniejszy, niż pod mikroskopem spostrzegamy. Jednak rysunek zawsze posiadać będzie cechy subiektywizmu; wyrysujemy przedmiot tak jak

go chcemy przedstawić słuchaczowi lub czytelnikowi, uwydatniając jedne szczegóły, zacierając inne i t. d.

Fotografia przedstawia nam preparat tak jak mikroskop — bez sztucznych upiększeń. To też fotografia mikroskopowa nie robi wrażenia takiej precyzji jak rysunek — w istocie jednak jest daleko dokładniejszą.

Ostatni dziesiątek lat posunął bardzo wysoko sztukę fotograficzną w zastosowaniu do bakterjologii. Mamy teraz bardzo dokładne fotograficzne obrazy bakterij wykonane przez Koch'a, Loeffler'a, Roux, Fränkla i Pfeiffera, które pod wieloma względami nieustępują rysunkowi, przewyższają go zaś pod względem ściśłości i przedmiotowości.

Do wykonania fotografii mikroskopowej niezbędne są następujące przyrządy (opiszemy te jakie posiadamy w pracowni naszej nabyte u Zeiss'a).

1) Statywa ciężka mikroskopowa Babuchina II-a ze stolikiem ruchomym obracającym się w około osi oraz ruchem w dwóch kierunkach. Do niej należą podstawka na trzech śrubach, która się podwyższa po przechyleniu pod kątem prostym ku otworowi ciemni optycznej i kondensator achromatyczny, który przykręcamy w miejscu kondensatora Abbego. (Aparat fotograficzny większy posiada statywę osobną).

2) Ciemnia optyczna rozciągana, w postaci miecha, z jedną szybą przezroczystą, drugą matową, oraz najmniej 2 skrzyneczki płaskie (kasetki) do fotograficznych płytek. Ciemnia porusza się w ramach na wzór sanek i może być bliżej lub dalej wysuwana oraz rozciągana.

3) Lustro płaskie do odbijania światła z mikrometrycznymi śrubami i ruchem dwuosiowym.

4) 2 szklane płaskie o równoległych ścianach naczynia do napełniania roztworem kwasu pikrynowego i siarczanu miedzi w celu pochłaniania promieni czerwonych, błękitnych i fioletowych.

5) Statywę do ustawiania dyafragm i płytki szklanej matowej.

6) Lupe do ustawiania obrazu na matówce.

7) Okular fotograficzny achromatyczny № 4.

8) Heliostat do utrzymywania światła w jednym miejscu. Przyrząd ten zapewnia znaczne dogodności, gdyż pozwala na dłuższe działanie słońca w jednej płaszczyźnie.

Jesli mamy zamiar użyć do oświetlania elektrycznego światła, natenczas heliostat staje się niepotrzebnym, natomiast należy posiadać lampę łukową elektryczną z motorem do wytwarzania elektryczności (ręczny kosztuje około 600 marek) oraz system soczewek kondensujących i kamerę wodną do pochłaniania promieni ciepłikowych.

Wszystkie przyrządy z mikroskopem do otrzymywania fotogramów potrzebne kosztują około 2000 marek.

Drobne przyrządy do fotografii są następujące:

2—3 podstawki czworoboczne z masy papierowej do opłukiwania, naczynie z wodą destylowaną, latarka z czerwonym szkłem, czułe fotograficzne płytki (Ilford), papier kolloidionowy (najlepiej Lebedzińskiego), 20% roztwór podsiarkonu sodu, roztwór utrwalający (wiraż rodankowy), roztwór wywołujący, stężony roztwór wodny sublimatu, roztwór amoniaku 20% ¹⁾.

Do fotografii przy świetle słonecznym wybieramy dzień zupełnie pogodny bez obłoków, pokój zwrócony na południe, okno najlepiej otwarte. Ustawiamy statywę z ciemnią wzdłuż stołu oraz łączymy ją ze statywą mikroskopową, przechyloną pod kątem prostym. Lusterko z pod statywy usuwamy, od góry zaś obsadzamy kondensator achromatyczny w miejscu soczewki Abbe'go.

Przed statywą umieszczamy płaskie lustro tak, ażeby heliostat wysyłający pro-

¹⁾ Przyrządy te i chemiczne przetwory do fotografii znajdujemy w Warszawie u p. Karoli'ego.

mienie słoneczne odbijał je w części najbliższej środka i skierowujemy lustro ku otworowi kondensora.

Ustawienie heliostatu zależy od jego budowy, polega zaś na właściwym skompensowaniu ruchu ziemi przez ruch obrotowy szerokiego zwierciadła.

Z przeciwnej strony ciemni zasuwamy teraz szybę z nakreślonym na niej krzyżem—obraz słońca winien się odbić w ten sposób, ażeby się znajdował zupełnie na środku szyby i oświecał jednostajnie krzyż; rozsuwamy kamerę aż do końca zwracając również uwagę na to, ażeby obraz słońca znajdował się na środku—w miarę rozsuwania takowy się powiększa, i równocześnie zacienia.

Teraz odsuwamy kamerę i zakładamy achromatyczny okular oraz umieszczamy preparat pod otworem mikroskopu skierowując światło możliwie ku środkowi, do czego służą 2 śrubki umieszczone z boków achromatycznego kondensora, oraz guziczek, służący do rozszerzania i zwięźniania tęczowej dyafragmy. Po ustawieniu takowego (do czego niepotrzeba pełnego słonecznego światła, wystarcza rozproszone) co się objawia jasnością i wyrazistością zarysów oraz brakiem kłózków i pasemek otaczających każdy zarys, ustawiamy pełne światło słoneczne i jeszcze raz zapomocą szkieł zakopconych przekonywamy się o wyrazistości obrazu. Teraz łączymy statywę mikroskopu z kamerą za pośrednictwem odpowiedniego okrągłego bębna i umieszczamy matową szybę w miejscu przezroczystej. Tutaj otrzymujemy obraz, który powinien być zupełnie wyraźny, inaczej pokręcamy śrubę mikrometryczną dół, aż wyrazistość właściwa wystąpi. Dopomóżdź możemy sobie również oglądając obraz otrzymany na matówce zapomocą lupy i pokręcając śrubę aż do otrzymania potrzebnej wyrazistości.

Matówka przed użyciem powinna być wytarta paroma kropelkami oliwy i nastę-

pnie starannie oczyszczona suchą bibułką lub bibułką fotograficzną jedwabną.

Chcąc otrzymać fotografię przy słabych powiększeniach nie należy używać pełnego słonecznego światła lecz przepuszczać je przez matową szybę umieszczoną w odpowiedniej statywie.

Nie należy oglądać obrazu preparatu oświetlonego mocnym światłem bez użycia szkieł zakopconych lub zabarwionych na kolor ciemno zielony (najlepiej łączyć 2 szkiełka, ciemno zielone z ciemno czerwonym), gdyż wzrok mocno się wysila i następnie niewłaściwie odczuwa oglądany obraz.

Im więcej rozciągamy ciemnię optyczną, tem mocniejsze będzie powiększenie. Dla ujednostajnienia należy obracć parę miejsc na saneczkowej podstawie na których będziemy fotografię otrzymywali i w tych ciemnię umocować po wyciągnięciu. Również należy otrzymać fotograficzne zdjęcia podziałki mikrometrycznej tym miejscem odpowiadające, poczem łatwo już powiększenie obliczyć z porównania możemy.

Po wykonaniu tych czynności oglądamy raz jeszcze czy pełne światło znajduje się w osi widzenia (preparat bakteryalny zostaje pod immersją) i rzucamy je jeszcze raz obraz na matówkę. Teraz wysuwamy powoli matówkę, na jej zaś miejsce zasuwamy skrzyneczkę z umieszczoną w niej czułą płytką żelatynobromową; zasłaniamy światło od strony kondensora, odsuwamy ostrożnie zasłonę, następnie odsłaniamy światło, które działa przez 5 — 10 — 15 sekund na płytkę, poczem ponownie je zasłaniamy i zasuwamy zasłonę skrzyneczki odkładając takową na bok, poczem robimy jeszcze jedno lub dwa zdjęcia. Zasłanianie i odsłanianie światła podczas wysuwania zasłony przedniej odbywa się dla tego, ażeby światło nie działało podczas drgania płytki, które z konieczności podczas wysuwania deseczki nastąpić musi.

Wystawienie na działanie światła od 1—2 sekund wystarcza, gdy mamy preparat bezbarwny lub zabarwiony brunatno, wtedy bowiem fotografujemy bez użycia płynów zabarwionych. Inaczej rzecz się ma jeżeli preparat zostaje zabarwiony na czerwono, fioletowo lub błękitno. Barwy te są dla chemicznych promieni mniej lub więcej przezroczyste, skutkiem czego preparat słabo lub wcale nie występuje i całe tło negatywy zabarwia się jednostajnie ciemno. Dla uniknięcia tej niedogodności używamy dwóch szklanych o równoległych ściankach naczyń, z których jedno wypełniamy stężonym roztworem kwasu pikrynowego a drugie takimże roztworem siarczanu miedzi. Światło przepuszczone przez te barwniki jest jasnozielone, preparaty zabarwione na czerwono przedstawiają się w kolorze brunatnym, na błękitno w kolorze szarozielonym, na fioletowo w ciemnoszarym.

W razie ustawienia na drodze światła takich roztworów, znaczna ilość promieni chemicznych zostaje zatrzymana, tak iż do otrzymania obrazu potrzeba 5 — 7 sekund.

Nie wchodzimy w bliższe szczegóły całej procedury, jest ona wymienioną w specjalnej pracy D-rów Pfeiffera i Fraenkla która wkrótce prasę opuści. Znajdą się tam również bardziej szczegółowe wskazówki otrzymywania płytek, reprodukcji i kopii, które poniżej w krótkości tylko wyłuszczyliśmy.

Płytki żelatynobromowe (powleczone bromkiem srebra w żelatynie) obecnie używane w fotografii są bardzo czułe i dla tego należy je wyjmować z opakowania w pokoiku absolutnie ciemnym, bez okien, ażeby światło nie mogło się przedostawać najdrobniejszą szparą. Płytki są mało wrażliwe tylko na czerwone światło i dlatego przy otwieraniu pudełka i przekładaniu do fotograficznych skrzynek dokonywamy tego przy świetle czerwonej latarki. W tym celu płytkę wyjmujemy i szybko

umieszczamy zwracając stronę spreparowaną ku dołowi t. j. ku tej stronie skrzyńeczki, gdzie się mieści zasłona wysuwana podczas zdjęcia. Szybko zamknąwszy skrzyńeczkę trzymamy ją w ciemnym pokoju lub szufladzie, ażeby najmniejszy promień światła nie mógł podziałać na bromowożelatynową warstwę.

Po usunięciu skrzyńeczki na miejsce matówki w tylnym końcu ciemni optycznej i otrzymaniu zdjęcia przenosimy skrzyńeczkę zamkniętą do ciemnego pokoju oświetlonego słabym światłem czerwonej latarki i rozpoczynamy wywołanie obrazu. Światło bowiem oddziaływa na bromek srebra w ten sposób, że działanie to na oko nie jest widocznym i występuje dopiero po t. zw. wywołaniu, celem którego jest powiększyć redukcję przez światło spowodowaną w sposób dla oka dostrzegalny.

W tym celu używa się roztwór siarczanu żelaza lub kwasu pyrogallusowego, które mają zdolność dalszego redukowania srebra w miejscach gdzie równowaga chemiczna cząsteczek przez światło naruszona została. Najlepsze wyniki w tym względzie oddał mi wywoływacz, składający się z dwóch płynów w skład których wchodzi roztwór kwasu pyrogallusowego i sody (używany zwykle przez fotografów). Przed użyciem płyn № 1 mieszamy w równej objętości z płynem № 2 i wlewamy do płaskiej podstawki w ilości mogącej pokryć jednostajnie całą jej powierzchnię.

Wyjąwszy płytkę umieszczamy ją szybko do naczynia z pomienioną mieszaniną i przechylamy w tę i ową stronę, ażeby spreparowana powierzchnia płytki jednostajnie została pokryta, poczem przez parę minut poruszamy płyn przechylając w różne strony podstawkę, ażeby redukcja srebra wystąpiła możliwie jednostajnie. Zwykle już w ciągu 1—2 minut zwracając płytkę ku latarce dostrzegamy czarne pole działania światła i jasne na nim kreski, odbicie ba-

kteryj. Przez czas wywoływania płytkę należy o ile możności nie wystawiać na działanie nawet czerwonego światła, tylko parę razy rzucić okiem na stopień redukcji, ażeby uniknąć zbyt silnej. Gdy wyraźne cienie wystąpiły wyjmujemy płytkę i kilkakrotnie obmywamy ją wodą destylowaną, starając się zmyć ślady płynu redukującego, poczem nalewamy na płytkę 20% roztwór podsiarkonu sodu (t. zw. natron), który ma własność rozpuszczania nierozłożonego bromku srebra. Przechylając w ciągu 5—10 minut podstawkę w tę i ową stronę, spostrzegamy, że płytka z mętnej staje się przezroczystą; gdy znikną zupełnie białawe placie nierozpuszczonego bromku srebra, natenczas opłukujemy płytkę wodą w ciągu paru minut i następnie puszczaemy strumień wody zwykłej rzecznej miękkiej dla zmycia reszty pozostałych w żelatynie soli. To ostatnie możemy robić w oświetleniu zwykłym.

Na świetle spostrzegamy w razie udanego zdjęcia wyraźnie jasno zarysowane bakterye wpośród ciemnego tła, otrzymaliśmy bowiem negatywę. Jeżeli płytka jest zbyt mocną wskazuje to na zbyt długie działanie światła, lub zbyt daleko posuniętą redukcję; jeżeli żółknie—płyn redukujący nie został dostatecznie odmyty przed umieszczeniem płytki w podsiarkonie sodu lub tenże nie został wydalony. Wprawa nauczy nas najlepiej czego się w danym razie trzymać należy i jakie postępowanie jest najwłaściwszem. Gdy płytka jest zbyt ciemną najlepiej jest zdjęcie powtórzyć, to samo gdy jest zbyt słabą. Gdy jest nieco za słabą, natenczas można ją wzmocnić, co się robi w następujący sposób. Płytkę zlewamy stężonym wodnym roztworem sublimatu (5 grm. sublimatu na 100 wody, nierozpuszczony sublimat pozostaje na dnie naczynia) i trzymamy dotąd aż zupełnie zbieleje. Teraz opłukujemy płytkę starannie w silnym strumieniu wody do wypłukania śladów sublimatu i nalewamy 20% roztwór amoniaku. Płytką czernieje

ponownie i staje się znacznie ciemniejszą niż była poprzednio.

Po wywołaniu i, jeżeli potrzeba, wzmocnieniu, płytkę suszymy w miejscu wolnem od kurzu stawiając ją ukośnie.

Gdy płytka całkowicie wyschnie, może być użytą do otrzymania pozytywy na innej płytce lub na papierze. W celu otrzymania pozytywy na szklanej czulej płytce podkłada się takową na odpowiednio urządzonej podstawce szklanej naklejonej czarnem suknem; powierzchnia spreparowana zwraca się ku górze i na niej umieszcza się otrzymaną negatywę, tak, iżby obie powierzchnie spreparowane weszły w jak najbliższe zetknięcie, do ułatwienia czego, jak również i do unieruchomienia płytek służy czworo drewnianych szczypczyków, które się po 4 bokach umieszcza. Po wykonaniu w ciemności wszystkich wskazanych operacyj (można je wykonać bez zapalania czerwonej latarki; spreparowaną powierzchnię łatwo poznać pocierając rożek płytki paznokciem) wystawiamy płytkę na działanie światła słonecznego (rozproszonego) lub sztucznego, płomienia świecy lub gazu, na $\frac{1}{2}$ —1 sekundy, poczem przenosimy płytkę do ciemności i wywołujemy jak wyżej. Obecnie otrzymamy pozytywę, t. j. bakterye ciemne na tle jasnym.

Chcąc otrzymać odbicie na papierze (za najlepszy uważam papier Lebedzińskiego), odcinamy kawałki tegoż 5—6 centr. długości i szerokości, odpowiednio do wielkości wyraźnej części obrazu na negatywie otrzymanego, umieszczamy na wyżej wymienionych ramkach i przyciskamy szczypczykami. Jedne ramki służą do dwóch odbić równocześnie. Po umocowaniu i możliwie dokładnem przyciśnięciu płytki do papieru (spreparowane powierzchnie zwrócone ku sobie) wystawiamy całość na działanie rozproszonych promieni słonecznych, najlepiej na otwartem powietrzu; zależnie od napięcia płytki i ilości światła otrzymujemy na papierze w ciągu $\frac{1}{2}$ —1—2 godzin odbicie bakteryj. Dla kontroli w celu prze-

konania się o natężeniu kopii należy uchylić nieco brzeg ramki, która w tym celu posiada dwie połówki. Gdy bakterye zostały ciemnobrunatno zabarwione wyjmujemy papierowe kopie i składamy do ciemnego pudełka, aż się zbierze dostateczna ilość kopij do ich utrwalenia.

Ponieważ papier używany do kopiowania nie jest tak czułym jak płytki, wszystkie wskazane czynności robimy szybko przy zwykłym dziennym świetle lub lekkim zaciemnieniu zapomocą rolety.

Gdy się zbierze dostateczna ilość kopij należy przystąpić do ich wzmocnienia i utrwalenia. W tym celu kładziemy nowe kopie na kilka minut do wody destylowanej, zwracając powierzchnię spreparowaną ku dołowi, poruszamy je w tę i ową stronę i kładziemy w podobny sposób do roztworu chlorku złota (roztwór wzmacniający, rodankowy wiraż), który również gotowy otrzymać można. W tym roztworze odbitki zmieniają odcień przybierając z początku żółtawy, następnie coraz bardziej ciemnofioletowy, co ma miejsce po 10—20 minutach. Gdy roztwór działa zbyt wolno, należy dodać doń 1—2 krople 1% roztworu chlorku złota. Przez czas wzmocniania odbitki winny być pokryte i od czasu do czasu przewracane w płynie.

Gdy otrzymamy żądany stopień zaciem-

nienia, opłukujemy odbitki w wodzie i umieszczamy na kilka minut do roztworu 5% podsiarkonu sodu, w celu wydalenia nierozłożonych związków srebra.

Po upływie 10 minut przekładamy odbitki kilkakrotnie do wody, w której trzymamy je, zmieniając wodę, przez 1—2 godziny. Po upływie tego czasu odbitki zdane są do naklejenia za pomocą introligatorskiego klajstru na gruby papier, co najlepiej wykonywać gdy są jeszcze wilgotne.

W ten sposób postaraliśmy się w krótkości rozpatrzyć najprostszy sposób otrzymania fotografii. Dokładniejszych wskazówek dostarczą podręczniki specjalne a najwięcej zrobi pod tym względem wprawa, którą nabyć można bez wielkiego trudu. Wszystkie pomienione czynności wyszczególniliśmy tak, jak je wykonywamy w naszej pracowni, przyczem wyniki otrzymujemy dosyć pomyślne.

Fotografija może oddać wielkie przysługi w badaniu drobnoustrojów. Już obecnie wiadomo, że migawki niektórych bakteryj stają się widzialne tylko na fotogramie, gdyż bromek srebra lepiej ich obecność odczuwa niż siatkówka oka. Być może, że niektóre pasorzyty obecnie niewidzialne, jak np. pasorzyty wścieklizny, właśnie na tej drodze zostaną spostrzeżone. Czas rozwiąże nam zapewne wiele z tych zagadek.

III.

H o d o w a n i e b a k t e r y j.

I. Uwagi ogólne. Cel hodowania. Hodowle rozdzielne (fractionirte) Pasteur'a i Klebs'a. Hodowle na podłożach stałych i ich przewaga nad hodowlami w płynach. Płyny hodowlane.

Badanie mikroskopowe z różnych względów nie mogło stać się jedynym i najpewniejszym sposobem badania drobnoustrojów. W części historycznej poznaliśmy, że błędy, jakie w różnych czasach przez różnych badaczy zostały popełnione, w znacznej części zależały od zbyt jednostronnego traktowania tej części przedmiotu. Cechy morfologiczne pod mikroskopem dostrzegalne wyrokowały o gatunku, własnościach biologicznych, chorobotwórczości i t. p. gdy tymczasem, jak dalsze badania dowiodły, podstawy, na których te badania oparto, były zbyt chwiejne.

Celem hodowania jest otrzymanie danego drobnoustroju w postaci hodowli czystej, w której się znajduje tylko jeden rodzaj nas bliżej obchodzący; hodowla taka służy do otrzymania preparatów mikroskopowych z jednej strony, z drugiej zaś do wykonania doświadczeń biologicznych i patologicznych na zwierzętach: całość cech morfologicznych i biologicznych w ten sposób otrzymana wyrokuje o własnościach i służy do wyrowadzania wniosków.

Oddawna starano się otrzymać hodowle drobnoustrojów, dopiero jednak zastosowanie sposobów rozdzielania i otrzymywania wspomnianych wyżej czystych hodowli pozwoliło na otrzymanie tych wyników, jakich w nowszych badaniach mamy przykład.

Jak już wiemy z poprzedniego, Pasteur

pierwszy zastosował metodę hodowli do otrzymania różnych fermentów w stanie czystym. Otrzymywał on je w sposób, jakim do ostatnich czasów posługiwała się szkoła francuska. Polega ona na wzięciu drobnej cząstki danego fermentu, zmieszania go z płynem odpowiedniego składu zupełnie przezroczystym, przeniesienia cząstki mieszaniny do nowej ilości płynu, tej zaś do następnej i t. d. aż do otrzymania mieszaniny, która pomimo zmieszania z płynem ferment zawierającym pozostanie po pewnym czasie nie zmąconą, co dowodzi, że ilość fermentu była tak drobną, iż w poprzedniej mieszaninie pozostała nie więcej jak jedna tylko komórka zdolna do rozmnożenia.

Zasada jak widzimy jest słuszną tylko do pewnego stopnia. Nie znając bowiem ilości drobnoustrojów w danej objętości nawet w przybliżeniu nie możemy oznaczyć kiedy osiągniemy takie rozrzedzenie płynu, gdzie się znajdzie jedna tylko żywa komórka; wobec zresztą niemożności dokładnego rozmieszania masy płynu najłatwiej otrzymamy taką mieszaninę, w której będzie kilka lub kilkanaście komórek, lub też ich wcale nie będzie.

Pomimo ogromnych technicznych trudności, jakie metoda ta w zastosowaniu do otrzymania czystych hodowli przedstawia, Pasteur i jego szkoła oraz Ferd. Cohn posiłkując się tym właśnie sposobem, wykonali wszystkie swoje znanej ścisłości prace. Wskazuje to dowodnie, że nieszczęśliwa nawet metoda staje się dobrą w rękach wytrawnego badacza.

Klebs zastosował metodę podobną, którą nazwał rozdzielną (fractionirte Cultur) do

wyosobnienia drobnoustrojów chorobotwórczych. Oto sposób w jaki wykonywał on swoje poszukiwania.

Na dno naczynia z płynem zawierającym bakterye, zanurzał on włosowatą wyjąłowaną rurkę i ułamywał jej koniec w samym płynie; wyjęta rurka znów była zatopiona, po obmyciu mocnym wyskokiem zanurzona do wyjąłowanego płynu, tam koniec ułamany i kropelka płynu w rurce zawarta zmieszana z całą objętością płynu, w którym została zanurzona. Powtarzając to postępowanie w zasadzie zupełnie do metody przez Pasteura zastowanej zbliżone, można w końcu otrzymać płyn, w którym nie będą istnieć zanieczyszczenia pozostaną tylko drobnoustroje przeważające w postaci czystej hodowli.

W postępowaniu tem widnieje jednak ten zasadniczy błąd, że zamiast pasożyta chorobotwórczego wyhodować możemy inny zupełnie różny, będący z początku domieszką w ilości nieznacznej, następnie zaś rozmnożony silniej od badanego skutkiem większego powinowactwa do gleby, na której oba wyrastają.

To też Klebs na tej drodze pomimo wykonania licznych doświadczeń niedoszedł do wyników zadawalniających, natomiast popełnił wiele błędów przyjmując za bakterye chorobotwórcze inne niewinne domieszki.

Nowa epoka badań na hodowlami drobnoustrojów chorobotwórczych rozpoczyna się dopiero od wprowadzenia przez Roberta Koch'a gleby stałej jako najodpowiedniejszego podłoża. Odtąd płyny odżywcze ustępują na dalszy plan i służą za środek pomocniczy przy badaniach nad własnościami pasorzytów.

Przyczyna, dla której hodowla na podłożu stałym opanowała inne metody hodowania polega na bardzo prostej zasadzie. W płynie drobnoustroje są tak zmieszane, iż oddzielić ich w żaden sposób nie można; jeżeli natomiast drobną kropelkę płynu zawierającą nieznaczną ilość bakteryj rozpostrze-

my na powierzchni odżywczej stałej każda zdolna do rozwoju bakterya pocnie się rozrastać w miejscu, na którym umieszczona została, aż dojdzie w końcu do wielkości gołym okiem łatwo dostrzegalnej kolonii. Teraz odosobnienie różnych gatunków umieszczonych obok siebie w postaci kolonij nieraz dosięgających 1 i więcej milimetra średnicy pozwala na dowolne zbadanie każdej z nich i wypróbowanie własności każdej kolonii oddzielnie przez dalsze hodowanie, badanie mikroskopowe i zaszczepienie próbne. Wszystko to nie przedstawia żadnej trudności w obec różnicy kolonij w wyglądzie zewnętrznym, jaki oko nieuzbrojone dokładnie spostrzeża.

Jakieśmy wyżej nadmienili, Pasteur wprowadził hodowanie w płynach jako sposób rozpoznania różnych fermentów. W tym celu starał się on używać do hodowli płyny, których skład był możliwie zbliżony do gleby, w jakiej fermenty normalnie się rozmnażały, oraz których skład chemiczny odpowiadał składowi samych fermentów: znaną bowiem jest rzeczą, że ze zmianą składu gleby zmienia się rodzaj pasożytów na niej wyrastać mogących.

Najdawniejszym z płynów jest płyn odżywczy Pasteur'a składający się z 1 grm. winianu ammonu 10 grm. cukru i popiołu powstałego ze spalania 1 grm. drożdży na 100 grm. wody. Zamiast popiołu z drożdży można użyć odpowiednich soli, jak to zrobili Mayer i Cohn; ten ostatni odrzucił cukier jako niepotrzebny dla bakteryj i podał następujący przepis „normalnego płynu dla bakteryj.“

Fosforanu potasu . . .	0,5
Fosforanu magnezyi . . .	0,5
Trójfosforanu wapna . . .	0,05
Winianu ammonu . . .	1,0
Wody	100

Inni badacze podawali różne inne płyny odżywcze zawierające różne związki azotowe i bezazotowe. Wszystkie te płyny normalnie nie są jednak wcale przydatne dla wszystkich rodzajów bakteryj, znaczna zaś ilość

gatunków wcale się w nich nie hoduje. To też hodując bakterie w płynach należy przede wszystkim wybrać taki, który do hodowli danego drobnoustroju najbardziej się nadaje, i w którym tenże hoduje się w stanie natury. Należy w tym razie pójść drogą obraną przez Pasteur'a, który hodował każdy ferment w ośrodku jemu właściwym i naturalnym: drożdże w brzeczce piwnej, ferment mleczny w mleku i t. p. oczywiście po należytem wyjałowieniu wszystkich tych płynów. W tym celu stosownie do rodzaju tworzywa, jaki mamy zamiar hodować używamy: do pleśni płynów z konserw owocowych, soków i t. p. o słabo kwaśnym odczynie; do drożdży płynów cukrowych słabo alkalicznych lub obojętnych; do bakterij wrzeczki płynów zawierających azot w postaci białka, peptonu, mięsnego wyciągu (bulion). Do hodowania bakterij najlepiej służy słabo zalkalizowany bulion z mięsa z dodatkiem lub bez peptonu i nieco soli.

W takiego rodzaju płynach można hodować prawie wszystkie dotąd znane pasożytnicze i chorobotwórcze bakterie.

Następne płyny odżywcze mogą służyć do hodowania bakterij.

1. Bulion odżywczy Loeffler'a używany również w pracowni Koch'a; uważać go można za najodpowiedniejszy. Przyrządza się w sposób następujący: funt chudego wołowego mięsa skrobie się na deseczce za pomocą noża lub sieka za pomocą maszynki na drobną miazgę i nalewa litrem wody destylowanej (w mojej pracowni używam z równym skutkiem wody wiślanej), poczem po rozmieszaniu stawia się całą masę do lodowni na przeciąg jednej doby, po upływie której za pomocą prasy lub ręką przez worek z grubego płótna odciska się płyn i dopełnia wodą do litra, dodaje 10 grm. suchego peptonu, 5 grm. soli kuchennej i 30—40 cmtr. 5% roztworu sody do wyraźnie alkalicznego odczynu. Cały ten płyn umieszczony w 2 litrowej kolbie poddaje się gotowaniu w parowym przyrządzie w ciągu $\frac{3}{4}$ —1 go-

dziny i następnie przesącza przez karbowany sączek z szwedzkiej bibuły. Zwykle pierwsza ilość płynu nie jest zupełnie klarowną i dla tego należy filtrowanie przez tenże sączek kilkakrotnie powtórzyć wlewając przesącz 4—5 razy napowrót do sączka. Następnie filtrowany płyn jest zwykle zupełnie przezroczysty, słabo żółtej barwy, przyjemnego aromatycznego zapachu i nawet po dłuższym czasie stania nie wydziela osadu.

W razie, gdy bulion taki filtruje się wciąż niedość klarownym należy go zlać do kolby i dodać białko jaja rozmacone w 50 ctm. wody poczem umieścić w strumieniu pary przy 100 C° na 20 minut. Bulion w ten sposób sklarowany filtruje się zupełnie czysto.

Po zlanu do probówek, kolbek mniejszych lub większych zatkanych watą bulion taki należy wyjałowić, poczem może być przez czas długi bez zepsucia przechowany.

2. Zamiast bulionu przygotowanego z mięsa można zrobić bulion z wyciągu mięsnego Liebig'a lub t. zw. Cibils, który od ekstraktu mięsnego Liebig'a nie różni się widocznie. Natenczas bierzemy 5—10 grmów takiego ekstraktu dodając peptonu, soli i sody w ilościach wymienionych poprzednio.

3. We Francji w największym użyciu jest bulion zrobiony z funta drobno usiekanej cielęciny na litr wody. Mięszanina gotuje się w ciągu godziny, alkalizuje za pomocą sody poczem dodaje się 5 grm. soli kuchennej, filtruje i wyjaławia w kotle Papin'a przy 110° C w kolbach zatopionych. Do hodowli bakterij Pasteur używa tego gatunku mięsa z jakiego gatunku zwierząt dane chorobotwórcze bakterie pochodzą i na którym najlepiej się rozwijają.

4. Mleko może również służyć za glebę dla bakterij bardzo odpowiednią. Niewygodną okolicznością jest tylko nieprzezroczystość mleka, która nie dopuszcza obserwowania zmian gołym okiem dostrzeganych, co w bulionie miejsca nie ma.

Jakkolwiek wygląd hodowli bakteryjalnej

zmienia się ze zmianą gleby, to wszakże nigdy nie dochodzi do przemian, jakie dawni autorowie przypuszczali. Każdy gatunek posiada sobie właściwy wygląd, który gołym okiem da się nieraz równie dobrze ocenić jak za pomocą mikroskopu: bacillus subtilis rośnie formując mocną elastyczną powłokę; bakterye karbunkułowe tworzą kłaczkę opadające na dno; bakterye róży formują lekki zaledwo dostrzegalny męt i osad; bakterye cholery cienką ale dość mocną powłokę, podobną nieco do tej, jaką tworzy b. subtilis; podobne zaś do nich bakterye Finkler'-Priora tworzą silny męt.

Nawet odmiany biologiczne jednego gatunku w hodowlach wykazują wyraźne różnice. Wiadomo np. że bakterye karbunkułowe można osłabić hodując je w ciepłocie 42°C; zależnie od ilości czasu hodowla staje się słabszą lub zostaje silniejszą przyczem otrzymujemy szczepionki pierwszą i drugą zwane (premier i deuxième vaccin charbonneux), które znajdują zastosowanie w szczepieniach ochronnych przeciw karbunkułowi. Otóż zwykłe silne bakterye karbunkułowe rosną w postaci lekkich szarawych kłaczek; pierwsza szczepionka w postaci bardzo drobnych kłaczek w mętym płynie, zaś druga szczepionka w postaci ciężkich białych kłaczkiowatych grudek. Różnice pomienione są tak widoczne, że wprawne oko odrazu rozpozna z czem ma do czynienia.

W hodowlach bakteryj w mleku różnice również są widoczne. Najczęściej otrzymujemy ścinanie się mleka: tak działają ferment kwaśnienia (ferment lactique), bakterye ropne (staphylococcus i streptococcus), niektóre bakterye gnilne, oraz znajdowane w powietrzu i w wodzie. Inne znów zmieniają sernik w lepka śluzową masę, przyczem mleko staje się gęstem, przezroczystem i nabiera silnie alkalicznego odczynu (B. błękitne i pewne rodzaje Cladothrix).

Blizsze studia nad temi zmianami gleby wykażą zapewne wiele ciekawych rzeczy

i wyjaśnią wiele ciemnych kwestyj co do stopnia pokrewieństwa różnych gatunków.

Wszystkie wymienione płyny przed zachowaniem na czas dłuższy muszą być wyjałowione, inaczej ulegają zepsuciu, co się poznaje po części z wymienionych już oznak (zmętnienie bulionu, zcięcie się mleka), po części staje się widocznem dopiero po zbadaniu za pomocą mikroskopu.

2. Wyjaławianie czyli sterylizacja. Przyrządy używane do wyjaławiania: Koch'a i Pasteur'a. Zasady wyjaławiania i jego wykonanie, filtrowanie przez ciała porowate: filtr Chamberland'a. Wyjaławianie i dezynfekcja naczyń i przyrządów.

Wyjaławianie czyli sterylizacja jest postępowaniem o tyle ważnem że musimy je tutaj obszernie omówić.

Wyjaławianie płynów polega na zastosowaniu gorąca w stopniu zabójczo działającym na drobnoustroje.

Krótki rys historii wyjaławiania podaliśmy powyżej (p. o samorodztwie) obecnie wyluszczymy sposoby postępowania nie wchodząc w szczegóły mniej zuane a nieużyteczne.

Przedewszystkiem podnieść należy fakt zauważony przez Spallanzani'ego, iż niektóre płyny zawierające drobnoustroje nie zostają wyjałowione nawet przy ciepłocie 100°C. Fakt ten łatwo dał się wytłomaczyć z chwilą poznania zarodników, które są bardzo odporne na działanie wysokiej ciepłoty.

Wyjaławianie odbywać się może przeto przy ciepłocie wyższej i niższej od 100°C, oraz przy ciśnieniu zwykłym lub podwyższonem.

Przyrząd obecnie w powszechnem prawie użyciu będący, działanie którego polega na otrzymaniu strumienia pary wodnej przy ciepłocie 100°C jest to przyrząd parowy czyli parowar Koch'a. Składa się on z podłużnego cylindra mającego pół metra wysokości i nieco więcej niż ćwierć metra średnicy, u dołu opatrzonego rozszerzeniem, po nad którym we-

wnętrz znajduje się krata z dość grubych prętów drucianych. Cylinder posiada u dołu rurkę wskazującą wysokość wody na dnie jego się znajdującej i wspiera się na szerokim uciętym stożku z grubej blachy żelaznej, który służy jako przestrzeń, gdzie się umieszcza płomień lampki gazowej. U góry cylinder posiada pokrywę z otworkiem do wstawiania termometru; cały cylinder i pokrywa obłożone są grubą pilśnią dla zmniejszenia utraty ciepła. W potrzebie cylinder może być podwyższony do wysokości metra za pomocą odpowiedniej zapkowej nadstawy.

Parowar Pasteur'a oparty na zasadach kociołka Papin'a gdzie można ciepłotę podnieść wyżej 100°C skutkiem możności otrzymania wyższego ciśnienia przedstawia się w postaci znacznie węższego i niższego cylindra niż parowar Koch'a. Przyrząd ów jest opatrzony klapą bezpieczeństwa i siłomierzem wskazującym natężenie pary oraz odpowiadającą danemu ciśnieniu ciepłotę.

Każdy z powyższych przyrządów wystarcza do wyjałowienia; parowar Koch'a ma tę wyższość, że wymaga mniej ciepła, oraz pozwala wyjaławiać długie nawet i wysokie przyrządy szklane, np. rurę Hesse'go do badania powietrza.

Przystępujemy teraz do wyluszczenia zasad i sposobów wyjaławiania oraz samego wykonania tej operacji. Wiadomo, że bakterye zostają zabite już przy ciepłocie 58°C ., gdy tymczasem zarodniki tychże bakteryj wytrzymują $100 - 140^{\circ}\text{C}$ ciepłoty suchej oraz 100°C ciepłoty wilgotnej. Zabija je w większości przypadków dopiero dłuższe działanie strumienia pary wodnej o ciepłocie 100°C . Jeżeli więc do płynu zawierającego bakterye z zarodnikami zastosujemy ciepłotę 100°C przez czas krótki to nie będzie on jeszcze wyjałowionym. Jakaśmy się przekonali najlepszym sposobem jest zmieniona nieco metoda Tyndall'a peryodycznego ogrzewania, które odbywamy w ten sposób: płyn mają-

cy być wyjałowionym ogrzewamy w ciągu 5 — 10 minut w ciepłocie 100°C , po 6 godzinach powtarzamy takie ogrzewanie, po następnych 6 lub 12 robimy to po raz trzeci. W ten sposób przygotowane płyny będąc ogrzewane w probówkach lub małych kolbkach zostają całkowicie wyjałowione. Płyny w większych naczyniach zawarte wymagają za każdym razem nieco dłuższego czasu wynoszącego 10—15 minut. Działanie peryodycznego ogrzewania polega na tem, że za pierwszym ogrzaniem zostają zabite bakterye, zarodniki zaś nie zostają naruszone; za drugim ogrzaniem zarodniki, które wyrosły w bakterye i nie miały dość czasu na wytworzenie nowych zarodników zostają zabite, za trzecim zaś razem zostają zabite te zarodniki, które pomimo krótkości czasu zdołały się już wytworzyć. W ten więc sposób płyn zostaje wyjałowiony za pomocą krótkotrwałego ogrzewania bez powiększonego ciśnienia. Ten sam skutek osiągamy zagotowując płyn mający być wyjałowionym w kociołku Pasteur'a, do ciepłoty 110° przy wyższem ciśnieniu w ciągu 5 — 10 minut.

Mleko wyjaławiane przez czas zbyt długi staje się brunatnem i traci smak właściwy. Inne ciała jak galareta, ogrzane przy podwyższonem ciśnieniu tracą zdolność krzepnięcia, ale o tem poniżej.

Wyjaławianie w ten sposób wykonane ma te dogodności, że nie wymaga uprzedniego wyjałowienia naczyń, które jednocześnie z płynem ulegają wyjałowieniu.

Płyn mający być wyjałowionym wlewamy do probówek lub kolbek bardzo czysto wymytych za pomocą szczoteczki i wody gorącej, oraz po wysuszeniu zatkane kłębkami waty zwyczajnej. Wata chroni płyn od przedostania się doń zarodników z powietrza, jakkolwiek samo powietrze w naczyniu stale i powoli ulega odświeżaniu. Kłębek z waty powinien być niezbyt duży i niezbyt twardy oraz nieco wystawać nad powierzchnią dla zabezpieczenia brzegów probówek i kolbek

od mogącego osiadać na nich kurzu. Dla tego to do bakteriologicznych prac najodpowiedniejsze są próbki bez odgiętych brzegów równo zakończone jakich używa pracownia Pasteur'a. Wata hygroskopowa nie powinna być używaną gdyż łatwo wilgotnieje i trudno wysycha; najlepszą jest zwyczajna wata nieklejona.

Nie należy sterylizować płynu w dużych kolbach — nie więcej jak 50 C. sześ. w każdej, z wyjątkiem wypadków, gdzie trzeba działać z większymi ilościami; większe objętości płynu trudniej się wyjaławiają w razie zaś zepsucia większa następuje szkoda.

Kolbki do przechowania płynów używane są to kolbki Erlenmeyera mieszczące 75 C. sześ. Zwykle kuliste nie są odpowiednie, z powodu długości szyjki i skutkiem tego trudniejszego wprowadzania drobnych ilości bakterij na platynowym druciku.

Kolbki Pasteur'a o wyglądzie piknometru lub kolbki z długą szyją i końcem do zatapiania obecnie zupełnie z użycia wyszły; zresztą zupełnie są one niepotrzebne podobnie jak pipetki, lejki i t. p. złożone szklane drobiazgi używane dawniej dla ochrony płynów podczas przelewania z jednych naczyń do drugich. Teraz mamy sposób daleko prostszy polegający na wysterylizowaniu płynu działaniem gorącej pary.

Samo ogrzewanie w parze odbywa się w ten sposób. Próbkówki 16 cmtr. długości 15 mil. szerokości mające wypełniamy płynem odżywczym do $\frac{1}{3}$ objętości i zatkałe zwyczajną watą umieszczamy w druczanych skrzyneczkach na stojąco. Skrzyneczka taka mieścić winna do 25 sztuk próbek. Kolbki nalewamy do $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ objętości i po takimże zatankowaniu watą ustawiamy obok próbek stojących w skrzyneczkach w rodzaju kociołka z cienkiej blachy jaki znajduje się przy parowarze Koch'a. Wody do aparatu wlewamy tyle, ile jej potrzeba do pokrycia dna warstwą 2—3 centyme-

trów grubości t. j. około 2 litrów. Większa ilość wody jakkolwiek przy dłuższej trwających pracach jest pożądaną, to jednak nie jest konieczną przy zwykłych sterylizacjach nie wielkich ilości płynów. Gdy para zaczyna się wydobywać dość mocnymi strumieniami przez górne szpary przyrządu natenczas zmniejszamy płomień gazowy i w osiągniętej teraz ciepłocie 100 C° trzymamy przez 10 minut próbki, przez 15 minut kolbki, przez 20 — 30 i więcej minut większe naczynia. Po tym czasie gasimy płomień, otwieramy pokrywę ostrożnie mając rękę owiniętą ręcznikiem i wyjmujemy silnie ogrzane naczynia.

Takie postępowanie powtarzamy po 6 godzinach po raz drugi i po następnych 6-u lub 12-tu po raz trzeci. Wszystkie płyny zostają w ten sposób dokładnie wyjałowione i mogą być przechowywane przez nieograniczenie długi przeciąg czasu bez zmiany.

W kociołku Pasteur'a możemy otrzymać jak już wiemy ciepłotę znacznie wyższą, wynoszącą od 115—120 C°, która oddziaływa zabójczo nawet na zarodniki bakterij w daleko krótszym przeciągu czasu. To też chcąc za pomocą tego przyrządu, wyjałowić płyn dość jest poddać go jednorazowemu ogrzaniu przy powyższej ciepłocie w ciągu 10—20 minut. Ogrzanie w ten sposób wykonane wystarcza do szybkiego zjałowienia znacznych nawet ilości płynu.

Uprzednie wyjałowienie ani naczyń ani waty zatykającej ich szyjki nie jest potrzebnem. Dawniej stosowano je, obecnie jednak przekonaliśmy się że jest on zupełnie zbytecznym, gdyż zjałowienie naczyń odbywa się równocześnie z wyjałowieniem płynów w nich zawartych. Oddawna też posiłkujemy się powyższym sposobem z najlepszymi wynikami.

Wyjaławianie płynów bez użycia gorąca odbywa się za pośrednictwem filtrowania ich przez materje porowate. Mysł podał pierwszy Tiegel w r. 1871, jakkolwiek już Helmholtz zauważył, że fermentacja nie

przechodzi na drugą stronę błony rozdzielającej rozczyń cukru Pasteur zbudował cylinder z glinki, którego dolna część mocno przystawała do szklanego naczynia posiadającego dwie boczne rurki. Cały przyrząd poddawano wyjałowieniu i następnie do glinianego cylindra nalewano płyn mający być przesączonym, boczne zaś rurki łączono z pompką ssącą. Płyn pod ciśnieniem przechodził przez dziurkowaną glinę będąc pozbawionym wszelkich drobnoustrojów, które zostały wewnątrz cylindra zatrzymane.

W ten sposób Pasteur i Joubert filtrując krew zwierząt karbunkułowych, otrzymali przesącz wolny od bakterij karbunkułu.

Podobne filtry i obecnie są używane w pracowniach z tą tylko zmianą, że ciśnienie powietrza wtłacza płyn mający się zjałowieć do wnętrza cylindra.

Na tej zasadzie Chamberland zbudował filtr do oczyszczania wody. Składa się on z jednej lub kilku rurek umieszczonych w metalowym cylindrycznym naczyniu, do którego zostaje wtłoczona woda za pomocą naturalnego ciśnienia lub pompki ręcznej. Po przejściu przez glinę woda staje się zupełnie czystą, tak iż wcale nie zawiera drobnoustrojów. Po pewnym jednak czasie działania bakterye przedostają się stopniowo przez pory i zanieczyszczają otrzymaną wodę.

Ażeby więc filtr taki działał należycie, trzeba go co 1—2 tygodni wyjaławiać przez wygotowanie, poczem działanie przywróconem zostaje.

Wyjaławianie płynów za pośrednictwem substancyj dziurkowatych pozwala otrzymać wolny od bakterij płyn niezmieniony chemicznie, jak to bywa przy gotowaniu. Płyny zawierające klej i białko filtrują się jednak z wielką trudnością, skutkiem czego w tych razach zastosowanie filtrów pomienionych natrafia na znaczne przeszkody.

Zdawało by się, że wyjaławianie za pośrednictwem filtrowania powinno zatrzymać

tylko bakterye, przepuszczać zaś wszystkie bezustrojowe fermenty oraz ptomainy. Wiadomo jednak, że ciała drobno sproszkowane oraz porowate jak węgiel, glinka i inne, zatrzymują znaczne ilości lub nieraz całkowite ilości ciał pomienionych oraz barwników znajdujących się w roztworze — nie tworzą one bowiem właściwych roztworów, lecz rodzaj delikatnej zawiesiny, lub też być może, wskutek wielkiej ilości atomów w skład ich drobiny wchodzących, takowe posiadają zbyt wielką objętość, ażeby przez drobne pory przedostać się mogły. Tym sposobem filtrowanie w celu oddzielenia bakterij od ich produktów natrafia na ponowne przeszkody, które jeszcze bardziej ograniczają działalność filtru Chamberland'a w celu badań laboratoryjnych, lecz tem cenniejszym czynią go w zastosowaniu do higieny w celu filtrowania płynów, mających być użytymi za napój.

Praca nad błonicą jaką wykonali niedawno Roux i Yersin w instytucie Pasteur'a, dowodzi jednak, że oddzielenie produktów bakterij błonicy udaje się na tej drodze bardzo dobrze, a jest to produkt, który posiada wszelkie cechy bezustrojowego fermentu (enzym), gdyż działa na ustrój, do którego się dostaje, dopiero po upływie znacznego przeciągu czasu. Na tej też drodze oczekują nas zapewne liczne jeszcze odkrycia.

W tych wypadkach gdzie potrzeba wyjałowieć naczynie, wykonywamy to w sposób następujący: najpierw starannie oczyszczamy probówkę, kolbki lub rurki i inne podobne naczynia od przylegających, gołem okiem widzialnych nieczystości zapomocą wody ciepłej i szczoteczki. Po ukończeniu tej operacji jeżeli chcemy uniknąć popłukiwania wodą destylowaną i zarazem przyspieszyć wysuszenie, układamy naczynia do góry dnem, w kociołku parowego przyrządu, czyli parowaru, Koch'a i ogrzewamy stopniowo aż do otrzymania ciepłoty wrzenia, w której pozostawiamy naczynia przez kil-

ka minut, poczem wyjmujemy je i stawiamy na powietrzu. Po krótkim czasie naczynia pozostają suche i nieposiadają plamek jakie bywają na szkle mytem w sposób zwykły i nieopłukanem wodą przekroploną.

Po wysuszeniu zatykamy otwory naczyń kłębkami waty czystej zwyczajnej, nie higroskopowej, w ilości takiej, ażeby niezbyt mocno ale zawsze dosyć ściśle przystawały do szyjki, oraz nieco wystawały ponad nią. Po dokonaniu tej czynności, ustawiamy próbówki w druciane czworoboczne koszyczki, inne zaś naczynia odpowiednio układamy lub ustawiamy w piecyku o gorącym powietrzu. Jest to skrzynka z blachy żelaznej o podwójnych ścianach, opatrzona z przodu drzwiczkami, ogrzewana gazem. Wymiary najlepsze są: 40 cmtr. wysokości, 30 szerokości i tyleż głębokości. Wewnątrz znajdują się dwie wysuwane półeczki z blachy. Skrzynka zawieszona zostaje na murowanej ścianie (dla bezpieczeństwa może być oparta na arkuszu azbestowej tektury), u dołu zaś na odpowiednich żelaznych widelkach umieszcza się mocny gazowy palnik. Gdy ciepłomierz w górnym otworze umieszczony wskaże 150 C°, natenczas płomień umniejszamy i zatrzymujemy ciepłotę na powyższej wysokości w ciągu godziny. Przez ten czas wata zatykająca naczynia zwykle mniej lub więcej brunatnieje: wskazuje to na właściwy stopień gorąca; gdy bowiem wata pozostaje białą jest to oznaką zbyt niskiej ciepłoty.

Ciepłota sucha 150 C° stosowana w ciągu godziny zabija wszelkie drobnoustroje mogące przylegać do ścian naczyń.

Dezynfekcja naczyń z płynami użytymi zawierającymi hodowlę bakteryj, najlepiej zostaje osiągnięta w ten sposób, że do kolbek i próbek wlewamy zwykłego kwasu solnego, w ilości około 10% na objętość. Płyn taki zabija bakterje i zarodniki bardzo szybko, bo już w kilka minut. Można też, jak się to w mojej pracowni robi, zanurzać całe naczynia z użytymi hodowlami do obszernego polewanego garnka z pokrywą, na-

pełnionego 10% kwasem solnym. Po uzbieraniu się dostatecznej ilości płytek, próbek i t. p. posługacz zmywa je wodą i oczyszcza szczoteczką, a następnie opłukuje w parowarze zapomocą gorącej pary jak to podaliśmy wyżej. Większe naczynia mieszczące 100 lub więcej cent. sześć. objętości dezynfekowane zostają przez dolanie wzmiankowanych 10% kwasu solnego.

Dezynfekcja za pośrednictwem 1‰ (jeden na tysiąc) roztworu sublimatu i 5% kwasu karbolowego nie jest odpowiednią gdyż działa w mniejszym stopniu. Sublimat wchodzi w związek z materjami organicznymi i przestaje istnieć jako taki zmieniając się w mniej silnie dezynfekujące związki. Do dezynfekcji rąk, narzędzi i naczyń używam sublimatu w roztworze 1‰ z dodatkiem 2‰ kwasu solnego. W kwaśnym roztworze sublimat dłużej pozostaje rozpuszczonym i zachowuje w ten sposób własności przeciwpasorzytnicze. Hüppe i inni autorowie gorąco polecają stosowanie takiego roztworu.

Gdy płyn z hodowlą bakteryj szczepimy za pomocą strzykawki natenczas chodzi o jak najdokładniejsze jej oczyszczenie. Najlepiej wykonywamy to przez opłukanie kilkakrotne strzykawki wrzącą wodą, wciągając takową aż do silnego ogrzania strzykawki, następnie płuczemy ją w tenże sposób kilkakrotnie powyżej wzmiankowanym kwaśnym roztworem sublimatu, w końcu zaś znów opłukujemy wodą wrzącą, ażeby opłukać ślady tegoż. Najlepiej oczyszczają się strzykawki Straus'a, których tłoczki zrobione są z angielskiej bibułki: w tłoczku bowiem znajduje się główna ilość zanieczyszczeń. Przy użyciu takiej strzykawki, należy po wypłukaniu jej roztworem sublimatu zrobić nowy tłoczek i następnie płukać sublimatem i wodą wrzącą. W ten sposób oczyszczone strzykawki można uważać za wyjałowione. Można również zastosować do strzykawek zasadę peryodycznego ogrzewania podaną przy stery-

lizacyi płynów. Zwrócić jednak należy uwagę na łatwe psucie się podkładek w strzykawkach przy zastosowaniu tego sposobu.

W podobny sposób, przy zastosowaniu pary, odbywać się powinna dezynfekcyja wszystkich narzędzi, które służą do doświadczeń. W ten tylko sposób możemy zniszczyć skutecznie wszelkie przylegające zarazki nie niszcząc samych narzędzi. Inny sposób, polegający na zanurzeniu narzędzi do 5% roztworu fenolu na $\frac{1}{2}$ —1 godziny może być również zastosowany. Moczenie narzędzi w roztworze sublimatu, mianowicie kwaśnym, szybko je niszczy. Najczęściej używany sposób wyjaławiania metalowych narzędzi przez ogrzanie w płomieniu gazowym do ciepłoty 150—200 stopni, jest dobry jako środek niszczący drobnoustroje, lecz niezmiernie szybko niszczy metal.

Z tego też powodu na największe rozpowszechnienie zasługuje sposób sterylizacyi za pomocą gorącej pary wodnej mianowicie w kociołku Papin'a przy 120 C°. Rękojeści nożyków, haczyków, igieł, powinny być przytem metalowe, gdyż inne gorzej się wyjaławiają i szybko niszczą.

Inne metalowe narzędzia, na których ostrości nic nie zależy mogą być wyjaławiane w piecyku ogrzewanym za pomocą suchego gorąca, w sposób wymieniony wyżej przy wyjaławianiu próbek i szklanych naczyń.

Do oczyszczenia rąk przed doświadczeniem najodpowiedniejszym jest wzmiankowany roztwór sublimatu.

3. Różne gleby stałe: kartofle, galareta odżywcza, agar-agar, ścięta surowica, chleb, jaja i inne.

Z różnych powodów do hodowania drobnoustrojów, o ile własności biologiczne pozwalają, staramy się dobrać podłoże stałe.

Do tego zniewala nas jakeśmy już uprzednio nadmienili pomiędzy innymi i ta okoliczność, że na stałym podłożu możemy bez

trudu oddzielić równocześnie zaszczipione różnego rodzaju drobnoustroje jedne od drugich. Jako druga ważna przyczyna występuje tutaj wielka różnorodność gleb, która przy płynach jest daleko bardziej ograniczoną.

Koch rozpowszechnił prostą i bardzo użyteczną glebę stałą — kartofle, które obecnie znalazły szerokie zastosowanie przy doświadczeniach hodowlanych. Niektóre hodowle na kartoflu są tak charakterystyczne, że gołym okiem bez trudu rozpoznać się dadzą: tak np. bakterye tyfusowe, b. prodigiosus, b. karbunkułowe i wiele innych; każda bowiem wyrasta mniej lub więcej odmiennie.

Według Kocha kartofle przygotowują się w następujący sposób:

Kartofle niezbyt stare, o ile można mało oczek posiadające, bez otworów od owadów pochodzących, o powierzchni gładkiej i naskórką pokrytej, po wycięciu oczek i zagłębień, w których gromadzą się różne zanieczyszczenia (przy wycinaniu oszczędzamy zdrowy naskórek, jako najlepszą naturalną ochronę od wysychania i pęknięcia) zostają starannie za pomocą szczoteczki obmyte w strumieniu wody i następnie zanurzone na godzinę do roztworu sublimatu 1‰. Po upływie tego czasu kartofle umieszczone w kociołku zostają zgotowane w ciągu $\frac{1}{2}$ godziny w parowarze. Po wyjęciu kociołka nie należy odkrywać ugotowanych kartofli aż całkowicie wystygną, co następuje po 1 — 2 godzinach, ażeby osiadający kurz nie zanieczyścił powierzchni obcemi zarodnikami. Po ostygnięciu kartofel ujmujemy pomiędzy wielkim a trzecim palcem lewej ręki zmaczanymi w roztworze sublimatu, prawą zaś przekrawa na pół za pomocą niedużego kuchennego noża, którego powierzchnia jest oczyszczoną za pomocą płomienia, w celu czego nóż powoli przesuwamy przez płomień gazowy aż do nagrzanania około 200—300 stopni (nie należy wypalać zbyt silnie). Do każdego kartofla używa się

osobnego noża, które w ilości 3 — 4 układają się rzędem po przeprowadzeniu przez płomień i po ostudzeniu natychmiast użyte zostają. Po przekrajaniu kartofel jest zdatnym do zaszczepienia na powierzchni jego danej hodowli. W tym celu obie połówki kładziemy na dno obszernegoszkłanego płaskiego cylindra (szerokość 22 centym. wysokość 5 — 6 cmtr.), gdzie uprzednio położyliśmy kawałek bibuły białej, zmoczonej w roztworze sublimatu, dla podtrzymania dostatecznej ilości wilgoci w przestrzeni hodowlanej. Chcąc wykonać zaszczepienie na kartoflu przeprowadzamy po jego powierzchni końcem nożyka, na którym znajduje się cząstka zawierająca badaną substancję. Pocierając zlekka po całej powierzchni kartofla rozdzielamy badamy drobnoustrój jednostajnie za wyjątkiem samego brzegu, do którego nie dochodzimy. Po 2 — 3 dniach powierzchnia powinna być jednostajnie pokryta hodowlą z wyjątkiem 1 — 2 milimetrów w odległości od brzegu, gdzie nic wyrastać nie powinno. Zaszczepione w ten sposób połówki kartofla w ilości 6 — 8 powierzchnią szczepioną ku górze ułożone obok siebie na dnie cylindra pokryte zostają drugim cylindrem nieco szerszym, który pokrywa pierwszy w ten sposób że brzegi jego nie wchodzą lecz zachodzą na brzegi pierwszego, chroniąc go w ten sposób od spadających z kurzem zarodników.

Całą czynność szczepienia wykonywać zawsze należy w powietrzu wolnym od kurzu, w pokoju gdzie się nie odbywa ruch wielu osób, gdyż wtedy ilość unoszonych przez ruch powietrza i opadających następnie na zaszczepiony kartofel drobnoustrójów bywa nieraz bardzo znacznie większą. W pokoju gdzie w ciągu paru lub kilku godzin powietrze się uspokoiło i kurz osiadł znajduje się w litrze zaledwo 3 — 5 sztuk zarodników podczas gdy w powietrzu zwykłym pokojowym znajduje się ich 10 — 15 zaś przy większym kurzu 100 i więcej. Ztąd łatwo

wnosić można, że przy zachowaniu należnych ostrożności może nie spaść na powierzchnię kartofla ani jedna bakteria. Nie należy również dotykać powierzchni szczepionej palcem ani żadnym niewyjałowionym przedmiotem, jak również przy przekrawaniu należy uważać na to, ażeby nie dotknąć szczepionej powierzchni kroplą roztworu sublimatu.

Po 21—3 dniach przy 15—20 C°. zależnie od rodzaju i ilości zaszczepionych drobnoustrójów pokazują się na powierzchni kartofla punkciki i plamki, które się stopniowo rozszerzają zlewając wzajemnie i łącząc w większe kolonie, stopniowo zajmując całą wolną powierzchnię kartofla. Gdy hodowla nie jest zanieczyszczoną obcą domieszką natenczas zachowuje właściwy sobie wygląd zawsze ten sam, jeżeli warunki biologiczne zostały całkowicie zachowane, lub nieco odmienny przy odmiennym stopniu ciepła, wilgoci, światła, a nawet innym gatunku samego kartofla. Większa część bakterij barwnych w ciepłocie niskiej nie przenoszącej 10—15 C°, np. hodowana b. prodigiosus zabarwia się jaskrawo, gdy tymczasem w ciepłocie wyższej przy 30 C° i więcej niezabarwia się wcale lub tylko bardzo słabo. Po kilku dniach zwykle tu i owdzie pojawiają się kolonie bakterij spadłych z powietrza różniące się wyglądem i barwą od zaszczepionych. Oglądając, o ile możności robimy to bez podnoszenia pokrywającego cylindra, gdyż w ten tylko sposób unikamy nowych zanieczyszczeń.

Szczepiąc na kartoflu jak również w ogóle na różnych glebach nie należy brać zbyt dużej ilości drobnoustrójów, ażeby ich kolonie o ile można były odosobnione, gdyż w ten sposób jedynie można otrzymać czystą hodowlę; inaczej, gdy się cała powierzchnia jednostajnie hodowlą pokryje mamy to samo co w płynie t. j. niemożność rozdzielania drobnoustrójów jednych od drugich. To też przeszczepiając na nowo za-

wsze należy brać oddzielnie leżące drobne kolonie posiadające charakter żądanych bakterij.

Pomimo największych ostrożności przy tak dużej powierzchni, jak już powiedzieliśmy, zwykle w końcu otrzymujemy zanieczyszczenie hodowli badanej obcemi domieszkami. Niedogodność tę możemy usunąć w ten sposób, iż umieszczamy pojedyncze połówki kartofla w szerokich probówkach lub też wykrawany z surowego kartofla kawałki podłużne mające postać szerokich płaskich beleczek, które umieszczamy w zwykłych probówkach zatkanych watą i poddajemy trzykrotnemu gotowaniu po 10 minut co 6—12 godzin w sposób wymieniony przy hodowlach płynnych. Szezeplenie odbywa się za pomocą drucika platynowego zakończonego kółeczkiem, które umaczone w hodowli, badanej krwi, lub soku tkanki przeprowadzamy 1—3 krotnie po powierzchni kartofla. Rysy drucikiem robimy jedną obok drugiej lub prowadzimy drucik falisto, starając się zetknąć go z powierzchnią jaknajwiększą równocześnie zaś nie dotknąć jednego miejsca dwa razy, gdyż natenczać możemy ułożyć na sobie dwa różne gatunki i otrzymać nieczystą hodowlę.

Można również wzorem pracowni Koch'a przygotowywać kartofle po ugotowaniu rozarte, zmieszane lub nie z bulionem lub 1% peptonu, cukru, mleka; otrzymane w ten sposób gleby są bardzo odpowiednie dla wielu bakterij. Mięszanina taka zostaje ułożoną pochyło w probówkach lub na dnie kolbek Erlenmeyer'a i wyjałowioną w sposób wiadomy.

Jakkolwiek kartofle są odpowiednią glebą dla wielu bakterij, to jednak przedstawiają pewne strony ujemne, których nie posiadają inne gleby w rodzaju galaret, przezroczyste, łatwo pozwalające się rozlewać po dużej powierzchni i skutkiem tego w celu otrzymania czystej hodowli lepiej się nadające do rozdzielania pojedynczych kolonij. Rozpowszechnione, a przez

Koch'a popierane zdanie, jakoby kartofle nie były podatnem dla bakterij podłożem z powodu kwaśności (kartoflana miazga oddziaływa kwaśno) znajduje zaprzeczenie w tem, że wszystkie niemal znane bakterye chorobotwórcze dobrze się na nich rozrastają; z tej więc strony kartofel nie jest gorszym od innych gleb.

Zwykła galareta odżywcza przez Koch'a do bakterjologii wprowadzona jest to mięszanina złożona z 10% żelatyny białej, wyciągu funta mięsa w litrze zimnej wody, 1% peptonu suchego 0,5% soli i nieco dwuwęglanu sody do alkalicznego odczynu. Galareta odżywcza przygotowuje się w sposób następujący:

Funt dobrego wołowego mięsa pozbawionego tłuszczu, kości i ścięgien szarpie się na deseczce za pomocą kuchennego noża na możliwie delikatną miazgę i nalewa litrem wody jak do przygotowania uprzednio już opisanego bulionu. Po rozmieszaniu masa stawia się na 24 godzin do lodowni, wyciska, dodaje 10 grm. peptonu, 5 grm. soli, alkalizuje sodą do wyraźnie zasadowego oddziaływania, jak przy bulionie. Teraz odważa się 100 grm. białej żelatyny i zgięte wzdłuż na 2 — 4 części tafelki przepycha przez szyję kolby, w której umieszczonym został wyciąg mięsny. Klóceniem przyspieszamy napęcznienie żelatyny, poczem stawiamy kolbę zatkaną watą do parowaru na kilka minut, aż do rozpuszczenia głównej masy żelatyny, co przy mięszaniu rozgrzanego 40 — 50 C°. płynu łatwo się udaje. Następnie probujemy raz jeszcze, czy cała mięszanina posiada zasadowe oddziaływanie, w przeciwnym razie dodajemy nieco sody i zostawiamy na parze w ciągu 45 minut lub godziny przy ciepłocie wrzenia. W ciągu tego czasu całe białko zostaje ścięte i unosi się na powierzchni płynnej szarawej masy w postaci placka. Po wyjęciu kolby z parowaru filtrujemy nieco płynu i probujemy w płomieniu gazowym,

czy nie mętnieje t. j. czy białko zostało zupełnie ściętem. W razie zmętnienia należy jeszcze pozostawić kolbę z płynem pod działaniem pary, przedewszystkiem jednak zwrócić uwagę na ciepłość, która jeżeli jest równą 100 C° natenczas sprawa nigdy nie wymaga powtórzenia, gdyż w ciągu godziny całe białko zupełnie się ścina. W razie gdy płyn filtruje się mętnym, należy użyć białka z jednego jaja, które rozmącone w nieco wody wlewamy do ostudzonej galarety, poczem poddajemy działaniu pary przez pół godziny. Takie składowanie zawsze pozwala otrzymać zupełnie czystą nieopalizującą galaretę.

Po wykonaniu powyższych czynności przygotowujemy filtr składany z bibuły szwedzkiej (znajdują się w handlu gotowe), rozkładamy go w obszernym lejku, większym od filtra i wlewamy płynną galaretę nie dochodząc do brzegu filtra na 1 centymetr. Lejąc należy puszczać strumień płynu na brzeg filtra, nie zaś na środek, inaczej tenże łatwo się przedziera. Gdy filtrująca się mieszanina nie jest odrazu przezroczystą, natenczas należy już przefiltrowaną wlać do tegoż filtra i przelanie 2 lub 3 razy powtórzyć.

Filtrowanie odbywa się do kolbek większych lub mniejszych, najlepiej Erlenmeyer'a, które po kolei po zapełnieniu do $\frac{2}{3}$ wysokości zatykane zostają watą i następnie razem wyjaławiane, lub też filtruje się ją do kolb większych i ztamtąd przelewa do mniejszych lub do probówek. Do nalewania galaret i płynów mających się wyjaławiać, nie należy używać żadnych szczególnych przyrządów, mających uchronić dany płyn od zetknięcia z powietrzem, gdyż to co zeń spadnie zostanie przez następne wyjałowienie zniszczonem; natomiast baczyć należy, ażeby rozpoczętą czynność kończyć odrazu w ciągu 2—4 godzin, nie zostawiając do drugiego dnia galarety nie wyjałowionej, gdyż szybko się psuje wskutek rozmnożenia znajdujących się w niej

drobnoustrojów. Do probówek należy nalewać galaretę z małej kolbki Erlenmeyer'a, starając się nie zmoczyć brzegów probówki; inaczej bowiem wata przylega i z trudnością się odrywa, co jest bardzo niewygodnem przy zaszczepianiu hodowli do probówek z galaretą odżywczą. Nalewać należy probówki i kolbki które mają służyć do szczepień do $\frac{1}{3}$ wysokości; zaś te kolbki, które mają służyć do przechowania zapasów do $\frac{2}{3}$ wysokości. Zostawiając pomiędzy watową zatyczką a galaretą zbyt małą odległość nie przenoszącą 2 centymetrów powodujemy wilgotnienie waty i przerastanie pleśni przez watę do galarety. Po nalaniu i zatkaniu watą naczyń należy galaretę wyjałowić, co wykonywamy podług sposobów wyżej już opisanych. Galaretę przechowywać należy w miejscu suchem, nie zbyt chłodnem, ani gorącym. Do przechowywania probówek najlepiej się nadają czworoboczne drewniane pudełka z przykrywką, mieszczące po 20 — 25 sztuk.

Po upływie 2 — 3 tygodni powierzchnia żelatyny zakłęsa się wskutek wysychania; taką galaretę należy przed użyciem jej do szczepień ogrzać i pozwolić jej się skrzepnąć; inaczej podczas wkłucia drutu tworzy się szpara wypełniona powietrzem co mocno zmienia wygląd hodowli.

Zwracać należy baczną uwagę na to, ażeby czas gotowania galarety nie był zadługi. Gdy zamiast godziny gotujemy żelatynę 1 $\frac{1}{2}$ lub 2 — otrzymujemy galaretę opalizującą i trudniej krzepnącą. Z tejsze przyzyny nie można gotować galarety w kociołku Papin'a przy podwyższonem ciśnieniu: natenczas bowiem traci ona zupełnie zdolność krzepnięcia.

Można również przygotowywać galaretę z dodaniem innych części składowych stosownie do drobnoustrojów jakie hodować zamierzamy. Pleśnie, ferment mleczny, rozwijają się chętniej na glebach o oddziaływaniu kwaśnem lub z dodatkiem cukru; w tym celu dodajemy do galarety 0,5% kwasu

mlecznego i 1% cukru. Galareta kwaśna trudniej krzepnie dla tego więc powinna zawierać więcej żelatyny: 12 — 15%. Niektórzy dodają do galarety 5 — 10% gotowego wyciągu mięsnego: zastępuje on wyciąg wodny; taka jednak galareta jest bardziej brunatną.

Marja Raskina urządza galarety z serwatki z mleka z dodaniem białkanu sodowego lub sernika, galareta nie traci przytem przezroczystości. Podajemy tu w ogólnych zarysach 3 rodzaje takich galaret.

1) Galareta z serwatką i peptonem. Litr niezbianego mleka ogrzewa się od 60—70° C i dodaje 100 grm. żelatyny. Po rozpuszczeniu się tejże gotuje się wszystko przez kilka minut, przyczem sernik się ścina i odcedza. Mętny płyn przez 20 minut zostaje w ciepłocie 30 C° przyczem tłuszcz zbiera się na powierzchni. Po zastygnięciu usuwa się całą warstwę z tłuszczem, gotuje, dodaje 10 grm. peptonu i filtruje. Otrzymaną prawie przezroczystą płynną galaretę wyjaławia się w sposób zwykły.

2) Galareta z serwatką i białkanem sodowym. Białko jaja kurzego miesza się tak długo dodając kroplami stężony ług sodowy, aż się otrzyma pół stałą przezroczystą masę, którą się kraje, przemywa wyjałowioną wodą i zostawia w spokoju, aż się całość zamieni na gęstą żółtawą ciecz, która dodaje się zamiast peptonu w ilości około 3% do poprzednio opisanej galarety.

3) Galareta z sernikiem. Sernik przygotowanym zostaje z mleka kwaśnego zbianego i w ciągu 20 minut ogrzanego do 70 C°. Otrzymany ścięty sernik przeciska się przez płótno, przemywa się 95% wyskokiem, suszy, proszkuje i przemywa eterem do wyciągnięcia śladów tłuszczu. Wyszuszony w bibule sernik zostaje ogrzanym przy 120—140 C° przez 10—15 minut, zmienia się on przytem w lepłą gęstą masę, która po wymyciu stężonym roztworem sody gryzącej staje się twardą, przezroczystą

i w ilości 2,5% dodaje do galarety pod 1) opisanej.

Można również dodawać do galarety około 3% gliceryny według Loeffler'a.

Galareta odżywcza posiada jedną ważną niedogodność, mianowicie tę, że przy 30 C° staje się płynną. Wszystkie zatem drobno-ustroje rosnące przy wyższej tylko ciepłocie w niej być hodowane nie mogą.

Niedogodności tej nie posiada galareta zrobiona z rośliny należącej do porostów, znanej w Japonii pod nazwą agar-agar sprowadzanej do kuchennego użytku w postaci delikatnych, suchych długich błonek podobnych do jądra gęsiego pióra.

Galareta ta przyrządza się w sposób nieco odmienny: mianowicie najpierw robi się bulion i do gotowego już dodaje 2% suchego agar-agaru, po czym gotuje się w ciągu godziny, mieszając od czasu do czasu silnie, ażeby przyspieszyć rozpuszczenie się porostu. Daleko szybciej otrzymujemy rozpuszczenie to w kociołku Papin'a przy podwyższonem ciśnieniu i wyższej ciepłocie, gdyż wtedy agar już w kwadrans zupełnie się rozplywa. W ten sposób otrzymany płyn jest kleisty i mętny. Chcąc go otrzymać klarownym należy go przesączyć przez kwadratowy kawałek niegrubej flaneli, umieszczony w obszernym lejku i oparty na trójkącie z grubego drutu, ażeby powierzchnia filtrująca była możliwie wielką. Przez tak przyrządzony filtr przepuszcza się kilkakrotnie gorący jeszcze płyn, póki nie znacznie spadać delikatnym strumieniem. Wówczas filtr z podstawioną u dołu kolbą odbierającą umieszcza się do parowaru i filtruje przy ciepłocie 70—80 C° w ciągu 6—24 godzin. Pierwsze porcje przesącza są zwykle kłaczkowate i te należy powtórnie przełać, aż się otrzyma płyn całkowicie klarowny. Można też postawić rozpuszczony w bulionie agar w długim cylindrze w tejże ciepłocie na kilka godzin; natenczas męt osiada, z wierzchu zaś zlać można zupełnie klarowny płyn. Można również połączyć zlewa-

nie klarownej górnej warstwy płynu z filtrowaniem mętnej dolnej. Jeszcze gorący agar zlać należy do próbek i po trzykrotnem jak zwykle wyjąłowieniu ułożyć na pochyło, ażeby mieć szeroką skrzepłą powierzchnię, która nadaje się do otrzymania czystych hodowli rysowych w celu oddzielenia gatunków jednych od drugich. W ogóle do szczepienia najczęściej używamy próbek z takim pochyło skrzepłym agarem, gdyż otrzymujemy hodowle najbardziej charakterystyczne i przytem możemy je utrzymywać w ciepłocie 37 C°, która to ciepłota rozpuszcza galaretę żelatynową nie zmieniając agarowej. Do otrzymania pochyło skrzepłego agaru układamy próbki po wyjąłowieniu w płaskim pudełku, którego dno jest nieco pochyłem, tak iż agar w ułożonych rzędem próbkach krzepnie w postaci długiego klina sięgającego od dna próbki prawie do samej watowej zatyczki. Po skrzepnięciu należy pozostawić próbki w spokoju przez kilkanaście godzin, ażeby galareta agarowa mocno się zestaliła, inaczey bowiem odlepi się od szkła i spada na dno próbki. Zwykle galareta agarowa, przy krzepnięciu wydziela nieco płynu który w ilości paru kropel gromadzi się na dnie. Nie należy go unikać, gdyż przy dłuższem przechowaniu dostarcza on zapasu wody; nie należy jednak próbek z pochyło skrzepłą agarową galaretą układać poziomo, mianowicie po zaszczepieniu bakterij na ich powierzchni, w tym bowiem razie płyn ów łatwo splukuje szczepionkę.

Galareta agarowa skrzepła w sposób zwykły wcale się nie używa, gdyż jest po najlepszem nawet przygotowaniu nieco mętną lub opalizującą, jakkolwiek w postaci płynu była zupełnie przezroczystą.

Niekiedy spostrzegamy w takiej galarecie kłaczkę: wada to niedość starannego filtrowania. Do hodowania kłaczkę takie nie przeszkadzają, jakkolwiek są bardzo nieprzyjemną domieszką, gdyż nie pozwalają śle-

dzić delikatnych różnic jakie się w hodowli okazywać mogą.

Nocard i Roux spostrzegli, że niektóre rodzaje bakterij dobrze rosną na galarecie agarowej z dodatkiem 5—8% gliceryny. Tak się mianowicie zachowują bakterye gruźlicze, które nie rosną na zwykłej agarowej galarecie bez tego dodatku. Przygotowanie jest bardzo prostem; do 100 c. sześć. płynnego agaru dodajemy 5—8 c. zwykłej czystej gliceryny, i układamy na pochyło.

Do agarowej i do żelatynowej galarety dodawać również można 1% cukru, nieco mleka, kwasu mlecznego, lub innych dodatków, jak sól kuchenna (w ilości 2%, jeżeli mamy zamiar otrzymać świeżącą hodowlę bakterij samoświecących, które, jeżeli rosną na każdym podłożu, świecą jednak tylko na mocno słonem).

Z kolei należy wymienić glebę stałą, posiadającą znaczne rozpowszechnienie, użytą przez Kocha do wyhodowania bakterij gruźlicy, które na innych podłożach prócz glicerynowego agaru słabo lub wcale nie rosną. Chcemy mówić o surowicy krwi bydłowej i ludzkiej.

Surowica otrzymuje się z świeżo przeciętych naczyń szyjnych wołu lub rzadziej innego zwierzęcia i zbiera w bezpośrednio podstawione duże, 3—4 litrów objętości mające słoje szklane, oczyszczone za pomocą kwasu solnego, wyjąłowionej wody, alkoholu, eteru, i następnie osuszone. Po zebraniu krwi słoje natychmiast zostają postawione na lód; krwi świeżo skrzepłej przynieść do bardziej odległych od rzeźni miejsc nie można, gdyż otrzymana natenczas surowica pod wpływem wstrząsania nabiera czerwonych ciałek krwi i staje się zabarwioną i mętną.

Po 24—48 godzinach stania od przezroczystej i żółtawo zabarwionej surowicy oddziela się skrzepły włóknik z ciałkami krwi; natenczas za pomocą obszernej pipety zciągamy z wierzchu żółty przezroczysty płyn

i zlewamy do kolb, a po przyniesieniu do pracowni natychmiast rozlewamy do zatkanych wata wyjałowionych próbówek i poddajemy wyjałowieniu. Odbywa się ono inaczej niż zwykle, gdyż surowica przy ciepłocie wrzenia ścina się w masę nieprzezroczystą, a tutaj chodzi o możliwą przezroczystość. W tym celu ogrzewanie doprowadzamy co najwyżej do 65°; ciepłota ta jak wiadomo wystarcza do zabicia bakterij, gdyż te giną już przy 58 C°, nie wystarcza jednak do zabicia zarodników. Dla tego też ogrzewanie do tej ciepłoty wykonywamy 3—5 razy. Samo ogrzewanie odbywa się w przyrządzie, który ma wygląd płaskiego długiego pudełka na nóżkach z jednej strony krótszych z drugiej dłuższych, skutkiem czego stoi pochyło; pudełko posiada podwójne ściany, pomiędzy które wlewamy wody i ogrzewamy z dołu za pomocą płomienia do ciepłoty 65—68 C°, którą nam wskazuje ciepłomierz ułożony obok rurek z mającą się skrzepnąć surowicą. Zwykle pierwsze 2—3 razy ogrzewamy do ciepłoty nieco niższej, nie przenoszącej 60 C°, dla uniknięcia ścinania się surowicy odrazu, co skutecznia się dopiero za ostatnim razem; natenczas ciepłota może być na podwyższoną krótko nawet do 75 C°, surowica przyczem przezroczystości nie traci ścinając się w sposób właściwy.

Otrzymana w ten sposób surowica przedstawia się w postaci brunatno żółtawej przezroczystej w cieńszych warstwach, w grubszych silnie opalizującej, elastycznej, masy.

Podobnież można otrzymać surowicę z krwi końskiej owczej lub innej.

Surowica ludzka otrzymuje się z płynu surowiczego wysięku opłucnej. Wygląd jej jest podobny do otrzymanej z krwi bydłowej, posiada jednak barwę jaśniejszą.

W próbówkach z skrzepłą surowicą podobnie jak z agarową galaretą na dnie gromadzi się płyn; tym razem jest to skro-

plona na górnej powierzchni próbówek para przy ogrzewaniu osiadła.

Do surowicy również można dodawać różnych substancyj jak: peptonu, wyciągu mięsnego, cukru i t. p.

W pewnych razach bywa korzystnem hodowanie na ośrodku z chleba, który przyrządzamy w następujący sposób. Ośrodek wilgotny pozbawiony skórki pokrajany w kostki, suszymy na słońcu lub w suszarni i rozcieramy w moździerzu na mialki proszek, którego cienką warstewkę wysypujemy na dno kolbki Erlenmeyera i wlewamy tyle wody, ażeby utworzyła się zupełnie rzadka masa. Ilość wody wynosi około dwukrotnej objętości użytego proszku chlebowego. Gdy chcemy wykonać hodowlę w próbówce, natenczas nasypujemy proszek chlebowy pochyło dla utworzenia możliwie dużej powierzchni i wlewamy wodę powoli, trzymając ciągle próbówkę w położeniu ukośnem. W ogóle starać się należy aby nie powalać ścian naczynia masą chlebową, przystającą zaś cząstki spłukać wodą na dno naczynia, w przeciwnym bowiem razie nie możemy przez nieprzezroczyste ściany w należyty sposób ocenić postępów hodowli.

Zamiast wody do przyrządzania masy chlebowej z korzyścią można użyć bulionu czystego lub z dodatkiem peptonu i cukru.

Tarchanow i Kolesnikow a po nich Rosenthal i Schulz podają sposoby przyrządzania białka kurzego jaja, pozwalające otrzymać go w stanie przezroczystej gleby stałej, za pomocą dodania nieznacznej ilości alkali; wiadomo bowiem, że białko przez ogrzewanie zmienia się w nieprzezroczystą białą masę.

Sposób Tarchanowa polega na moczeniu jaj całkowitych świeżych w ciągu kilku dni w ługu sodowym, przyczem białko zmienia się w alkali-albuminat. Dodając wody w ilości 90% do białka przez 4 dni moczonego jaja otrzymujemy po wysterylizowaniu płynną pożywkę; zaś ogrzewając je bez wody przy 105 C° otrzymujemy galaretę stałą. Po 14 dniach moczenia w lu-

gu białko staje się twardem i może być wyjąłowione przez ogrzewanie.

Rozenthal i Schulz w celu przygotowania takiej gleby dają następujący przepis: świeże białko z kilku jaj przeciskamy przez delikatne płótno i mieszając silnie dodajemy po 3 ctm. sześ. 1% ługu sodowego lub potażowego i 2 ctm. wody na 5 ctm. białka. Po dokładnem skłóceniu płyn zostawia się do zebrania piany w wysokim cylindrze na kilka godzin, poczem zlewa się go do probówek lub kolbek i zanurza takowe do wody ogrzanej od 95—98 C°. Po kilku miuutach masa zastyga na jednostajną przezroczystą galaretę.

Ilość alkali można zmniejszyć o $\frac{1}{5}$, przy czem galareta zostaje jeszcze dosyć gęstą. Dodanie soli mineralnych działa na powiększenie przezroczystości, ale zarazem zmniejsza twardość galarety. Można dodawać zamiast wody bulionu i wyniki otrzymane są wtenczas daleko lepsze.

Wyjąławianie takiej galarety odbywa się już to przez samo ogrzanie, już to przez krótkotrwałe następne podwyższenie ciepłoty. W każdym razie naczynia użyte winny być uprzednio wyjąłowione, ażeby ogrzewania o ile można nie powtarzać.

Niedawno polecona pożywka ryżowa składa się z 100 grm. mialko utartego ryżu, ugotowanego z 200 cmtr. wody; otrzymana masa mięsza się z 100 c. sześć. mleka lub bulionu i poddaje wyjąłowieniu.

Obecnie wchodzą do bakterjologii pożywki bez uprzedniego wyjąłowienia jak np. całkowite świeże jaja, które Hüppe do hodowania bakteryj cholery zastosował.

Do przyszłości należy przygotowanie w tym celu cząstek mięśni, roślin i innych podobnych artykułów ostrożnie zebranych i bez wyjąławiania w wypalonych naczyniach umieszczonych. Zmieniający wpływ gotowania w ten sposób zostanie usunięty i niektóre pasorzyty których w zwykły sposób wyhodować nie można — otrzymane.

4. Przyrządzanie czystych hodowli na płytkach i w probówkach. Potrzebne do tego przyrządy.—

Przeszczepianie. — Hodowanie w podwyższonej ciepłocie i bez tlenu.

Posiadając wyżej opisane płynne i stałe gleby, możemy otrzymać hodowle wszystkich znanych bakteryj. Ażeby jednak za pomocą tych sposobów otrzymać czyste hodowle danego pasożyta, na to potrzeba użycia pewnych sposobów. O zastosowaniu tych metod do hodowli w płynach mówiliśmy w krótkości. Teraz poruszymy sposoby hodowania i rozdzielania za pomocą ośrodków stałych.

Myśl hodowania w galarecie należy do Klebs'a. Chcąc obserwować pod mikroskopem rozwój pewnego mikrokoka napełnił on galaretą rurkę, zaopatrzoną w środku spłaszczone o delikatnych ścianach wydeciem; do galarety domieszaną była znaczna ilość badanych kokków, tak iż bez trudności można było, utrwaliwszy jeden w polu widzenia, obserwować jego rozwój.

Pożyteczna ta innowacya nie znalazła jednak w rękę Klebsa szerszego zastosowania i dopiero Koch wskazał dowodnie korzyści, jakie z tego sposobu badania odnieść możemy. Za pomocą hodowli w galarecie żelatynowej Koch dokonał jednego z większych swoich odkryć, mianowicie oddzielił po raz pierwszy bakterye cholery.

Jakieśmy już poprzednio zaznaczyli gleby stałe pozwalają hodować bakterye oddzielnymi koloniami i w ten sposób rozdzielać jedne od drugich. Różne posiadamy sposoby do tego. Hodowle płytkowe w galarecie żelatynowej, jak je podał Koch, są najodpowiedniejszą metodą oddzielania tych bakteryj, jakie się hodują w galarecie w ciepłocie od 16—22 C°,—przy wyższej galareta staje się płynną i musi być innemi glebami zastąpioną.

Do hodowli na płytkach są potrzebne:

1. Czworoboczne płytki szklane o wymiarach 9×12 centym., jakie używane są

do klisz fotograficznych. Szkło niezbyt grube, nie powinno zawierać skaz ani rys, które stanowią dość znaczną przeszkodę przy badaniu. Płytki takie czysto wymyte i wytarte włożone zostają do blaszanej, zamkniętej pokrywką płaskiej skrzynki, i w niej wyjałowione w ciągu 1 godziny przy ciepłocie suchej 160 C°. Po wyjałowieniu powinny pozostawać zamknięte, ażeby kurz z powietrza na nich nie osiadał. W takiej skrzynce leży zwykle ściśle około 40 sztuk płytek jedna na drugiej.

2. Podstawki, czyli ławeczki do płytek również szklane, dłuższe od płytek ale węższe (14×5 c.), z przyklejonemi z obu stron za pomocą laku podpórkami również szklanymi. Te oprócz wymycia nie potrzebują innego oczyszczenia i sterylizacji nie ulegają.

3. Płaskie szklane cylindry, z których górny szerszy od dolnego, — 6 cent. wysokości 20—22 szerokości mające. W nich to płytki ułożone zostają na podstawkach jedna nad drugą, i pozostawione do czasu rozwinięcia się kolonij z pojedynczych bakterij, w galarecie umieszczonych.

4. Druciki platynowe z osadą szklaną: długość drucika 5—6 centym. grubość $\frac{1}{2}$ milim. długość osady 15—20 centym; grubość $\frac{1}{2}$ centym. drucików takich należy mieć 3—5; 2 z nich powinny być zaopatrzone na końcu małym zgięciem w kółeczko, jeden powinien być nieco grubszy i posiadać na końcu spłaszczenie w rodzaju łopatki. Przygotowanie drucików nie przedstawia żadnej trudności, każdy może je łatwo sam zrobić, uciawszy część szklanej laseczki i wtapiając w rozmiękczonej jej koniec w płomieniu gazowym drucik, trzymany w szczypekach.

Druciki zwrócone końcami ku górze oparte zostają w kolbce piramidalnej Erlenmeyer'a, obciążonej funtem śrutu, nasypanego na dno.

5. Przyrząd do oziębiania wylanej na płytkę galarety składa się z trójkątnej niskiej, drewnianej statywy na nóżkach wkręcanych, dwóch płaskich szklanych cylindrów, podobnych do tych, jakie podaliśmy

pod 3, z nich węższy opiera się w szerszym na 3 korkowych lub drewnianych nóżkach i po napełnieniu wodą z lodem przykrywa okrągłą, matową z dołu, szklaną płytą, na której kładzie się mająca zastygnąć płytka z galaretą, zwierzchu zaś pokrywa się szklanym dzwonem, jeszcze węższym od drugiego cylindra, opatrzonym guzikiem do trzymania. Cały przyrząd po nalaniu wody z lodem ustawia się za pomocą libelli do poziomu, ażeby wylana na płytkę galareta nie spływała na jeden z brzegów.

Zamiast szklanych płytek do hodowli bardzo są przydatne naczynka płaskie szklane, w rodzaju małych płaskich cylindrów, podobne do miniaturowych cylindrów Nr. 3—szerokość ich wynosi 10—11 cent. wysokość 1 cent. Wprowadzone zostały do hodowli płytkowych przez Petri'ego. Galareta płynna wylana do dolnego cylindra, przykrywa się górnym i wstawia pod dzwon szklany dla uniknięcia kurzu. W razie użycia płytek Petri przyrząd 5 jest zbyteczny, gdyż galareta powoli sama zastyga.

Esmarch wprowadził hodowle na galarecie w probówkach zwykłych, lub nieco szerszych. Dogodność ich użycia polega na tem, iż powietrze bezpośrednio wcale się nie styka z powierzchnią galarety, a więc nie osadza pływających w niem zarodników, co przy pewnych ścisłych doświadczeniach jest przeszkodą w badaniu.

Gdy za pomocą hodowli na płytce chcemy rozdzielić mieszaninę bakterij i rozpoznać, które z nich są charakterystyczne lub chorobotwórcze, postępowanie nasze polega na zmieszaniu kropli badanej wydzieliny, soku tkanki, lub danego w ogóle materiału np. w postaci nieczystej hodowli — z galaretą żelatynową, rozpuszczoną przy ciepłocie około 35—40°C. Żelatynę rozpuszczamy kładąc probówki do ciepłej wody na kilkanaście minut. Gdy się żelatyna w probówkach zupełnie rozpuściła, — za pomocą platynowego drucika z kółeczkiem na końcu bierzemy kropelkę

badanej materji np. cząstkę tkanki, kropelkę ropy, lub płynu, wydzieliny i t. p. i mieszamy troskliwie po rozgnieceniu części trzymających się razem, o ile można jak najbardziej dokładnie. W tym celu próbkę przewracamy kolejno z góry na dół, i kręcimy w koło osi pomiędzy palcami, starając się niedopuszczyć do formowania się piany i pęcherzyków powietrza. Po zmieszaniu wylewamy mieszaninę na płytkę, którą wyjęliśmy przed chwilą z blaszanej skrzynki, trzymanej po otwarciu leżąco, ażeby kurz na płytkach nieosiadał. Płytkę ujmujemy palcami za brzegi, nie dotykając powierzchni, i kładziemy na oziębioną płytę przyrządu oziębiającego, poczem natychmiast pokrywamy dzwonem. Po oziębieniu płytki galaretę wylewamy z probówki i rozprowadzamy ją jednostajnie po powierzchni płytki za pomocą brzeżka probówki, który winien być dlatego czystym i niedotykany palcami podczas mieszania.

Uważać należy, ażeby galareta nie dochodziła na kilka milimetrów do brzegów płytki. Po wylaniu i przykryciu dzwonem czekamy w ciągu kilku minut, aż galareta zastygnie — natenczas wyjmujemy płytkę i układamy na dno cylindra na ławeczce, umieszczając pod spodem na pasku białej bibuły napis, jaką mamy hodowlę, jeżeli robimy jednocześnie kilka. Gdy podczas roboty pod oziębioną płytkę po nad warstwą wody z lodem dostanie się powietrze, które w ten sposób zmniejszą oziębiającą powierzchnię, natenczas usuwając z lekka płytę z ponad cylindra od strony powietrza, dolewamy nieco wody i nasuwamy płytę ponownie. W ten sposób powietrze całkowicie usuniętem zostaje.

Po upływie 2—5 dni na płytce rozwijają się kolonie, powstałe z pojedynczych, żywych bakterij. Jedne z nich rozrzedzają galaretę i natenczas szybko pokrywają całą powierzchnię, inne znów rosną mniej lub więcej wolno w postaci białawych, szarawych lub żółtawych i czerwonych kropelek.

Niekiedy układają się one tak blisko jedna drugiej, iż granic oddzielnych kolonij prawie spostrzedz niepodobna. W tych wypadkach oddzielanie bakterij również może być nie jest. Okoliczność tę wymijamy w ten sposób, że z mieszaniny galarety z materiałem badanym bierzemy kilka lub parę kropeł do innej probówki z galaretą— w takim rozmieszczeniu bakterie znajdują się w mniej gęsty sposób jedna obok drugiej ułożone. Osobliwie postępowanie takie jest koniecznem wtedy, gdy nawet w przybliżeniu nie wiemy, jakie będą bakterie i czy nie będzie zbyt wielka ilość rozrzedzających galaretę jak np. *staphylococcus*, *b. subtilis*, *b. anthracis*, *b. fluorescens liquefaciens*, *b. cholerae*, *vibrio proteus* (*B. Finkleri*) i inne. Płytkę powinna być o tyle usiana koloniami, ażeby za pomocą słabego powiększenia (około 50 razy) na jednym polu była widzialną nie więcej, jak jedna.

Rozcieńczeń takich w razach niektórych robimy 2 lub więcej, względnie do potrzeby i każde oznaczamy napisem, ułożonym pod płytką, nazywając je: płytką pierwotną, pierwszym rozcieńczeniem, drugim i t. p. Podobne rozcieńczenia przy analizach płynów, na bakterie badanych jak woda, mleko i t. p. mogą zawierać ściśle określoną ilość. Jeżeli np. do 9 centymetrów wyjąłonej galarety dodamy 1 centymetr wody, po rozmieszaniu weźmiemy 1 centymetr mieszaniny do nowych 9 centymetrów galarety— oczywiście w tej świeżej mieszaninie mieć będziemy 0,1 ilości pierwotnej; idąc dalej możemy w ten sposób otrzymać 0.01 i 0.001, oraz ilość bakterij odpowiadającą ilości badanego płynu.

W ten sposób, licząc kolonie powstałe w drugim rozcieńczeniu badanej wody i mnożąc je przez 100 otrzymamy ilość bakterij w 1 cent. sześć. wody zawartych.

Im więcej rozcieńczeń, tem dłużej należy mieszanie wykonywać, ażeby otrzymać jednostajny rozdział bakterij we wszystkich warstwach, i w ten sposób zmniejszyć po-

pełniamy błąd, polegający na zbliżonych, nie zaś rzeczywistych ilościach.

Względnie do otaczającej ciepłoty kolonie, jakieśmy już nadmienili, pojawiają się w ciągu 2—4 dni. Niektóre wymagają dłuższego czasu i pomimo to są widoczne tylko w postaci drobniutkich punkcików. Takiemi są np. bakterye tyfusu i róży. Inne szybko rosną, rozrzedzając galaretę i często w ciągu 2 dni rozpuszczając ją całkowicie, jeżeli ciepłota pokojowa przenosi 18° C.

Charakter oddzielnych kolonij jest o tyle wyraźny, że gołym okiem możemy bardzo wiele bakteryj odróżnić, i nieraz dokładniej niż przy pomocy mikroskopu. Tak np. gronkowiec złocisty *staphylococcus aureus* nie daje się odróżnić pod mikroskopem od gronk. białego (*s. albus*); tymczasem oko spostrzega u pierwszego pomarańczowe, u drugiego białe zabarwienie. Pod mikroskopem bakterye cholery nieraz trudno odróżnić od wibryona Finklera — gołym okiem zaś spostrzegamy znacznie szybsze rozrzedzanie galarety przez kolonie tego drugiego; pod mikroskopem bakterye karbunkułu, *b. sianowe* (*b. subtilis*) i *b. gałęziaste* (*wurzelbacillus*) prawie nie różnią się pomiędzy sobą, gdy tymczasem pierwsze i ostatnie rosną powoli rozrzedzając galaretę, przyczem ostatni na jej powierzchni formuje szeroko rozpościerające się gałązki, podczas gdy *b. sianowe* mocno rozrzedzają galaretę, formując na jej powierzchni tęgą błonkę.

Wyliczone cechy bardzo są wybitne i pozwalają na oddzielanie jednych bakteryj od drugich.

Chcąc tedy oddzielić z mieszaniny i otrzymać czystą hodowlę danych bakteryj, wyszukujemy kolonie najbardziej charakterystyczne i nie sąsiadujące za blisko z innymi koloniami, — wykonywamy to za pośrednictwem słabego powiększenia, nie wyższego nad 50—75 razy (№ 2 lub 4 obiektyw Hartnacka z okularzem drugim lub obj. apochrom. 16 mm. ogniskow. odl. Zeissa z okularzem dopełniającym 4). Po wyszukaniu czystej

oddzielnie leżącej kolonii podprowadzamy pod obiektyw świeżo wyjałowiony drucik platynowy, którym przebijamy kolonię, nie dotykając innych sąsiednich ani galarety w innym miejscu i natychmiast przeszczepiamy bakterye z końca druta do próbówki z galaretą, lub pochyło skrzepłym agarem. Po pewnej wprawie takie przekłucie kolonii udaje się z łatwością.

Dla pewności przeszczepienia czystej zupełnie hodowli operacją powtarzamy parokrotnie, przenosząc za każdym razem zdjęte końcem druta bakterje do innej próbówki z glebą odżywczą. Przy zachowaniu należytych ostrożności otrzymamy we wszystkich próbówkach, lub w pewnej ich części czystą hodowlę danych bakteryj.

Jeżeli mamy zamiar przekonać się, jakie w ogóle bakterye znajdują się na płytce, natenczas należy brać drucikiem kolejno różne hodowle i część przenosić do próbówki dla otrzymania czystej hodowli, pozostałą zaś część kolonii badać za pomocą mikroskopu. Ponieważ nie wszystkie kolonie bywają o tyle dużych rozmiarów, ażeby można było postępować z nimi w ten sposób, dla tego też często badanie mikroskopowe robimy dopiero po rozwinięciu się przeniesionych hodowli. Dla tego to, w razie niemożności natychmiastowego badania kolonij z płytki, należy zaszcześcić wielką ilość próbówek, ażeby wśród nich znalazły się koniecznie i bakterye poszukiwane.

Chcąc otrzymać metodą Esmarch'a hodowlę płytkową w próbówce, należy po zaszczerpieniu badanego materiału do płynnej galarety pokryć koniec próbówki kauczukową kapką i oziębiać galaretę aż do ostudzenia, obracając próbówkę w palcach do skrzepnięcia galarety w strumieniu zimnej wody, lub w naczyniu z wodą z lodem. Otrzymamy natenczas na ścianach próbówki warstewkę galarety, w której po paru dniach ujrzymy kolonie. Wydobyć oddzielnych kolonij, nie przedstawia tutaj żadnych trudności należy tylko nabrać odpowiedniej wprawy do manewrowania drutem pod sła-

bem powiększeniem mikroskopu, na stoliku którego umieszczamy probówkę opartą na płasko ściętym u dołu, a wyłobionym u góry korku. Drucik, którym wydobywamy kolonie, musi być w tym razie bardziej zgiętym na końcu, niż przy wydobywaniu kolonii z zwykłej płytki.

Chcąc przeszczepić kolonie otrzymane na kartofle, chleb, surowicę, agar pochyło skrzepły i t. d. postępujemy w sposób ogólnie podany, pocierając końcem druczika powierzchnię, na której szczepić zamierzamy, przyczem staramy się rozprowadzić materiał szczepiony po możliwie szerokiej powierzchni.

Chcąc otrzymać hodowlę rozdzielną bakterij chorobotwórczych, rosnących silniej w ciepłocie podwyższonej nie możemy do tego użyć galarety żelatynowej, i posługujemy się agarową. W tym celu rozpuszczamy takową w wodzie wrzącej i po zupełnym rozplynięciu się, co z agarem trudniej następuje, oziębiamy go do ciepłoty około 40 C°, poczem szybko wykonywamy zmieszanie z badanym materiałem, gdyż zastygnięcie bardzo łatwo tutaj następuje. W tym razie nie należy używać zwykłych szklanych płytek, gdyż warstwa agaru wydzielając płyn może spływać—dla tego też korzystniejsze są w tym razie naczynka Petri, o których wyżej mówiliśmy.

Można też zadowolnić się hodowlą na pochyło skrzepłej galarecie agarowej, w probówce zawartej. W tym celu badając np. ropę na zawartość gronkowca należy końcem druczika umaczanym w ropie przeprowadzić po powierzchni galarety od dołu do góry, starając się nie zmaczać druta w płynie u dna probówki, i starając się trzymać probówkę nieco pochyło, ale nigdy poziomo, ażeby płyn nie rozszedł się po zaszczepianej powierzchni.

Można zrobić 2 lub 3 takie równoległe rysy drucikiem, natenczas w 2-iej lub 3-iej otrzymujemy zupełnie czyste oddzielne kolonijki po 1 — 2 dniach stania w termostacie.

Gdy przypuszczamy, że ilość bakterij jest

nie wielką, natenczas szczepienie po powierzchni agaru wykonywamy drucikiem zgiętym na końcu w kółeczko. Tak postępujemy mianowicie przy badaniu bakterij gruźlicy, lub nosaczny, które należy szczepić obficie, — inaczej mogą nie wyrosnąć. W tym razie bierzemy kroplę ropy lub masy serowatej na kółeczko i pocieramy falisto całą powierzchnią galarety w probówce zawartej.

Przy badaniu bakterij gruźlicy najlepiej wyciąć cząstkę gruźelka, świeżo przekrojonego wyjałowionym nożem, za pomocą delikatnych wyjałowionych nożyczek i umieścić ją na surowicy lub glicerynowym agarze. Bardzo dobrze jest w takim razie, mając do badania cząstkę np. płuca, oczyścić powierzchnię, którą przekrajać mamy za pomocą rozpalonej szklanej laseczki, przeprowadzając ją szybko po powierzchni mającej być przeciętą tkanki. W ten sposób najlepiej pozbyć się można przylegających zanieczyszczeń, które, rosnąc zwykle szybciej od bakterij chorobotwórczych, zupełnie uniemożliwiają badanie.

W ogóle, przenosząc coś z tkanki należy naprzód oczyścić jej powierzchnię, która, osobliwie gdy jest płynem pokryta, nosi na sobie wielką ilość obcych bakterij. Dla tego też badanie bakteryologiczne na błonach śluzowych i narządach wewnętrznych musi koniecznie być poprzedzone należytem oczyszczeniem, a nawet osuszeniem powierzchni za pomocą kolejnego działania rozczywnu sublimatu, alkoholu, eteru lub mocnego gorąca. Również uważać należy, ażeby wszystko to, co wchodzi w zetknięcie z hodowlą nie było dotykanem ręką, na której zawsze mogą istnieć znaczne ilości zanieczyszczeń.

Większa część bakterij rozwija się najszybciej pomiędzy 30 — 37° C., wskutek czego zastosowanie do hodowania podwyższonej ciepłoty bywa nieraz korzystnem, w niektórych zaś razach wprost koniecznem. Stosuje się to mianowicie do hodowania bakterij i pleśni chorobotwórczych, jak: nosaczny, gnilicy, promienicy i róży, jakkolwiek

powolne wyrastanie tych pasorzytów odbywać się może i w ciepłocie niżej 30°.

Do hodowania w podwyższonej ciepłocie używamy przyrządów termostatami zwanych. Budowa ich bywa różną względnie do stopnia ciepłoty i stopnia czułości, jaką zamierzamy otrzymać. Termostaty są to blaszane o podwójnych ścianach naczynia, w których przestrzeń pomiędzy ścianami wypełniona zostaje wodą ogrzaną do ciepłoty potrzebnej do hodowli, wynoszącej od 20—37° C. Stałość danego stopnia ciepłoty utrzymuje regulator; najczęściej jest to rurka wypełniona rtęcią, której wysokość ustawia się na żadaną ciepłotę; rtęć, rozszerzając się, zbliża się lub oddala od otworka rurki, gaz prowadzącej i w ten sposób powiększa lub zmniejsza płomyk gazowy, przez który termostat ogrzany zostaje.

Regulowanie ciepłoty odbywa się z mniejszą lub większą dokładnością; baczyć wszakże należy, ażeby wahania nie przekraczały 1/2—1 stopnia, gdyż inaczej może ono być zbyt silnem i bakterye rozwijać się nie będą lub zmieniają biologiczne własności.

Opiszemy tutaj termostaty, jakie najczęściej spotykamy, pomijając przyrządy dawniejsze, zbyteczne.

Jednym z najodpowiedniejszych przyrządów i w cenie nie drogim jest przyrząd, zbudowany u nas przez Berenta. Posiada on zalety prostoty i łatwości w zastosowaniu, przy możności otrzymania stałej ciepłoty, której wahania w przeciągu tygodni o tyle pozostają niewidoczne, że niedochodzą nawet do 0,2° C.

Przyrząd ten jest to cylinder 44 cent. wysokości, 33 szerokości mający, o podwójnych ścianach, jak zwykle wodą ogrzewany; wspiera się na podstawie z prętów żelaznych, wysokiej na 30 cent., w średnicy której pod cylindrem umieszczona jest rurka gazowa, zakończona cienkim otworem, którym gaz wychodzi w postaci języczka długości 3 ctm. szerokości 0,5 cmtr. Płomyk tak mały wystarcza do podtrzymania ciepłoty 37,5 C°.

Termostat posiada podwójne drzwiczki; po otwarciu pierwszych, blaszanych, widać drugie, szklane, które pozwalają obejrzeć hodowle bez oziębienia wnętrza przyrządu. Wewnątrz znajdują się 2 blaszane wysuwane półeczki, pozwalające rozdzielić przyrząd na 2 połowy górną i dolną, lub je połączyć w jedną w razie potrzeby. Właściwością przyrządu jest prosty i zarazem bardzo czuły regulator pomysłu Berenta. Składowanie on z rurki szklanej grubościennej, posiadającej u góry lejkowate rozszerzenie, z boku dwie rurki pod kątem prostym wtopione: jedną do wprowadzania gazu, drugą do czułego nastawiania przyrządu; u dołu znajduje się małe zbiorniczek rtęci. Gaz wchodzi przez górną boczną rurkę i po nad rtęcią przechodzi do cieniutko zakończonej rurki, wkręconej na śrubce i połączonej z rurką doprowadzającą za pomocą kawałka rurki gumowej, co pozwala na ściśle nastawienie jej końca nad rtęcią. Strumień gazu może być zregulowany przez dokręcenie górnej śrubki tuż po nad rozszerzenie rurki, i przez dokręcenie śrubki bocznej aż do żadanej wysokości płomienia.

Przed ustawieniem termostat zostaje wypełniony wodą ogrzaną do ciepłoty 38° C. przez górny otwór, w którym znajduje się lejek, następnie rurki regulatora zostają połączone z jednej strony z dopływającym gazem z drugiej z lampką; regulator przez otwór w korku zostaje zanurzony w wodę termostatu, o tyle, ażeby wystawała tylko część słupa rtęci nie wyższa nad 8 cent. Raz ustawiony termostat winien być kontrolowany w ciągu dni 2—4, czy i o ile stałość ciepłoty i czułość odpowiada potrzebie, poczem dopiero można doń wstawić hodowle.

Przy regulowaniu należy uważać, ażeby kuleczka rtęci po nad rozszerzeniem nie oderwała się od słupa, gdyż wtedy czułość przyrządu ustaje; gdy się to stanie, należy połączyć słup z kuleczką oderwaną za pośrednictwem przykręcenia śrubki bocznej, poczem stopniowo przy odkręcaniu takowej

przerwa ustąpi. Uważać również należy, ażeby rurczka po nad rtęcią posiadała maleńki otworek, przez który przechodzi zapasowa minimalna ilość gazu niedozwalająca płomykowi zagasnąć pomimo zamknięcia dolnego otworu rurki przez rtęć. Płomyk zapasowy ma 1,5—2 cmtr. wysokości.

Termostat opisany powyżej wystarcza do wszelkich celów, jest bardzo dogodny, łatwo przenośny. Dla większych pracowni potrzeba takich 2—do trzech, ażeby można utrzymywać różne stopnie ciepłoty.

Termostat d'Arsonvall'a, używany często, dawniej mianowicie, do hodowli przy stałej ciepłocie, zbudowany jest podobnie z podwójnej blachy miedzianej, u dołu zaopatrzony w piramidalną powierzchnię i 4 drobne płomyki do ogrzewania. U góry znajduje się rurka służąca za wodowskaz, który winien być dla każdego stopnia ciepłoty napełniony do oznaczonego punktu. Woda przez ciśnienie, jakie wywiera na błonkę kauczukową, umieszczoną z boku, działa na zmniejszenie prądu gazu, który w ten sposób powiększa się lub zmniejsza w miarę ogrzania i podniesienia lub opadnięcia wody w wodowskazie.

Termostat ten, jakkolwiek jest dokładny, wymaga jednak poprawek i dozoru,—inaczej po kilku miesiącach staje się niezdatnym do użytku.

Prostsza forma termostatu jestto szafka czworoboczna z przodu otwierana, jak zwykle o podwójnych ścianach, posiada regulator rtęciowy, rtęciowo-powietrzny lub rtęciowo-eterowy. Dwa ostatnie regulatory są to rurki szklane opatrzone zbiorniczkiem, do którego wtopiona jest rurka lejkowato zakończona od góry. Po nalaniu nieco eteru lub bez niego nalewa się rtęć i w ten sposób przestrzeń po nad nią zawarta, wypełniona powietrzem lub parą eteru rozszerza się w miarę podnoszenia ciepłoty, i wyciska ku górze rtęć, która zamyka otwór doprowadzającej gaz ukośnie ściętej szklanej rurki, mogącej być w miarę potrzeby wyżej lub niżej po nad rtęcią umieszczoną.

Termostat powinien w każdym razie być otwierany z boku nie zaś z góry jak to dawniej robiono.

W termostacie umieszczone próbki mianowicie na czas dłuższy bardzo prędko zaczynają tracić wodę, skutkiem czego podłoża stają się niezdatne do hodowli. Dla tego często bywa pożytecznym umieszczenie na dnie naczynka z słabym roztworem sublimatu lub z wodą; w tym ostatnim razie należy baczną zwracać uwagę na niedopuszczenie pleśni. W termostacie o wilgotnej przestrzeni w ogóle łatwiej pleśń się zakorzenia—dla tego to od czasu do czasu trzeba opalać watę próbek w górnej jej części, zawierającej spadłe z powietrza cząstki kurzu, w którym zarodniki pleśni łatwo znajdować się mogą.

Gdy chcemy śledzić rozwój pewnego gatunku bakteryj pod mikroskopem, wykonujemy to w ten sposób, iż drobną ilość hodowli umieszczamy w wilgotnej przestrzeni. Sposób hodowania podaliśmy wyżej przy badaniu żywych drobnoustrojów (str. 44).

Wiadomo, że pewne gatunki bakteryj nie rosną wcale lub bardzo słabo w powietrzu a właściwie w tlenie. Do otrzymania hodowli takich bakteryj, które otrzymały nazwę anaërobów, w przeciwstawieniu do żyjących w tlenie aërobów, potrzeba usunąć tlen tylko, lub całkowicie usunąć powietrze, a zastąpić je przez inny gaz.

Posługujemy się w tym celu dwiema metodami: jedną, która polega na wypompowaniu powietrza i zastąpieniu go przez bezwodnik węglowy, wodór lub azot,—jest to metoda, użyta przez Pasteur'a do wyhodowania bakteryj złośliwego obrzęku i odróżnienia ich w ten sposób od bakteryj karbunkułu; inna metoda, przez Buchnera podana, polega na usunięciu tlenu przez pochłonięcie go za pomocą zasadowego roztworu kwasu pyrogallusowego.

Wypompowanie powietrza odbywa się za pomocą pompki rtęciowej, konstrukcyi braci Alvergnat w Paryżu. Urządzenie jej pozwala

na otrzymanie prawie barometrycznej próżni w ciągu bardzo krótkiego czasu. Pompka składa się z układu rurek i zbiorników wypełnionych rtęcią, która spadając rozrzedza powietrze w rurce z glebą odżywczą; sama rurka posiada z boku lub u góry; inną rurkę, która po wyciągnięciu powietrza i wpuszczeniu innego gazu zostaje zatopioną.

Jeżeli wypompowujemy powietrze z ponad galarety żelatynowej, należy ją rozpuścić, ażeby i ten tlen, jaki się w galarecie rozpuścił, został wydalony. Po wypompowaniu powietrza i wpuszczeniu innego gazu należy czynność tę trzykrotnie lub więcej razy powtórzyć, ażeby pozostający jeszcze ślad powietrza do możliwego minimum doprowadzić.

Za najlepsze gazy do hodowli beztlenowców uważać należy azot i wodór. Bezwodnik węglowy nie jest odpowiednim, gdyż znaczna ilość bakterij w nim ginie lub powstrzymaną w rozwoju zostaje, jak to słusznie zaznaczył prof. Marcelli Nencki z Bernu w jednej z ostatnich prac swoich. Azot otrzymujemy z powietrza działaniem pyrogalolu w stosunku 2,5 grm. na litr 6% ługu potasowego. Roztwór umieszcza się w balonie lub butli; przeprowadzone przezeń powietrze, zawiera małe tylko ślady tlenu.

Wodór otrzymujemy w sposób zwykły z przyrządu Kipp'a, tylko należy go przepłukać, przeprowadzając przez wodę.

Przeprowadzając azot po nad glebą w kolbach piramidalnych lub obszerniejszych naczyniach zawartą przez czas dłuższy możemy uniknąć pompki rtęciowej. Należy tylko azot o ile możliwości od tlenu uwolnić. W tym celu podług przepisu Nenckiego powietrze przeprowadzamy przez roztwór pyrogalolu, potem zaś przez miedź metaliczną w ziarnach, umieszczoną w rurce trudnotopliwej, rozpalonej do czerwoności. Kontrola czystości powietrza dokonywa się przez przepro-

wadzenie go przez roztwór pyrogalolu, umieszczony w kulkowym przyrządzie, do którego, po pewnym czasie, gdy przypuszczamy że już tlenu niema, wprowadzamy roztwór wodoru potasu; wrazie zupełnego pochłonięcia tlenu roztwór nie brunatnieje.

W ten sposób Nencki hodował wielkie ilości bakterij obszernych w kolbach, dla otrzymania produktów rozkładu białka.

Kolby po wprowadzeniu gazu muszą być zatkanie gumowymi korkami, lub też zatopione.

Hodowle w probówkach bardzo dobrze udają się za pomocą metody podanej przez Buchner'a, a zastosowanej przeze mnie do hodowania grzybka promienicy. W tym celu umieszczamy probówkę z zaszczepioną hodowlą do innej, szerszej, zawierającej roztwór 0,5 grm. pyrogalolu w 10 cent. sześć. 10% wodoru sodu. Roztwór przyrządzamy bezpośrednio przed użyciem, lejąc roztwór alkali na pyrogalol w kryształkach, leżący na dnie szerokiej probówki. Jako podpórka dla probówki z hodowlą służy drucik żelazny zgięty w dwa kółka, leżące jedno nad drugim, średnicy takiej, ażeby na górnym mogła się oprzeć probówka z hodowlą. Po upływie kilku godzin tlen zostaje z probówek pochłonięty, pomimo iż probówka z hodowlą posiada watową zatyczkę, która tutaj na przeszkodzie nie stoi.

Dobrze jest, mając zamiar zrobić taką hodowlę, na dzień przedtem wstawić probówkę z podłożem po nad pyrogalol. Natenczas tlen zostaje pochłonięty nie tylko z probówki ale i z samego podłoża, przynajmniej częściowo, co zdaje się wystarczać do hodowania beztlenowców.

Rurka szersza winna być zatkana kaucukowym grubym korkiem, nie zaś korkiem zwykłym lub kaucukową kapką, przez którą tlen może dyfundować do wnętrza probówki osobliwie, gdy ciśnienie zostanie w niej zmniejszonym.

IV.

Biologia drobnoustrojów.

1. Skład chemiczny pleśni, drożdży i bakteryj. Warunki życiowe.

Niektóre poważne podręczniki traktujące o grzybkach *) pomijają zupełnie ten ważny dział nauki; naszym zdaniem jest to błąd, gdyż badanie spraw życiowych wyjaśni należycie stosunek badanych tworów do świata otaczającego; przytem zauważyć należy, iż drobnoustroje pozostają we wzajemnym związku, który wtedy tylko stanie się dla badającego widocznym gdy zestawiając wyniki działania różnych spraw życiowych poszczególnych gatunków zechce on wyprowadzić wnioski i uogólnić spostrzeżane fakty.

Drobnoustroje, o których mówimy, należą, jak już wiemy, do grzybów, a raczej stoją pośrodku pomiędzy nimi a wodorostami. Skład chemiczny ich nie o wiele różni się od składu wyższych grzybów.

Grzyby zawierają: wody 88%; materij azotowych 3%; bezazotowych 5%; popiołów 1%. Po wysuszeniu na powietrzu: wody 17, materij azotowych 25, bezazotowych 45, popiołów 8.

Podług poszukiwań asystentki Nenckiego Sieber skład pleśniowców (mucor i penicillium przedstawia się następująco:

W 100 częściach suchej substancji:	
materij rozpuszczalnej w eterze	18,7%
„ w wyskoku	6,9 „
popiołów	4,9 „
białka	29,9 „
drzewnika	39,6 „

Ilość składników zmienia się wraz z glebą, na jakiej się pleśnie hodowały, w granicach dość obszernych.

Popioły większych grzybów oraz pleśni posiadają przecięciowo skład następujący: potasu 50%, sodu 1,5%, wapna 1%, magnezyi 2%, tlenku żelaza 1%, kwasu fosforowego 30%, pewne ilości kwasów solnego, krzemnego i siarczanego.

Ilość drzewnika i substancyj bezazotowych u pleśniowców znacznie jest większą niż u drożdży i bakteryj, które przeciwnie odznaczają się większą zawartością ciał białkowatych.

Z powyższego składu chemicznego widać jakie ciała są potrzebne do odżywiania pleśni: najpotrzebniejszą jest woda oraz substancje zawierające węgiel i azot, obok pewnej ilości soli mineralnych. Wszystkie prawie pomienione substancje zawarte są w mniejszej lub większej ilości w glebach, któreśmy już poprzednio wymienili; próby urządzenia płynu zawierającego wszystkie składniki w ilościach odpowiednich zostały dokonane przez Raulin'a, który wykazał, że do odżywiania pleśni niezbędne są również drobne ilości żelaza i cynku. Płyn ten składa się z 1500 grm. wody, 70 grm. cukru, 4 kwasu winnego, 4 azotanu amonii, 0,6 fosforanu amonu, 0,6 węglanu potasu, 0,4 węglanu magnezyi, 0,25 siarczanu amonu, po 0,07 krzemianu potasu, siarczanu cynku i żelaza.

W płynie tym pleśnie rozwijają się nader bujnie, brak zaś każdej z części składowych pomienionych powoduje upadek węgietacyi. Doświadczenia Raulin'a dotyczą tylko aspergillus niger.

*) Les bacteries. Cornil et Babes.

Doświadczenia poczynione przez Nägeli'ego w celu przekonania się, jakie związki powyżej wymienionych składników sprzyjają rozwojowi pleśni wykazały, że azot nie może być pobieranym w stanie wolnym, ani też ze związków z węglem oraz z grupy nitro. Najodpowiedniejszą pokazała się w tym względzie grupa amido-NH₂, a więc związki amoniak lub grupę amido zawierające oraz ciała białkowe i peptony. Ze związków nitro-NO₂ azot może być czerpany z trudnością, prawdopodobnie przez redukcję HNO₃ na HNO₂ i następnie do NH₃.

Węgiel pobieranym być może ze związków CH₄ lub CH₂, lecz nigdy z połączeń z azotem lub tlenem (cyan, bezwodnik węglowy). Najlepszym źródłem węgla są związki łatwo ulegające rozkładowi pod wpływem środków utleniających jak np. różne rodzaje cukru, gliceryna, leucyna, kwas winny, asparagina, kwas octowy, alkohol etylowy, a nawet związki fenolowe. Ciała białkowe jednak służą za najlepsze źródło węgla.

Wodór i tlen czerpią pleśnie w części z powyżej już wymienionych związków, w części zaś z wody i powietrza.

Składniki mineralne czerpane przez pleśnie w nieznacznej ilości, znajdują się prawie wszędzie w ich otoczeniu i dla tego ten brak najmniej może być odczuwanym.

Najniezbędniejszymi dla pleśni są woda i tlen. Już Pasteur udowodnił, że penicillium pochłania tlen z powietrza. Dla tego to pleśnie rosną zawsze na powierzchni stykającej się z powietrzem. Ilość jednak powietrza według Brefelda jest nieznaczna. Koniecznym jest tlen w postaci wolnej tylko do owocowania, które bez niego nastąpić nie może. Pleśnie rozwijające się w głębi płynów dają początek pączkom podobnym do komórek drożdżowych i czerpią tlen z jego związków produkując w ten sposób bezwodnik węglowy. Pleśnie chorobotwórcze, mianowicie pewne rodzaje mucor i aspergillus, podobnie rozwijają się w tkan-

kach w postaci nitek grzybni (mycelium) nigdy jednak nie owocują. W ten sposób np. znany grzybek gnieźdzący się w ciele muchy (empusa) owocuje dopiero po śmierci owadu, pokrywając ciało muchy i powierzchnię zajmowanej przez nie przestrzeni białawym pyłkiem zarodników, które powstały z wyrosłych na zewnątrz owocnośnych słupków.

Pewną rolę odegrywa stężenie roztworu, na którym pleśń wyrasta, jakkolwiek okoliczność ta ma większe znaczenie dla drożdży i bakteryj. Rozczyny stężone, mało stonkowo zawierające wody, są dla pleśni mniej odpowiednie.

Obecność wolnych kwasów jakkolwiek nie jest niezbędną, sprzyja jednak rozwojowi pleśniowców; natomiast nadmiar zasady powstrzymuje ich rozwój.

O działaniu pleśniowców oraz o czynnikach zewnętrznych, powiemy poniżej. Teraz zaś rozpatrzmy warunki życiowe drożdży.

Analiza chemiczna grzybków drożdżowych przez Nageli'ego wykonana dała następujące wyniki:

Drzewnika i słuzu roślinnego 37%, białka 45%, peptonu 2%, tłuszczów 5%, materij wyciągowych (leucyny, gliceryny) 4%, popiołów 7%. Ilość białka zmniejsza się w miarę długości sprawy fermentacyjnej (Pasteur).

W popiołach górnych drożdży Mitscherlich znalazł:

Potasu 38,8%, kwasu fosforowego 53,9%, wapna 1%, magnezyi 6%, i ślady kwasu krzemnego.

Widzimy tutaj większą ilość kwasu fosforowego niż w popiołach pleśniowców, co odpowiada również mniejszej zawartości białka.

Życie drożdży objawia się pospolicie przez sprawę znaną pod nazwą fermentacji. Przemiany jakie przy tej sprawie zachodzą nie dają drożdżom materiałów odżywczych i pokrywają część tylko ich potrzeb. Drożdże rosnąc w postaci czystej hodowli w gala-

recie odżywczej zupełnie fermentacji nie wywołują jakkolwiek bardzo dobrze rosną.

Pod względem potrzeb drożdże zbliżone są do pleśni, więc też to, cośmy powiedzieli o pleśniach, da się również do nich zastosować.

Ponieważ drożdże bardziej obfitują w azot trzeba więc go im dostarczyć w obfitości w najlepiej postaci rozpuszczalnych rodzaj białka, jak np. pepton. Sole amoniakalne mogą je zastąpić w części tylko jako źródło azotu; azotany zaś zupełnie za takowe nie służą i tu właśnie zachodzi różnica pomiędzy drożdżami i pleśniami.

Za źródło węgla służą te same ciała jakie wymieniliśmy mówiąc o pleśniach. Dla mycoderma vini alkohol zdaje się być pod tym względem koniecznym nie dającym się zastąpić przez żadne inne ciała.

Wodór i sole mineralne są drożdżom w podobny sposób potrzebne jak pleśniom; fosforan potasowy posiada pomiędzy solami największe znaczenie.

Co do wolnego tlenu pomiędzy pleśniami i drożdżami zachodzi zasadnicza różnica. Jeżeli dla pierwszych stanowi on środek niezbędny do zupełnego rozwoju to dla drugich wcale nie jest tak koniecznym. Drożdże mogą się rozmnażać w przestrzeni pozbawionej tlenu, jeśli tylko znajdą warunki odpowiednie do rozbudzenia fermentacji, czyli związki z których mogą czerpać tlen. Takimi są rozczyzny cukrów. Rozczyn zawierający 1% peptonu 5% cukru i 0,5% kwasu fosforowego służy bardzo dobrze do rozmnażania drożdży bez tlenu. Fermentacja czyli rozpad cukru na bezwodnik węglowy i alkohol etylowy postępuje stopniowo i drożdże obficie się rozmnażają.

Drożdże nie wytrzymują rozczyznów tak stężonych jak pleśnie; mianowicie środki mniej do odżywiania odpowiednie, jak np. sole amoniakalne muszą być zawarte w rozczyznach znacznie rozcieńczonych (do 1%). Cukier może się znajdować w obfitości da-

leko większej gdyż aż do 30%. Pleśniowce zaś wytrzymują 70% cukru.

Odczyn płynów dla drożdży jak i dla pleśni może być słabo kwaśnym; najlepiej jednak jeśli jest obojętny. Silniejszy stopień kwasności rozczynu (5% kwasu winnego i 1% fosforowego) na drożdże oddziałuje powstrzymująco, podczas gdy dla pleśni jest podniecającym. Zasady oddziałują na drożdże szkodliwie, nawet ślady ich wpływają powstrzymująco.

Przechodzimy teraz do badania składu chemicznego i warunków życiowych bakteryj.

Ażeby otrzymać bakterye wolne od gleby na której wyrastają, Nencki zakwasza płyn 2 — 3% kwasu solnego i gotuje. Bakterye zostają wydzielone natenczas w postaci ściętych kłaczeków i łatwo mogą być oddzielone za pomocą przesączenia płynu i kilkakrotnego przemycia ściętej masy na sączku. Oczywiście w płynie nie powinny się znajdować substancje ścinające się pod wpływem takiego postępowania. Skład mieszaniny bakteryj gnilnych w ten sposób oznaczony przedstawia się w sposób następujący:

Wody 84,3%; suchej substancji 15,7%.
W suchej substancji: białka 87,46%; tłuszczu 6,41%; popiołów 3,04%; nieokreślonych substancji 3,09%.

Ciała białkowane tutaj znalezione przedstawiają się w postaci odmiennej od znanych białkowatych. Nencki nazwał je mykoproteinę. Zawiera ono węgla 52,32%; wodoru 7,55%; azotu 14,75%, nie zawiera siarki i fosforu. Stopione z potażem gryzącym daje fenol, skatol, indol i kwasy tłuszczowe a mianowicie kozłkowy i leucynę.

Bakterye karbunkułowe hodowane w galarecie dały wyniki znacznie od powyższych różne. Nencki nie znalazł w nich mykoproteiny lecz inne ciało podobne do zwykłych białkowatych nie zawierające siarki; nazwał on je antraksproteinę.

W bakteryach znajdujemy więc jeszcze więcej azotu niż w drożdżach; drzewnik nie znajduje się tu wcale, lub znajduje się w ilościach nie dających się oznaczyć. Nägeli i Löw znaleźli go w jednej hodowli mikrokoka, zaś Scheibler i Durin w *leuconostoc mesenterioides*. W obu razach znaleziona materya nie odpowiadała jednak składowi czystego drzewnika.

Prażmowski wykazał w *Clostridium butyricum* materyą barwiącą się pod wpływem jodu na fioletowo, a więc również rodzaj drzewnika lub zbliżonego doń węglowodanu (granulozy). Podobnie zachowuje się i *Leptothrix buccalis*.

Popioły bakteryj nie były dotąd analizowane w sposób ściślejszy. Brieger znalazł w popiołach bakteryj zapalenia płuc fosforan potasu i magnezyi, oraz siarczan i chlorek sodu.

Niektóre bakterye zawierają właściwe sobie ciała. Tak *beggiatoa* rosnąca w źródłach siarkowodor wydzielających, zawiera wewnątrz komórek ziarna siarki; *crenothrix* otacza się powłoką wodanu tlenku żelaza.

Pożywienie bakteryj nie może być tak ogólnie rozpatrywanem jak pożywienie pleśni i drożdży. Wiele gatunków przedstawia pod tym względem znaczne różnice. W ogólności stosują się tu te same dane, jakie przytoczyliśmy mówiąc o pleśniowcach. Azot czerpią bakterye z rozpuszczalnych ciał białkowatych; sole amoniakalne mogą je częściowo zastąpić i nawet lepiej niż u drożdży. Azotany mogą również służyć za źródło azotu przyczem HN_3 zmienia się na HN_2 , i w końcu na NH_3 .

Doświadczenia Prażmowskiego wykonane w roku bieżącym dowodzą, że azot przez pewien rodzaj bakteryj może być również czerpany z powietrza. Spostrzeżenie to zbyt jest ważnem, ażebyśmy go chociaż w krótkości nie przedstawili.

Rośliny motylkowate (groch, bób, łubin), posiadają na korzonkach brodawki, które oddawna zajmowały uwagę badaczy; nie

wiedziano jednak jakim jest ich właściwe znaczenie: Dopiero Beyerinck po dokładnem zbadaniu brodawek owych, doszedł do przekonania, że są one wypełnione bakteryami laseczkowego kształtu.

Fakt wykrycia bakteryj w brodawkach w niczem jednak nie rozjaśnił zależności wzajemnej jaka istnieje pomiędzy bakteryami a rośliną. Istnienie jej wykrył właśnie Prażmowski. Wysadzając groch do piasku wyprażonego i pozbawionego wszelkich związków azotowych i organicznych (ostrożności niezbędne były zachowane w sposób należyty) do jednych doniczek dodawał on związków azotowych i soli potrzebnych do rozwoju grochu, do drugich tylko soli bez związków azotowych, do trzecich czystej hodowli bakteryj brodawkowych w wodzie, do czwartych zaś tylko czystej wyjałowionej wody. Przez wszystkie doniczki przepuszczał on powietrze pozbawione bakteryj zapomocą filtrowania przez watę.

Doniczki ze związkami azotowemi i solami wydały groch, który rósł, kwitł i wydał owoce w sposób normalny; doniczki bez związków azotowych wydały plon bardzo niski; doniczki podlewane wodą wydały plon bardzo lichy; doniczki zaś podlewane hodowlą bakteryj wydały groch, na którego korzonkach potworzyły się brodawki i plon nie ustępował otrzymanemu ze związków azotowych. Inne grochy nie zakażone bakteryami nie wytworzyły brodawek.

Oczywista jest rzeczą, że cały azot zawarty w białkowatych ciałach grochu został zaczerpnięty przez bakterye z powietrza i oddany grochowi w postaci gotowych prawdopodobnie azotowych związków. Istnieje więc tutaj pomiędzy grochem a bakteryami pewne współbiednictwo, które z osłabieniem bakteryj kończy się na korzyść grochu.

W ten sposób stwierdzonem zostaje: 1) że azot wolny czerpanym jest przez bakte-

rye, 2) że bakterye są potrzebne pewnym gatunkom roślin do ich odżywiania.

Teraz łatwo tłomaczy się znany fakt, dla czego rośliny strączkowe w ogóle nie potrzebują nawozów, i dla czego łubin rośnie na szczerym piasku, gdzie nic rosnąć nie może. Bakterye współbiednicze, o których mówimy są niezmiernie rozpowszechnione w warstwie ornej i prawdopodobnie istnieje kilka ich rodzaj.

Węgiel otrzymują bakterye z różnych wodorodów węgla (rozpuszczalnych: cukier), gliceryny, kwasów tłuszczowych, kwasu jabłkowego, winnego, śluzowego, mlecznego, octowego, silnie rozcieńczonego fenolu i kwasu salicylowego, alkoholu etylowego (bakterya octowa).

Jacksch znalazł, że dla mikrokoła moczu (*microc. ureae*) tlenu i azotu równocześnie dostarczają związki bursztynianu, mleczanu, jabłczanu, winianu i cytrynianu amonu; glikokol, asparagina, leucyna, kreatyna, kwas hippurowy i pepton. Za źródła służyć nie mogą: mrówczan, octan, masłan, szczawian i salicylan amonu.

Dla bakteryi fermentacyi mlecznej według Hüppe'go, za źródło węgla służy cukier mleczny, trzcinowy, gronowiec (dekstroza) i mannit; za najlepsze źródło azotu służy pepton i winian amonowy. Azotany za takie źródło służyć nie mogą.

Z przytoczonych dwóch rodzajów bakteryj widać, jak trudno sądzić o ogólnych metodach hodowania bakteryj. To co rozwojowi jednych sprzyja dla innych jest zgubnem. Niektóre z nich wymagają do rozwoju bardzo drobnych ilości pokarmów, jakie nawet w wodzie przekroplonej znajdują, inne znów potrzebują ich w ilościach znacznych lub wreszcie znajdują możliwość rozwoju tylko w żywych tkankach jednego gatunku zwierzęcia lub człowieka; dość wspomnieć bakterye gorączki powrotnej lub przymiotu. Dla tego to wiele bakteryj dotąd nie umiemy wyhodować, gdyż gleby sztuczne jakie posiadamy nie wystarczają.

Trzeba szukać innych, bardziej podatnych. Przyczyna leży często bardzo blisko. Bakterye grzeliicy np. nie rosną na zwykłej agarowej galarecie, rosną zaś bardzo dobrze na niej po dodaniu 5—6% gliceryny.

Niektóre gatunki bakteryj przysparzają sobie materiału odżywczego w ten sposób, iż wydzielają fermenty rozpuszczające, czyli peptonizujące białko, galaretę żelatynową, zmieniające mączkę, lub cukier nieinwertowany w cukier inwertowany. Bakterye cholery np. posiadają zdolność szybkiego rozpuszczania białka mięsnego na pepton, który chemicznie podobnym jest do peptonu otrzymanego działaniem pepsyny lub trypsyny.

Co do zachowania się względem tlenu bakterye można podzielić na beztlencowce (b. anaerobowe) tlenowce (aerobowe) względne tlenowce lub beztlencowce (facultative aerobici i anaerobici).

Pasteur pierwszy wprowadził dwa pierwsze działy; Prazmowski, Nencki i inni potwierdzili je całkowicie lub częściowo; wreszcie Nencki i Lachiewicz zapomocą ścisłych chemicznych prób wykazali; iż podział ten koniecznie przyjęć należy. Nägeli zwrócił przytem uwagę na fakt, iż bakterye równie jak i drożdże posługują się fermentacją do otrzymania potrzebnego zapasu tlenu; oczywiście tycze się to tylko takich, które tę zdolność posiadają.

Dalsze badania nad rozmaitemi bakteryami mianowicie pasorzytnemi dowiodły, że jedne i też same bakterye mogą rosnąć bez tlenu i w tlenie; różnica w wegetacyi jeżeli przytem istnieje to nie jest zbyt wielką. Ztąd też musi być przyjęty dział względnych tlenowców i beztlencowców; za takie uważać należy np. b. wąglika (b. anthracis), bakterye ropne (*staphylococcus*, *streptococcus*) b. pocznicy (*bacillus murisepticus*), b. zapalenia płuc, b. cholery i wiele innych.

Za beztlencowce uważać należy: b. obrzęku złośliwego (*oedema malignum*), b. maślowe (b. *butyricus*), b. *muscoideus*.

Za tlenowce uważamy np. *b. sienne* (*b. subtilis*), *b. aërophilus*.

Stężenie roztworu materij odżywczych dla bakterij nie powinno być znacznem. Ilość wody waha się jednak w granicach 80—95% i wyżej.

Pod względem jakości odczynu potrzebnego dla hodowli zachodzi ważna różnica pomiędzy bakterjami z jednej a pleśniami i drożdżami z drugiej strony. Bakterje nie znoszą kwaśnego odczynu; potrzeba im do należytego rozwoju odczynu słabozasadowego. Nie wszystkie jednak tę własność posiadają. Dla niektórych potrzeba właśnie kwaśnego i nawet silnie kwaśnego odczynu (bakterje kwaśnego mleka, bakterje octowe).

2. Wpływ czynników zewnętrznych: światła, elektryczności i bodźców mechanicznych na pleśnie, drożdże i bakterje. Wpływ stopnia ciepłoty i wilgoci.

Wpływ pomienionych czynników jak światło, elektryczność, powiększenie ciśnienia nie zdają się mieć szczególnego znaczenia dla rozwoju pleśniowców. Poszukiwania w tym względzie nie są jednak dość liczne ażeby stanowczemi być mogły.

Wysokie ciśnienie na drożdże nie wpływa hamująco: 300—400 atmosfer utrzymywanych w doświadczeniach Certes'a i Cochina przez kilka dni nie przeszkadzały fermentacyi. Hansen zauważył, iż kłócenie płynu wpływa pomyślnie na rozwój drożdży. Wpływ elektryczności na drożdże nie zdaje się być widocznym jak również i wpływ światła.

Na bakterje według Certes'a, ciśnienie nie oddziaływa; hodowle *bacillus butyricus* rosły przy 350—400 atmosferach; przy temże ciśnieniu odbywały się również bez przeszkody różne sprawy gnilne, bakterje zaś karbunkulowe pozostały jadowitemi pomimo 600 atmosfer ciśnienia w ciągu 24 godzin wywieranego.

Podobnie i elektryczność nie zdaje się wywierać wpływu na życie i własności ba-

kteryj. Mechaniczne bodźce mianowicie silniejsze wstrząśnienia zastosowane przez Horwath'a, stanowczo wpływały powstrzymująco na rozwój bakterij.

Wpływ światła w ogólności należy do czynników tamujących rozwój bakterij i zmniejszających ich własności chorobotwórcze. W tym względzie wykonane poszukiwania przez licznych badaczy wydały zgodne wyniki (zebrane w pracy kol. Rauma). Do tego czynnika jeszcze wrócimy później mówiąc o wpływach niszczących drobnoustroje.

Wpływ zmian ciepłoty jest bardzo znacznym na różne gatunki drobnoustrojów. Granice ciepłoty w jakiej mogą się one rozwijać leży w ogóle pomiędzy 5—40° C., jakkolwiek wiele gatunków posiada pod tym względem sobie właściwe stopnie, przy których najpomyślniej się rozwija; niektóre zaś gatunki rozwijają się poniżej lub powyżej granic podanych.

Co do pleśni również istnieje dla każdego gatunku właściwy stopień ciepłoty. *Penicillium* rozwija się najlepiej w 20° C; *aspergillus glaucus* 10—12°, *a. flavescens* 28° C; *asp. niger* 34—35°; *asp. fumigatus* 37—40° (Siebenmann); *oidium lactis* 20—30°; widać ztąd że stopień ciepłoty może dopomagać w pewnym stopniu do oznaczenia gatunku lub otrzymania żądanego z pośród innych.

Dla drożdży ciepłota jest również ważnym czynnikiem. Najlepszą jest 25—30°; powyżej drożdże szybko tracą zdolność życia i przy 53° giną. Zniżenie ciepłoty zmniejsza zdolność życiową a mianowicie sprawę fermentacyjną; jednak sprawa ta zachodzi jeszcze około 8° i jest charakterystyczną (2—15° według Jörgensen'a) dla t. zw. szlachetnych drożdży piwowarów; w tej ciepłocie bowiem inne gatunki drożdży działać już przestają, działają tylko drożdże piwne *sacharomyces cerevisiae*.

Granice ciepłoty pomyślniej dla rozwoju bakterij również są bardzo względne. W wodzie z lodowców znajdujemy pewne gatun-

ki mnożące się w ciepłocie zaledwo nieco wyższej od 0°, toż samo widzimy podczas wiosennego przyboru Wisły, kiedy woda zawiera od 100—200 tysięcy bakteryj w 1 centymetrze sześciennym. Głobig hodował bakterje z ziemi rosnące pomiędzy 54—60° i wytrzymujące nawet 70°.

Dla większości bakteryj w wodzie i ziemi znajdujących najodpowiedniejszą jest ciepłota 20—25°C; bakterje chorobotwórcze rozwijają się w ogóle w wyższej ciepłocie. Bakterje gruzlicze, nosaciznowe i niektóre inne rosną tylko w ciepłocie około 37°.

Bakterje barwne w ogóle nie rozwijają barwnika przy wyższych ciepłotach. Tak bacillus prodigiosus oraz b. coeruleus z wody Wiślanej hodowane przy ciepłocie 30°C; jakkolwiek rosną szybko wcale nie wytwarzają barwnika, który najlepiej wytwarza się w ciepłocie około 15°C.

Doświadczenia Pasteur'a i innych badaczy wykazały bardzo ciekawe dane co do zmniejszenia się stopniowego siły zarazków hodowanych w ciepłocie powyżej dogodnego dla ich rozwoju maximum; dotyczy to mianowicie bakteryj karbunkułowych, które, hodowane w ciepłocie 43° w ciągu dni 6 tracą zdolność zakażenia stając się stopniowo coraz słabiej działającymi. Chauveau wykazał, że takie osłabienie bakteryj karbunkułowych następuje w kwadrans gdy hodowlę ogrzejemy do 52°; w 3—4 godzin w ciepłocie 47°; w 20 dni w ciepłocie 42°. Raz osłabione bakterje zachowują w dalszych pokoleniach swoje własności, które według najświeższych doświadczeń Chauveau mogą być jednak w części odzyskane przez szczepienie drobnym zwierzętom, naprzemian z hodowaniem w krwi tychże zwierząt. Bakterje wzmocnione w ten sposób zachowują jadowitość tylko dla tego gatunku zwierzęcia w krwi którego wyhodowane zostały.

Co do stopnia wilgoci jaki jest potrzebny do życia drobnoustrojów wynika on z ilości potrzebnej wody, o czem już

wyżej powiedzieliśmy. Zauważyć należy, że żadne nie mogą żyć w stanie suchym. Dla tego to w powietrzu nie znajdują się grzybki żywe, unoszą się tylko ich zarodniki. Dlatego również powietrze tak mało w ogóle zawiera drobnoustrojów: w niem bowiem mnożenie się nie ma miejsca. Stosunek grzybków znajdujących w powietrzu a w wodzie wynosi co najmniej 1:5000. (W litrze powietrza przecięciowo 6 bakteryj, w litrze wody 30 000).

Jakżeśmy już powiedzieli dla pleśni wystarczają już nieznaczne ilości wody do wyrastania. Skutkiem tego wilgoć w mieszkaniu, pochodząca z nieznacznej stosunkowo ilości wody na ścianach i murach się znajdującej powoduje porastanie pleśni i unoszenie się jej zarodników w powietrzu. Jeżeli na takie mury dostanie się pleśń chorobotwórcza (asperg. flavescens lub fumigatus) następuje choroba z bezpośredniego zakażenia. W zwykłych razach szkodliwość pochodzi z wdychania zarodników pleśni i innych ich wytworów, jakie się w przesiąkniętej wilgocią atmosferze mieszkań takich znajdują.

3. Fermentacya i gnicie. Saprofity i pasorzyty. Produkta przemiany materji grzybków: gazy, ciała płynne i stałe, kwasy, związki aromatyczne, wodany węgla, peptony, barwniki ptomainy i ich działanie.

Pod nazwą fermentacyi rozumieć należy sprawę życiową grzybków, pod wpływem której pewne ciała służące za pokarm ulegają zmianom chemicznym. Jest to więc przemiana materji bezustrojowej pod wpływem życia ustrojów, przemiana jakiej przykłady widzimy w działaniu żywych komórek ustrojów wyższych na pokarmy i przetwarzanie ich w ciała dające się pochłoniąć oraz produkta uboczne, które pozostają niepochłonięte.

Pod tym względem niema różnicy pomiędzy komórkami drobnoustrojów a komórkami pewnych narządów zwierzęcych i roślinnych.

Podobnie jak właściwe komórki błony śluzowej żołądka wydzielają kwas solny i pepsynę czyli ferment rozpuszczający białko, tak również pewne komórki roślin mięsożernych, oraz niektóre bakterye wydzielają zupełnie podobne fermenty, mające na celu uczynienia białka odpowiednijszem do wchłonięcia.

Ślina człowieka zmienia mączkę pod wpływem znajdującego się w niej właściwego fermentu na cukier zwany maltozą, podobnie działa dyastaza,—ferment powstający przy kiełkowaniu roślin—podobnie również działają pewne drobnoustroje.

Dawne pojęcie fermentacyi, rozumiejące zamianę cukru na wyskok i bezwodnik węglowy, rozszerzone potem na inne sprawy, jak zmiana cukru mlecznego na kwas mleczny, zmiana alkoholu etylowego w kwas octowy i inne w obec powyższego określenia traci znaczenie.

Podobnie pojęcie gnicia, które dawniej miało oznaczać rozkład ciał w przystępie tlenu, nie odpowiada właściwemu stanowi rzeczy. Gnicie i fermentacya są to sprawy, dające się połączyć w jedną, będącą pojęciem szczegółowem przemiany materyi pod wpływem drobnoustrojów.

Ze względu na biologiczne własności drobnoustrojów, z których jedne żywią się resztkami ciał ustrojów, inne zaś zamieszkują żywe ustroje, dzielimy drobnoustroje na dwie grupy: saprofitów i pasorzytów.

Z pomiędzy saprofitów wyróżniamy mianem fermentów te, które dają pewne produktu właściwe, stale też same, chemicznie określone,—drobnoustrojów gnilnych te, które tych cech nie posiadają, oraz drobnoustrojów barwnikowych te, które wytwarzają barwniki.

Podział ten nie posiada cech bezwarunkowej ścisłości, gdyż drobnoustroje należące do jednej z kategorii posiadają nieraz ce-

chy również i innej kategorii właściwe. Dla tego te mianem saprofitów względnych (facultative) de Bary oznacza te drobnoustroje, które żyć mogą materjami bezustrojowemi, jak również napadać żywe ustroje. Van Tieghem oznacza znów mianem względnych pasorzytów te z drobnoustrojów, które zamieszkując przyrodę bezustrojową, wypadkowo tylko dostają się do ustrojów żywych i tam również pożywienie znajdują.

Powyżej już określiliśmy własności aerobowych i anaerobowych drobnoustrojów. Te również moglibyśmy rozdzielić na względne i bezwzględne, stosownie do tego, o ile one mogą się rozrastać bez dostępu tlenu. Bezwzględnych anaerobów znajdziemy w ogóle nie wiele, gdyż za wyjątkiem bakteryj złośliwego obrzęku i gangreny gazowej (może identycznych), oraz prawdopodobnie bakteryj tężcowych — prawie wszystkie rosnać mogą w tlenie i bez tlenu; oczywiście wytwory będą różne w pierwszym i drugim razie.

Produkta działania drobnoustrojów są bardzo liczne.

Z pomiędzy gazów spotykamy: bezwodnik węglowy, wodór, siarkowodór, amoniak, metan; dalej: wodę, ciała lotne jak: alkohol, trójmetylamin, kwas octowy, mrówkowy, propionowy, masłowy; dalej takie produktu jak kwas mleczny, jabłkowy, bursztynowy, szczawiowy, winny, leucynę, taurynę, związki aromatyczne: indol, skatol, fenol, krezol, tyrozynę, wreszcie związki takie, jak wodany węgla, siarkę (beggiatoa), peptony, barwniki i alkaloidy trujące. Produkta wymienione występują zależnie od rodzaju drobnoustroju, oraz od gleby, na jakiej się takowy rozwija.

Jeden pasorzyt, zależnie od gruntu na jakim wyrasta, daje w pewnych granicach też same, w ogóle jednak dość różne produktu. Drożdże np., rosnać na galarecie żelatynowej, nie dają ani śladu bezwodnika węglowego, który może być wydzielanym tylko w podłożach cukier zawierających; ba-

które cholery dają indol tylko z ciał białkowych i peptonu, oraz produkują trujące alkaloidy w największej ilości bez dostępu tlenu. Bakterie karbunkulowe w galarecie nie dają alkaloidów trujących, które wytwarzają, rosnąc na mięsie. Bakterie samoświecające morskie rosną dobrze na galarecie, ale produkt świecący wydają tylko wobec znacznej ilości chlorku sodu.

Barwniki są dość rozpowszechnione pomiędzy wytworami drobnoustrojów. Liczne pleśnie wytwarzają w mniejszej lub większej ilości barwnik brunatny, który w dużej ilości formuje *cladotrix*, oraz pewne bakterie z powietrza; żółty barwnik, bardzo rozpowszechniony, wytwarzają liczne laseczniki i mikrokokki; zielony wytwarzają bakterie zielonej ropy, *bacillus fluorescens liquefaciens* i *putidus* oraz *bacillus erythrosporus*; barwnik różowy formują: *bacillus prodigiosus*, *b. indicus*, *micr. roseus*, czerwone drożdże; barwnik błękitny daje *bacillus coeruleus*. Ten ostatni gatunek bakteryj o tyle wyróżnia się z pośród innych, że zabarwione są same laseczki, podczas gdy inne barwniki najczęściej znajdujemy w postaci ziarenek lub też przenikają one do gleby i barwią ją w właściwy sposób.

Barwniki w ogóle wytwarzają się pod wpływem tlenu i przy niskiej ciepłocie. Bez tlenu oraz przy podwyższonej ciepłocie formują się w ilości mniejszej, lub wcale się nie pojawiają.

Pierwszą pracę nad trującymi zasadami organicznymi, jakie się w gnijących materjach znajdują ogłosił Panum; Bergmann, Schmiedeberg, Zülzer, Sonnenschein, Hager, Otto, Selmi, — wszyscy ci badacze rozwijali tę myśl dalej; jednak dopiero badaniom Nenckiego, a szczególnie Brieger'a zawdzięczamy poznanie całego szeregu tych ciał, posiadających wielkie znaczenie dla wyższych ustrojów przez działanie trujące, jakie wywierają.

Nencki pierwszy oddzielił i chemicznie określił zasadę wzoru $C_8 H_{11} N$ o przypuszczalnej budowie $C_6 H_6 \begin{cases} CH_3 \\ CH_2-NH_2 \end{cases}$ i własnościach trujących.

Brieger wydzielił z różnych materij gnilnych, po części zaś z czystych hodowli bakteryj przeszło 30 różnych ciał azotowych, z których jedne pokazały się trującymi, inne zaś do nieszkodliwych należą:

- 1) Neurydyna otrzymana z gnijącego mięsa, sera i kleju, oraz szczątków ludzkich.
- 2) Gadinina otrzymana z gnijącego dorsza.
- 3) Kadaweryna z gnijących trupów. Posiada zapach przypominający koninę i oddziaływanie bardzo silnie zasadowe.
- 4) Sapryna podobna do poprzedzającej.
- 5) Putrescyna bardzo podobna i prawdopodobnie identyczna z kadaweryną.
- 6) Cholina.

Prócz tych alkaloidów znalazł Brieger: Trójmetylamin, dimetylamin i trójetylamin również w gnijących trupach.

Do trujących należą:

- 1) Peptotoksyna, otrzymana z różnych peptonów suchych, powstaje działaniem sztucznego soku żołądkowego na włóknik po dłuższym czasie działania. Właściwie nie należy ona do alkaloidów bakteryalnych, ale ma cechy z niemi wspólne.
- 2) Neuryna, otrzymana z gnijącego mięsa, jest bardzo trującą. Objawy otrucia podobne są do spostrzeganych przy zatruciu muskaryną.
- 3) Muskaryna znaleziona w zgniłych rybach. Identyczna z otrzymaną z muchara (*Amanita muscaria*). Daje się również otrzymać syntetycznie z choliiny przy jej utlenieniu.

Prócz tych Brieger otrzymał jeszcze ptomainy z czystych hodowli bakteryj tyfusowych oraz tężcowych. Pierwszy nazwał tyfotoksyną drugi tetaniną. Z objawów, wywoływanych przez pierwszą zaznaczyć należy oddawanie rzadkich stolców; tetanina

wywołuje kurcze toniczne, charakterystyczne dla tężca.

Inne produkta o charakterze nie dość zbadanym, otrzymane zostały z bakterij przez Nicati'ego i Rietsch'a, którzy szczepili zwierzętom płyn pozostały po zabiciu bakterij i wywołali objawy podobne do zatrucia samemi bakteriami. Villiers i inni otrzymali produkta o podobnem działaniu z wnętrzości ludzi na cholere zmarłych. Obecnie wszakże tylko o takich substancjach możemy pewniejszy sąd wydawać, które otrzymane zostały z czystych hodowli.

Do takich należą substancje, znajdujące się w bulionach hodowlanych po bakterjach błonicy, przez Roux i Yersin'a otrzymane za pomocą filtrowania hodowli przez glinę. Substancje te wywoływały szczególne objawy zatrucia, które w postaci porażen oddzielnych grup lub też pojedynczych mięśni występują w parę lub kilka dni po zaszczepieniu zupełnie w ten sposób, jak to w przebiegu błonicy spostrzegać się daje, gdzie takie porażenie występuje dopiero po przebyciu choroby w okresie pogorączkowym. Porażenia te bywają nieraz niebezpieczne i nawet dla życia groźne, jeżeli dotyczą mięśni takich, jak przepona, mięśnie krtani, lub mięsień serca.

Znaczenie ptomain widnieje już z powyższej przytoczonych zestawień. Choroby wywołwane przez bakterje nie zależą od samego wnikięcia drobnoustrojów do tkanek zdrowych, lecz w większej części wypadków od zatrucia tych tkanek przez produkta wytwarzane. W ten sposób objawy ogólne, jakie przy chorobach zakaźnych spostrzegamy zależą od działania na krew i ośrodki nerwowe trujących pierwiastków.

W tenże sposób tłumaczy się działanie jadów takich, jak jad kiełbasiany, rybi, serowy, które są również trującym wytworem bakterij i działają w sposób mniej lub więcej podobny do działania produktów trujących większych grzybów.

4. Fermenty bezustrojowe i rodzaje fermentacji.

Fermenty bezustrojowe czyli enzymy są to materje azotowe o składzie bliżej dotąd nie znanym, posiadające własność zmieniania innych ciał skutkiem przyłączenia do nich drobiny wody; same zaś one w nieznacznej tylko ilości są w płynie obecne i nie zmieniają własnego składu. Widzimy więc, że pomiędzy działaniem fermentu a reakcją chemiczną zachodzi ważna różnica: podczas bowiem ostatniej wytwarzają się całkiem różne ciała od tych jakie w reakcji udział przyjęły, przy działaniu fermentu zaś nie zachodzi zmiana w nim samym, lecz tylko w ciałach, na które on działa.

Fermenty mogą objawiać działanie w warunkach w ogóle podobnych do tych, przy których objawia się działanie różnych drobnoustrojów. Najodpowiedniejsza ciepłota jest także zwykle bliską ciepłoty ciała lub nieco wyższą. Warunki niedogodne dla drobnoustrojów również są i dla fermentów szkodliwe (znacne podwyższenie ciepłoty, zmiana odczynu, trucizny mineralne). Wszystkie fermenty posiadają własność strącania się z rozczynów pod wpływem alkoholu razem z ciałami białkowatemi; z tego osadu woda i gliceryna rozpuszczają je i oddzielają od białka.

Ustroje wyższe wytwarzają takie fermenty jak: ptyalina zmieniająca mączkę na maltozę; pepsyna—białko na pepton; trypsina białko i cukier na pepton i maltozę.

Drobnoustroje wytwarzają następujące fermenty:

1) dyastatyczny, powoduje zmianę mączki na cukier słodowy (maltozę). Wykazany przez Hüppe'go w produktach bakterij fermentacji mlecznej, przez Müller'a zaś w zawartości kiszkowej.

2) Inwersyjny—zmienia cukier trzcinowy, mleczny i maltozę w glukozę (dekstroza, lewuloza, galaktoza). Gayon znalazł go w wytworach penicillum i aspergillus. Istnieje

również w wyciągu piwnych drożdży, ale ten nie działa inwertująco na maltozę.

3) Ferment rozpuszczający drzewnik—przypuszczalny wytwór bacillus butyricus i vibrio rugula, oraz różnych innych.

4) Fermenty peptonizujące—znajdują się u bardzo licznych gatunków bakteryj. Wszystkie mianowicie gatunki rozpuszczające galaretę żelatynową: b. subtilis, b. anthracis, b. cholerae, vibrio proteus i wiele innych, na białko w odczynie zasadowym działają peptonizująco. Pepton otrzymany w naszej pracowni działaniem bakteryj cholery daje z miedzią i ługiem sodowym odczyn charakterystyczny różowy w smaku zaś przypomina trufle, nie posiada zaś smaku gorzkiego peptonów otrzymanych działaniem soku żołądkowego.

Istnieją jeszcze inne fermenty np. podobne do fermentu podpuszczki, (labferment) scinającej mleko w odczynie zasadowym oraz ferment mocznika, zmieniający mocznik w węglan amonu; oba zależne od bezpośredniej bliskości i działania żywych drobnoustrojów.

Blżej poznane rodzaje fermentacji są następujące:

1) Fermentacja alkoholowa — właściwa drożdżom piwnym (inne gatunki nie wszystkie wywołują fermentację), oraz spotykana u pewnych rodzajów mucor, i niektórych bakteryj, polega na przemianie różnych rodzajów cukru na alkohol, bezwodnik węglowy, glicerynę, kwas bursztynowy i drobne ślady innych ciał. Cukier trzcinowy, owocowy i maltoza naprzód zostają inwertowane, a dopiero potem fermentują.

2) Fermentacja mleczna — właściwość bacillus acidi lactici i niektórych innych bakteryj, polega na przemianie cukrów na kwas mleczny. Sprawa ta nie jest jeszcze dość dokładnie pod względem chemicznym wyjaśniona. Wywiązuje się przy niej nieznaczna ilość bezwodnika węglowego. Jednym z produktów fermentacji mlecznej i alkoholowej razem połączonych są

takie wytwory jak kumys i kefir. Oba te rodzaje napojów różnią się tylko ilością składników, zależną od dodawania cukru do kumysu; jakość ich jak również i ilość fermentów jest jednakowa. Działa tu bacillus acidi lactici i drożdże piwne.

3) Fermentacja masłowa—powodowaną bywa przez kilka gatunków bakteryj. Po między innymi Fitz opisuje krótką laseczkę. Krochmal, dekstryna, inulina i cukry zostają zmienione w kwas masłowy, octowy, alkohol etylowy, bezwodnik węglowy i wodór.

4) Fermentacja octowa—jest powodowaną przez mycoderma aceti (Hansen) w obecności wielkiej ilości tlenu; alkohol etylowy zostaje zmieniony w kwas octowy.

Wymienimy jeszcze inne mniej rozpoznane i nietyle znane rodzaje fermentacji: dekstranowa przy której cukier gronowy przechodzi w śluzową masę dekstran; drzewnikowa, przy której włókna drzewne zmienione zostają przy powstawaniu bezwodnika węglowego i metanu; fermentacja gliceryny, kwasów tłuszczowych i inne.

5. Chorobotwórczość. — Różnica zarazka od jadu.—Podział chorób zarazkowych. — Drogi przenikania zarazka do ustroju.—Zakażenie miejscowe i ogólne.

Choroby zakaźne zależą od przenikania do ustroju właściwych każdej chorobie drobnoustrojów, wytwarzających wyżej wzmiankowane substancje trujące. Niekiedy współdziałają tu inne czynniki jak np. mechaniczne uszkodzenie ścian tkanek wskutek mnożenia się w nich bakteryj i naruszanie skutkiem tego właściwej im czynności. Możliwą jest również szkodliwość wskutek odbierania krwi części składowych do odżywiania tkanek służących np. tlenu. Tak tłumaczy Koch działanie bakteryj karbunkulowych, które, mnożąc się we wszystkich tkankach prócz szkody mechanicznej zabierają tlen krwi, powodując w ten sposób śmierć z uduszenia.



W innych razach oddziaływają jednocześnie różne czynniki, a zdarza się, że jedne bakterye zaczynają, inne zaś kończą sprawę chorobową.

Bakterye tyfusowe np. wywołują typową, właściwą sobie formę chorobową. Wytwory ich zatruwają tkankę przez pewien czas, dopóki ustroj nie potrafi się od nich uwolnić. Walka ustroju chorego z bakteryami, pochłaniając pewien zapas energii tkanek czyni ją mniej odporną na inne sprawy—dla tego to w przebiegu tyfusu występują np. ropnie, lub zapalenie płuc zależne od innych drobnoustrojów, które nie mogą działać szkodliwie na tkanki zdrowe i silne, działają jednak na tkanki usposobione do choroby lub osłabione.

Rozpatrzmy stosunki zachodzące przy działaniu zarazków na ustroj.

Dla wielu chorób zakaźnych poznaliśmy właściwe zarazki, dla innych jednak nie są one dotąd znane, pomimo zastosowania wszystkich metod badania. Przyczyna tkwi zapewne w tem, iż jedne zarazki są zbyt małe, ażeby je zobaczyć było można, inne, być może, nieposiadają zdolności barwienia się—wiadomo zaś jak trudnem, a nawet często niemożliwem bywa spostrzeganie pewnych bakteryj bez zabarwienia. Trudności są tem większe, iż nie wszystkie zarazki posiadają stałe własności—niektóre z nich bardzo łatwo tracą zdolność zakażenia, (zarazek wściekliczny) lub też wcale nie mogą być wyhodowane na dotąd znanych i używanych glebach.

A jednak nawet co do chorób takich, w których zarazek nie jest jeszcze poznany, jak ospa, płońca, wodowstręt—możemy napewno twierdzić, że przyczyną wywołującą te choroby są zarazki ustrojowe nie zaś bezustrojowe jady.

Jednym z najważniejszych dowodów będzie tutaj zarażanie się zwierząt jednych od drugich. Wiadomo, iż krew zwierzęcia zatrutego kurarą nie działa trująco na inne zwierzę; tymczasem drobna kropelka krwi

zwierzęcia padłego na karbunkuł zabija inne, co dowodzi, że jad rozmnaża się, że więc jest żywym. Podobnież cząstka mózgu lub rdzenia kręgowego padłego na wścieklicznę psa zabija innego, gdy zostanie zaszczerpioną pod opone twardą lub do komory oka, a często wtedy nawet, gdy jad w drobnej ilości ze śliną przez ukąszenie dostanie się w tkankę skóry lub głębsze tkanki.

Inny dowód różnicy zarazków od jadów bezustrojowych posiadamy ten, iż po zakażeniu zarazkiem zawsze otrzymujemy okres utajony, ciągnący się aż do czasu, w którym zarazek tak się rozmnoży, iż czynności ustroju zostaną działaniem jego powstrzymane.

Dowodem również jest i ta okoliczność, iż jady chemiczne przechodzą przez pory filtra zrobionego z wypalanej glinki, gdy przeciwnie drobnoustroje nie przechodzą przez nie i w ten sposób płyn, w którym się znajdują może być całkowicie od nich uwolniony.

Jady chemiczne nie ulegają również działaniu tak nie wysokiej ciepłoty, jaka jest zabójczą dla drobnoustrojów a mianowicie 55 C° dla większości bakteryj; przy tej ciepłocie działać nie przestaje żaden jad bezustrojowy, ani też żaden ferment.

Drobnoustroje powodują choroby wskutek stopniowego opanowywania ustroju, który napadną, a w którym się mnożą.

Już poprzednio przytoczyliśmy obrachowanie Cohn'a co do szybkości mnożenia się bakteryj, obecnie musimy zwrócić uwagę, iż mnożenie się to tylko w pierwszych chwilach odbywa się w całej sile. Wprędce działalność życiowa mnożących się drobnoustrojów ustaje dzięki różnym przyczynom. Jeżeli się to dzieje na glebie odżywczej np. na galarecie natenczas spostrzegamy, iż kolonia z pojedynczej bakterji powstała po większa się coraz mniej, wreszcie wzrost jej zupełnie ustaje. Zależy to zapewne od wyczerpania materij odżywczych, skutkiem braku których dalszy rozrost drobnoustro-

jów staje się niemożliwym. W ustroju jednak zakażonym spostrzegamy nieraz to samo: bakterye chorobotwórcze mnożą się w miejscu zakażenia, z początku szybko rozrastając się w tkance i sąsiednich gruczołach chłonnych, potem wolniej, wreszcie zaczynają znikać i w końcu całkowicie zostają zniszczone działaniem sił ustroju. Jak się te rzeczy odbywają nie wiemy dokładnie; przytoczymy zaś poniżej teorie i fakta, które objaw ten częściowo wyjaśniają.

Wszystkie choroby zakaźne dzielono dawniej na kontagijne, miazmatyczne oraz miazmatyczno-kontagijne. Do pierwszych zaliczano te, które mogą być udzielone tylko przez ustrój chory (tyfus, nosacizna), do drugich te, które pochodzą z wody lub gruntu (zimnica), do trzecich te, które mogą się udzielić w różny sposób (cholera). Obecnie niektórzy badacze przyjmują podobny nieco podział na choroby endogieniczne i egzogieniczne; zarazek pierwszych może się znajdować tylko w ustroju chorego, zarazek zaś drugich przeważnie tylko w otoczeniu. Podział ten jednak musi upaść z chwilą, gdy wszystkie zarazki zostaną wyhodowane lub wykazane w otoczeniu chorego, jak to dotąd zostało wykazane dla bakteryj gruźlicy, nosacizny, trądu i in.

Drugi dostania się zarazka do ustroju są liczne: powierzchnia ciała i zewnętrzne błony śluzowe, błona śluzowa narządów oddychania, wreszcie błona śluzowa przewodu pokarmowego. Niueszkodzona skóra chroni ustrój od dostania się doń pasorzytów; uszkodzenia jednak teje, miejsca pozbawione naskórki wystawione są na ich działanie. Skaleczenie nieczystymi narzędziami, zakażenie jadem trupim podczas sekcji, właśnie w takich warunkach mają miejsce. W ten też sposób udziela się róża, często przy lekkich zdarciach naskórki na twarzy u osób usposobionych pod wpływem zimna lub przeziębienia. W niektórych wypadkach pasorzyty szkodzić mogą przy niueszkodzonym naskórku; dzieje się to wtedy, gdy się do-

stają do otworków gruczołów potowych i łojowych powodując wrzodziaki i pryszczki.

Dostanie się właściwych pasorzytów do dróg oddechowych zdaje się być najczęstszą przyczyną gruźlicy, zarażenie się drogą przewodu pokarmowego odbywa się najczęściej przy tyfusie i cholera.

Zbadajmy teraz sposób, w jaki zarazki ustrój zarażają.

Gdy zdrowemu zwierzęciu zaszczipimy nieco czystej hodowli bakteryj karbunkułu, natenczas po kilku lub kilkunastu godzinach znajdujemy obrzmienie w miejscu szczepienia, zaczerwienienie tego miejsca, wysięk w postaci galaretowatej masy pod tkanką, w samej zaś tkance w miejscu szczepienia oraz miejscach sąsiednich znajdujemy liczne laseczniki karbunkułowe. Równocześnie ciepota ciała podnosi się nieco. Jeżeli zakażenie nastąpiło niedawno, jeśli bakterye nie zdołały przedostać się do obiegu krwi, natenczas wycięcie lub wypalenie takiego miejsca może zabezpieczyć zwierzę, mianowicie wtedy, gdy ustrój jest względem danego pasorzyta dosyć odpornym. Gdy to nie nastąpi, choroba postępuje dalej. Przedewszystkiem gruczoły chłonne najbliższej leżącej, ulegają obrzmieniu. Badając je, znajdujemy tkankę ich licznie usianą lasecznikami karbunkułowymi. Stopniowo zarazek dostaje się dalej do krwi i innych narządów, ciepota się podnosi i zwierzę umiera. Wszystkie tkanki przy mikroskopowym badaniu znajdujemy usiane lasecznikami karbunkułowymi. U człowieka rzecz się dzieje również w podobny sposób. Zakażenie występuje najpierw miejscowo, potem dopiero pojawia się ogólne.

Gdy zakażenie karbunkułem następuje drogą pokarmową, — dzieje się to mianowicie wtedy, gdy zwierzęta roślinożerne spożywają na pastwisku zarodniki bakteryj karbunkułowych, mogące się tam znajdować; — natenczas sprawa przebiega w podobny sposób, zmiany zaś pierwotne widocznymi są na błonie śluzowej przewodu pokarmowego

gruczoły zaś krezkowe najpierw obrzmieniu ulegają.

W podobny sposób następuje zakażenie gruczołową. Może się ono rozpocząć od zranienia palca zakażonym lasiecznikami gruczołowy kawałkiem szklanego kuffa do użytku chorych w szpitalach używanego, lub, jak się to zwykle dzieje, od dostania się do wierzchołka płuca wysuszonej, a w kurzu znajdującej się cząstki plwociny gruczołowej osobnika.

W miejscu zakażenia rozwija się guziczek, który stopniowo rośnie, aż wreszcie po naczyniach chłonnych przedostaje się do gruczołów sąsiednich i dalej. Dzieje się to daleko wolniej niż przy zakażeniu karbunkulem; sprawa może pozostawać przez miesiące i lata w postaci utajonej lub powodować nieznaczne tylko zaburzenia. Badając wszakże taki guziczek znajdujemy w nim często zaś i w tkankach sąsiednich lasieczniki gruczołowe. Sprawa długo pozostaje miejscową, i niszczy jeden tylko narząd np. płuca skutkiem czego ustroj umiera na suchoty, lub też staje się ogólną, przechodzi drogą krwi przez pęknięte naczynia do wszystkich lub ważniejszych narządów i wywołuje gruczołową mózgu i opon, gruczołową wątroby i t. p., przyczem znajdujemy we wszystkich narządach prosówkowe gruczołki, w których wykryć łatwo lasieczniki gruczołowe.

W ten sposób wszystkie choroby zakaźne pozostają z początku miejscowymi, z tą tylko różnicą, że jedne bywają niemi zawsze lub przez czas dłuższy, inne znów bardzo krótko. Do chorób ogólnych zaliczane są różne formy posocznicy np. gorączka pługowa i przyrana; te jednak wyniknąć mogą z zaburzeń czysto miejscowych, czego dowodem bywa zwyczajny zastrzał, zależny od mało szkodliwej bakterii — gronkowca złocistego (*staphylococcus aureus*). W jednym wypadku spostrzegłem śmierć z posocznicy po zastrzale wynikłym wskutek zakłócia się szpilką widocznie zakażoną nieznaną ilością owego grzybka. Cho-

roba pozostawała miejscową w ciągu miesiąca i stała się ogólną wskutek nieostrożności i bezustannego drażnienia rany.

Doświadczenia ostatnich lat wykonane przez Pasteur'a, Galtier'a, Roux, Nocard'a i in. wykazały, że istnieją zarazki, zakażające w sposób odmienny. I drogi zakażenia i siedlisko zarazki są tutaj odmienne od tych, jakie są innym zarazkom właściwe. Zarazki dotąd znane mogą opanowywać ustroj lub jego narządy, bez szczególnego wyboru. Tymczasem zarazek wścieklicznych dostaje się do ustroju wyłącznie tylko drogą nerwów i ogarnia tylko ośrodki nerwowe t. j. mózg i rdzeń kręgowy. W żadnych innych tkankach ani sokach, z wyjątkiem gruczołów ślinowych, zarazek ten wykazany nie został.

Szczególne to powinowactwo zarazki wścieklicznej do tkanki nerwowej polega być może na tem, iż w niej tylko rzeczoną zarazkę znajduje potrzebne dla siebie warunki rozwoju w postaci odpowiednich składników, lub też może mniejszej odporności tkanki nerwowej niż innych soków i tkanek. W celu dowiedzenia, że tak jest postaramy się poniżej przytoczyć niektóre dowody, szczególnie zaś tę okoliczność, iż tkanka nerwowa przestaje być wrażliwą na zarazkę wściekliczną po uzyskaniu odpowiedniej odporności za pomocą przyuczenia całego ustroju.

Często mamy objawy ogólne przy takich chorobach zakaźnych, których zarazki o tyle słabo działają na ustroj, iż nigdy nie powodują groźnych dla życia zaburzeń. — Do takich należą gorączki powszechnie kataralnemi zwane; do takich np. zaliczyć należy panującą obecnie grypę (influenza). Choroba ta prawie nigdy nie jest zabójczą, a jednak odznacza się silną gorączką, osłabieniem, łamaniem i bólami w kończynach, a nawet bólami w krzyżu, które tak są charakterystyczne dla ospy, choroby groźnej i często nawet zabójczej.

Objawy ogólne występujące przy zakaże-

niach, są to prawdopodobnie zwiększone tylko objawy miejscowe i zależą od wchłaniania przez soki ustroju szkodliwych wytworów drobnoustrojów.

Czyrak zależy od dostania się do otworków gruczołów skórnych gronkowca (*staphylococcus*) jest takim typowym zapaleniem miejscowym. Występuje przy nim zwiększenie się ciepłoty miejscowej, czerwoność i wysięk do tkanki otaczającej. Mikroskop wykazuje w tak nacieczonej tkance wielką ilość białych ciałek, które im bliżej punktu ropnego ogniska czyli jądra czyraka, tem są mocniej napełnione ziarnikami (kokkami) gronkowca. Stopniowo jądro czyraka zmienia się coraz wyraźniej w ropne ognisko, z tkanki zaś otaczającej, owe białe ciała wypełnione ziarnikami znikają, zostają wchłonięte i sprawa się kończy. Następuje tutaj ograniczenie wzrostu gronkowca pod wpływem uzyskania przez tkankę żywą odporności miejscowej. W tym razie, przy miejscowym zakażeniu mamy objawy na mniejszą skalę, lecz te same co przy sprawach zakaźnych, obejmujących cały ustrój—zapalenie i gorączkę.

6. Odporność ustroju. Osłabienie chorobotwórczych własności zarazków. Odporność ustroju nabyta pod wpływem czynników naturalnych i wywołana sztucznie. Działanie szczepień ochronnych. Teoria fagocytna. Szczepienia ospy, wąglik i wścieklizny. Usposobienie do chorób zakaźnych i dziedziczność.

W poprzednim rozdziale mówiąc o gronkowcu wspomnieliśmy, że pod wpływem odporności żywej tkanki ziarniki gronkowca nie są w stanie drążyć do głębszych tkanek, ponieważ powstrzymane zostają przez zaporę, jaką spotykają na swej drodze.

Czem jest owa zaporę dotąd nie wiemy napewno. Pewną rolę grają w tem same tkanki i komórki naczynionabłonkowe, jak chce Wysokowicz; nie mniejszy zapewne

udział przyjmują krew i inne soki tkanek, jak sądzą Nuttall i Bitter, widoczny jednak wyraz działań ograniczających, jakie ustrój drobnoustrojom stawia, pojawia się w postaci barykady białych ciałek, gromadzących się w koło zapalnego ogniska. Te właśnie białe ciała, zdaniem Miecznikowa, są najważniejszym czynnikiem w chłonienu drobnoustrojów. Nazwał on je wskutek tego fagocytami.

Prawdopodobnie w ustroju wszystkie te czynniki współdziałają w jednych razach więcej w innych mniej. Najważniejszą jednak rolę gra tutaj własność niektórych chorobotwórczych drobnoustrojów, pozwalająca na zmniejszenie ich siły chorobotwórczej pod wpływem działania różnych czynników.

Pierwszym z badaczy, który zauważył tę własność był Pasteur. Szczepiąc bakterye kurzej cholery zauważył on mianowicie, iż zarazek działa tem silniej i prędzej im świeższą jest jego hodowla. Hodowla tego grzybka po 5 tygodniach nie wywiera już na kury zabójczego wpływu, powodując tylko krótkotrwałą chorobę. Osłabienie siły zarazka kurzej cholery Pasteur wyjaśnił działaniem tlenu powietrza.

Dalsze poszukiwania Pasteur'a przedsięwzięte zostały nad bakterjami wąglik. Toussaint mianowicie zauważył, że krew zwierząt karbunkułowatych ogrzana do 55° w ciągu 10 minut nie posiada zabójczych własności: zwierzę, któremu krew taka zostanie zastrzykniętą dostaje gorączki i choruje, ale nie umiera. Toussaint sądził, iż ciepłota 55 zabija bakterye, pozostały zaś we krwi jad przez nie wytworzony wywołuje wspomniane objawy. Podjęte przez Pasteur'a poszukiwania dowiodły jednak, że tak nie jest i chodzi tu o osłabienie własności chorobowych samego zarazka. Na hodowlach bakteryj wąglikowych przekonał się on w dalszym ciągu, iż można dowolnie osłabić te bakterye działaniem ogrzewania.

Hodując bakterye wąglikowe w ciepłocie niższej od 39° otrzymujemy bakterye o własnościach stałych; gdy ciepłotę podnosimy wyżej, własności w miarę czasu hodowania zmieniają się coraz widoczniej. Hodowanie w ciepłocie coraz wyższej osłabia zarazek coraz prędzej, tak iż przy 52° osłabienie osiągamy w ciągu 15 minut; przy 50° tenże stopień osłabienia otrzymuje się w 20 minut; przy 47° potrzeba na to 3—4 godzin i t. d. Chauveau, Gaffky i Loeffler, pracując dalej nad tym przedmiotem otrzymali szereg osłabionych stopni karbunkułu. Własności każdego z tych stopni pozostawały stałymi w ciągu bardzo długiego czasu hodowania i były tem stałsze, im czas hodowania w ciepłocie podwyższonej był dłuższy, oraz im częściej były wykonywane przeszczepiania hodowli do świeżych pożywek. Koch objaśnia to w ten sposób, że przy hodowaniu tworzące się zarodniki posiadają własności nie dające się zmienić. Jeżeli zaś z zarodnika wytworzy się bakteria, to ta może być dalej osłabiana, aż do czasu wytworzenia nowych zarodników. Ponieważ zaś przeszczepianie do coraz świeżych pożywek wpływa na szybkość przemiany zarodników w bakterye, te więc ulegają ciągle wpływowi czynników osłabiających. Same zarodniki nie mogą być osłabione i dla tego hodowle obfitujące w zarodniki, lub też otrzymane na płaskiej powierzchni kartofla lub agaru w obfitym przystępie powietrza, gdzie zarodniki szybko się wytwarzają, nie nadają się do prób w tym kierunku. Najlepiej nadają się do tego hodowle w bulionie. Chauveau otrzymał osłabione bakterye wąglika działaniem tlenu i wysokiego ciśnienia. Chamberland i Roux zauważyli następnie, że fenol dodany do hodowli bakteryj karbunkułowych powstrzymuje ich rozwój i jednocześnie osłabia je.

Dalsze poszukiwania Pasteur'a wykazały, że różne inne czynniki wpływają na osłabienie zarazków. Bakterye róży świń osłabione zostają raptownie przez przeszczepienie na królika, zaszczepione napowrót świni,

powodują u niej zamiast śmiertelnej choroby tylko przejściową; odwrotnie zaś przeszczepione z krwi gołębia stają się jeszcze bardziej jadowitemi. Podobnież zarazek wścieklizny osłabionym zostaje za pomocą suszenia oraz przeprowadzenia go przez ciało mały; przeciwnie, hodowanie go w ciele królików oddziaływa na wzmożenie własności zabójczych.

Widzimy ztąd, że własności chorobotwórcze bakteryj mogą ulegać znacznym zmianom. Nie dotyczy to jednak morfologii, w każdym zaś razie nie o tyle zmienia gatunki, ażebyśmy mogli przypuszczać istnienie przemiany jednych w drugie. Buchner wprawdzie twierdził, iż, przystosowując bakterye wąglikowe do coraz innych rodzajów pożywek, udało mu się przemienić je w bakterye sienne i odwrotnie bakterye sienne w wąglikowe. Podobne przemiany miejsca nie mają, jak to stwierdziły dalsze prace licznych badaczy.

Oslabione w powyższy sposób bakterye działają na ustrój w sposób zupełnie odmienny od pierwotnego. Bakterye wąglikowe zabójcze dla większej części zwierząt ssących stają się tak nieszkodliwe, że nie są w stanie zabić nawet bardzo czulej na ich działanie białej myszy; zaszczepienie ich zamiast śmiertelnej choroby powoduje u niej nieznaczne tylko zmiany chorobowe, kończące się wyzdrowieniem.

Ustrój człowieka i zwierząt po zaszczepieniu tak osłabionych zarazków zachowuje się bardzo charakterystycznie. Od czasów Jennera wiadomo, iż ospa krowia, będąca odmianą ospy ludzkiej, wywołuje chorobę słabszą z objawami w znacznej części miejscowymi tylko, które się ograniczają do utworzenia ogniska zapalnego jedynie w miejscu zaszczepienia obok obrzęku sąsiednich gruczołów i nieznacznego odczynu ogólnego w postaci gorączki. Po przebyciu takiej ospy krowiej ustrój staje się odpornym nietylko przeciwko powtórnie zaszczepionej krowiance, przyczem wywołane podrażnienie często

przechodzi bez śladów zapalenia lub z nieznacznie tylko (widzimy to przy rewakcynacji ospy ochronnej), ale nawet przeciwko ospie zwykłej.

Odkrycie Jenner'a przez długi czas pozostawało faktem odosobnionym, nie mającym znaczenia ogólnego. Pozyskało ono wprawdzie znaczenie praktyczne, które się objawiło w postaci szczepień ochronnych przeciwko epidemiom ospy, które dawniej dziesiątkowały ludzkość, miała jednak do ostatnich nawet czasów bardzo poważnych przeciwników. Wiadomym był wprawdzie fakt również doświadczeniem nabyty, że jednokrotne przebycie choroby zakaźnej w znacznej części wypadków chroni od powtórnego zachorowania. Wszakże dopiero odkrycia w innych dziedzinach bakterjologii, dokonane przez Pasteur'a i jego szkołę, a stwierdzone w latach ostatnich, oraz ściśle spostrzeżenia innych badaczy dowiodły, że istnieje znaczna ilość zarazków, które można w zupełnie podobny do krowianki sposób zastosować dla uchronienia ustroju od chorób dłań zabójczych.

Jednym z pierwszych zarazków, na którym odkrycie takie dokonane zostało, była bakteria karbunkułowa czyli wąglikowa.

Jak już wiemy Toussaint pierwszy zauważył osłabienie zarazka karbunkułu przez ogrzanie krwi zarazek zawierającej do 55°. Pasteur udowodnił natenczas, iż działanie ciepłoty podwyższonej osłabia bakteryje wąglikowe. Osłabiony w ten sposób zarazek, będąc zaszczipionym zwierzęciu, chroni je od zachorowania i śmierci, gdy mu powtórnie zaszczipimy bakteryje nieosłabione o zwykłych zabójczych własnościach. Ażeby działanie uczynić tem pewniejszym, Pasteur wyhodował dwa stopnie osłabionych bakterij wąglikowych. Pierwszy stopień otrzymał on z bakterij silnych działaniem ciepłoty 42° w ciągu 24 dni, drugi stopień przy tejże ciepłocie w ciągu 12 dni. Pierwszy stopień czyli t. zw. premier vaccin jest tak słaby, że z trudnością zabija my-

szy; drugi stopień (deuxieme vaccin) zabija świnki morskie i niektóre króliki, oraz według doświadczeń Cienkowskiego susły; przeprowadzony przez krew susła zachowuje przez czas bardzo długi uzyskany przez ogrzewanie stopień jadowitości.

Pierwszy i drugi stopień, zaszczipione kolejno w ilości $\frac{1}{10}$ c. sz. hodowli bulionowej, chronią owcę od karbunkułu. Wołom i koniom szczepi się w ilości $\frac{2}{10} - \frac{3}{10}$ c. sześ. W ten sposób wykonane szczepienia same przez się nigdy prawie nie działają szkodliwie, z wyjątkiem zwierząt osłabionych chorobami, lub bardzo młodych; chronią zaś je w większości przypadków od zachorowania na wąglik, który w pewnych miejscowościach rokrocznie zabiera wielką ilość sztuk bydła.

Podobne szczepionki Pasteur wprowadził dla uchronienia kur i drobiu od t. zw. kurzej cholery, oraz świń od róży; zarazki przed zaszczipieniem zostają odpowiednio osłabione, o czem powiemy poniżej, mówiąc o nich.

Jednem z najświetniejszych potwierdzeń możności zabezpieczenia ustroju przed działaniem zarazka jest przed czterema laty wynaleziona przez Pasteur'a metoda szczepienia wścieklizny.

Zarazek wścieklizny, którego dotąd nie udało się wyhodować, ani pod mikroskopem ujawnić, znajduje się w mózgu, rdzeniu kręgowym i gruczołach ślinowych zwierząt i ludzi tą chorobą dotkniętych.

Jeżeli cząstkę mózgu, rdzenia kręgowego, lub nieco śliny zaszczipimy psu lub innemu zwierzęciu pod skórę, lub jeżeli wystawimy je na działanie pokąsania przez wściekłe zwierzę, to pewna część zwierząt zakażonych (około $\frac{1}{3}$) dostanie wścieklizny; jeżeli zaś zaszczipienie wykonamy bezpośrednio pod oponę twardą mózgu lub do komory oka otrzymamy tę chorobę zawsze. Jeżeli teraz osłabimy zarazek za pomocą trwającego 10—12 dni suszenia cząstki rdzenia kręgowego, zawierającego takowy i zaszcze-

pimy tak osłabiony zarazek, to ten nawet przy szczepieniu pod oponę twardą nie wywoła choroby; jeżeli następnie zaszczipimy go w postaci mniej osłabionej (suszony przez dni 9) potem jeszcze silniejszy (8 dniowy) i t. p. możemy dojść do bardzo silnego (3 dniowy), lub nawet świeżego rdzenia bez wywołania choroby. Natenczas, u tak zabezpieczonego zwierzęcia możemy bezkarnie szczepić rdzeń świeży nie tylko pod skórę, ale nawet w niektórych wypadkach i pod oponę twardą mózgu bez wywołania zakażenia. Szczepienie pod oponę twardą jest drogą tak dogodną dla jadu wścieklizny, ośrodki nerwowe zaś tak przyjazną glebą, że zwierzęta odporne przy szczepieniu podskórnem, wielokrotnie okazują brak odporności po zaszczipieniu tą drugą drogą.

W każdym razie fakta otrzymane potwierdzają najzupełniej pierwotne doświadczenie Pasteur'a.

Szczepienie rdzeni słabszych chroni przed zarazkiem silniejszym i choroba nie występuje. Szczególnem w szczepieniu ochronnem wścieklizny jest to, że nastąpić może ono z wielkiem powodzeniem nawet po nastąpieniu pokąsaniu. Pierwiastkowo ta właśnie okoliczność była powodem zbytniego sceptycyzmu ze strony wielu badaczy. Nie przypuszczano, ażeby ustrój uległ zakażeniu mógł uzyskać odporność. Tymczasem Dr Welsch z Baltimory spostrzegł to samo w epidemii ospy. Choroba już po nastąpieniu zakażenia występowała w postaci znacznie słabszej, jeżeli wczas wykonano szczepienie ochronne. Sprawdzenie zakażenia ospą jest jednak faktem znacznie trudniejszym; możemy o tem sądzić tylko drogą pośrednią. Rodzina, w której jeden osobnik zachorowywa na ospę tylko w wyjątkowych razach zachorowywa cała. Zdarza się to jednak w wielkich epidemiach, z jakich właśnie jedną badał Dr. Welsch. Przekonał się on, iż gdy jeden z członków rodziny zachorowywał na ospę, szczepienie innym krowianki powodowało zmniejszenie

objawów ospowych, jeżeli okres zwiastunów ospowych występował dopiero w 2—3 dni po dokonaniu szczepienia ochronnem. Ospa przebiegała natenczas znacznie łagodniej. Wpływ szczepienia był żaden tylko wtedy, gdy ono następowało już w okresie zwiastunów: choroba wybuchała w całej sile, jakkolwiek jednocześnie krowianka również objawiała miejscowe działanie.

Zaszczipienie wścieklizny po pokąsaniu o tyle łatwiej może być zrozumianem, iż okres utajony przy tej chorobie jest bardzo długi. Choroba ta od miejsca zaszczipienia, o ile sądzić można z doświadczeń ostatnich Nocard'a, Galtier'a i innych idzie po nerwie do ośrodków bardzo powoli, a zatem, jeżeli wcześniej zrobimy szczepienie ochronne, czyli przyzwyczaimy ustrój do walczenia z zarazkiem wścieklizny, odporność wystąpi wcześniej, niż zarazek dojdzie do ośrodków nerwowych. Należy tylko przypuszczać, że inna istnieje droga dla nabywania odporności, inną zaś idzie zakażenie; będzie to łatwem, jeżeli zechcemy wnioskować z faktów znanych. Wiadomo, iż zarazek wścieklizny nie znajduje się w krwi i sokach ustroju; wiadomo również z doświadczeń Nocard'a, że będąc wstrzykniętym do krwi zwierząt przeżuujących szybko tam ginie, nie wywołując zakażenia, ale odporność względem choroby; wiadomo z drugiej strony, że szczepiąc go do pochewki nerwowej wywołujemy zakażenie prawie z równą łatwością jak szczepiąc bezpośrednio pod oponę twardą. Jeżeli więc zakażenie postępuje drogą nerwów, odporność musi być nabywana drogą soków: krew i inne soki, działając niszcząco na zarazek wścieklizny równocześnie stają się odpornymi i udzielają odporności swej tkankom nerwowym.

Niedawno Högyes z Budapesztu udowodnił, iż zarazek wścieklizny, jak to słusznie przypuszczał Pasteur, osłabia się przez suszenie nie jakościowo ale ilościowo. Rzecz więc tutaj ma się przeciwnie niż z bakteriami karbunkułu, które osłabione zosta-

ją tylko w kierunku własności zabójczych, jakkolwiek same dobrze rosną. Högyes mianowicie, rozcieńczał świeży rdzeń wściekłego królika 10,000 na wagę wody i przekonał się, że rdzeń tak rozcieńczony działa tak, jak rdzeń suszony w ciągu 12 dni, t. j. nie działa zabójczo nawet po zastrzyknięciu pod oponę twardą. Szczepiąc rozcieńczenie coraz gęstsze $\frac{1}{8,000}$, $\frac{1}{6,000}$ i t. d., robimy to samo, co szczepiąc rdzeń 10, 8, 6 dniowy; gdy wreszcie dochodzimy do $\frac{1}{500}$ mamy działanie 1 lub 2 dniowego t. j. prawie świeżego rdzenia.

Szczepiąc w ten sposób, Högyes otrzymał 24 psy całkowicie odporne na działanie zarazka wścieklizny, który nie może przypisać ich o chorobę nawet wówczas, gdy zostanie zastrzyknięty pod oponę twardą. Widzimy więc z tych doświadczeń, iż ten sam zarazek, który w ilości większej może spowodować chorobę, w drobnej ilości sprowadza odporność.

Podwójne to działanie zarazka wścieklizny nie dałoby się objaśnić, gdyby nie było wiadomem, iż własności jego są bardzo niestałe. Posiada on możliwość zastosowania się do warunków znajdujących w ustroju z trudnością, łatwo może być pokonany, z drugiej jednak strony, gdy się już raz zastosował, powiększa swoje własności chorobotwórcze. Wiadomo np., że gdy rdzeń psa padłego na wściekliznę po zastrzyknięciu pod oponę twardą zabija królika w dni 15, to przeszczepiany z królika na królika po kilkunastu pokoleniach wzmacnia się tak, iż zabija te zwierzęta po dniach 10. Będąc przeprowadzony przez świnkę morską, jak tego dowiódł Babes, uzyskuje te własności już po 2—3 pokoleniu szczepiennem. Siła zarazka w ten sposób powiększona pozostaje stałą pomimo wysuszenia które zmniejsza tylko ilość zarazka, nie oddziałując na jakość jego. Gdy bowiem taki średnio osłabiony przez suszenie rdzeń, z wzmocnionego pokolenia szczepiennego pochodzący, zastrzykniemy zwierzęciu i wy-

wołamy śmierć po upływie 15 dni, to jest w tym czasie, w jakim oddziaływa rdzeń zwierzęcia padłego na zwykłą nie wzmocnioną wściekliznę, to, przeszczepiając teraz ów rdzeń w stanie świeżym na królika, otrzymamy znów śmierć po 10 dniach, czyli, że zarazek odzyskuje od razu całą swoją siłę.

Na zarazku wścieklizny, więcej niż na każdym innym, możemy się przekonać o wzajemnem działaniu ustroju na zarazek i zarazka na ustrój. Nie wiele jednak posiadamy zarazków tak zmiennych w swoich własnościach, skutkiem czego nie wiele z nich udało się pod tym względem poznać i do celów praktycznych wyzyskać. Dla tego to ilość chorób zakaźnych, jakie przez szczepienie możemy zmienić i ustrój na ich działanie odporniejszym uczynić jest tak ograniczoną. Wątpić jednak nie można, iż w niedługim czasie liczba zarazków, które ochronie szczepić będzie można znacznie się powiększy. Doświadczenia czynione w tym kierunku wykazują ciągle na tem polu postępy. Dr. Gamaleia w Paryżu dokonywa obecnie prób ze szczepieniem cholery, które, jeśli dotąd nieudały się całkowicie, niewątpliwie jednak po pewnym czasie zostaną pomyslnym wynikiem uwieńczone. Wtedy wykazaną zostanie przyczyna możliwości przyzwyczajenia ustroju do zarazka na tej samej podstawie, na jakiej jest możliwość przyzwyczajenia się do chemicznych trucizn. Obecnie już bowiem liczne badania wykryły, iż przyczyną wielu chorób zarazkowych są wytwory bakteryj; szczepiąc te wytwory, otrzymane z bakteryj złośliwego obrzęku, Roux zdołał wywołać u zwierząt odporność przeciwko samemu zarazkowi; w podobny sposób Chantemesse i Vidal wykazali odporność u zwierząt po wstrzykiwaniu im wytworów bakteryj tyfusowych.

Obecnie mamy więc doświadczalne poparcie faktów znanych, że choroba zakaźna raz przeżyta czyni ustrój odpornym na powtórne zakażenie, osobliwie w niedługim czasie. Po czasie dłuższym ustrój tę od-

pornosć traci. Dla czego? postaramy się się to poniżej wyjaśnić.

Długo starano się poznać sposoby, w jaki ustrój uwalnia się od zarazka. Przed kilku laty Miecznikow badając chorobę drobnych żyłek wodnych, (*Daphnia pulex*) zależną od pewnego grzybka drożdżowego, spostrzegł, że w tych wypadkach, gdzie choroba kończy się pomyślnie ciała krwi dafnii gromadzą się w koło pasorzyta i niszczą go, chłonąc stopniowo.

Zastrzykując do krwi żaby bakterye wąglika, które zwierzęciu temu nie szkodzi, zauważył Miecznikow, że bakterye te zostają pochłonięte przez białe ciała krwi żaby. Krew królika, który jak wiadomo, łatwo zostaje zakażonym przez te bakterye, nie wykazuje takich białek ciałek, fagocytami przez M. nazwanych; bakterye mnożą się bez przeszkody w krwi zwierzęcia, białe ciała zaś pozostają wolne od bakteryj. Gdy natomiast żabę zanurzymy do wody o ciepłocie 37° C, po pewnym czasie umiera ona na wąglik—natenczas białe ciała krwi pozostają w niej wolne, bakterye zaś rozmnażają się tak, jak w krwi królika. Jeżeli przeciwnie królika zrobimy odpornym przez ochronne zaszczepienie go osłabionymi bakteriami wąglika, spostrzeżemy natenczas, iż białe ciała jego zostają wypełnione bakteriami, królik zaś pozostaje zdrowym.

Fakta, spostrzeżone przez Miecznikowa, dały watek do teoryi, która obecnie liczy wielu zwolenników i przeciwników. Zwolennicy teoryi tej twierdzą, iż ustrój wtedy wychodzi zwycięzko w walce z drobnoustrojami, gdy posiada elementy anatomiczne mogące je pochłoniąć; elementy te mogą się w ustroju znajdować, lub też zdolności chłonne wyrobić pod wpływem odpowiednich pomyślnych warunków np. stopniowego przyzwyczajania.

Przeciwnicy, z których odznaczają się: Weigert, Baumgarten, Flügge i Koch, przytaczają fakta przeciwne. Wiadomo np, że

posocznica myszy jest dla zwierzęcia tego zawsze zabójczą chorobą. Otóż w tej właśnie chorobie bakterye posocznicy wypełniają przedewszystkiem białe ciała. Tutaj więc można powiedzieć, że przeciwnie, białe ciała zostają opadnięte przez bakterye.

Szczepiąc krew człowieka dotkniętego gorączką powrotną małpom, Miecznikow znajdował nakrótka przed i po przesileniu gorączki brak spiryllów w krwi, w śledzionie zaś znajdowały się one w środku fagocytów. Weigert twierdzi, że jeśli fagocyty śledziony są przyczyną niszczącą spirylle, dla czego nie dokonają one tego zaraz po dostaniu się spiryllów do krwi, nie zaś dopiero później, po napadzie gorączki.

Doświadczenia Nuttall'a i Bitter'a, wykonane w pracowni Flügge'go, dowiodły również, że świeża krew wypuszczona ze zwierzęcia, nawet pozbawiona anatomicznych składników (białych i czerwonych ciałek), działa niszcząco na drobnoustroje.

Widzimy z przytoczonych faktów, że sama teorya fagocytarna nie wyjaśnia przyczyny odporności ustroju. Przyjąć należy, iż różne tkanki różnie się zachowują względem różnych czynników chorobotwórczych, oraz że ustrój posiada różne sposoby walki. Niewątpliwie, iż pewna część roli przypada w udziale elementom anatomicznym, inna zaś chemicznym. W jednym razie fagocyty występują w sposób czynny, w innym zaś, gdy np. działalność ich zostanie zmienioną przez jad, jaki bakterye wydzielają (np. silnie działający na białe ciała myszy jad posocznicy mysiej), natenczas stają się one pastwą bakteryj przed innymi tworami, ponieważ przedstawiają się wtedy wyłącznie jako gleba do rozrostu tych bakteryj podatna.

Odporność, jakiej ustrój nabywa po przebyciu choroby zakaźnej da się więc objaśnić w ten sposób. Składniki ustroju, przyzwyczajone do działania zarazka, gdy się takowy ponownie do ustroju dostanie, niszczą go, przyczem ustrój przebywa lekką tylko

chorobę, która może się objawić w postaci lekkiej gorączki, lub innego rodzaju nieznanych zaburzeń. Dopóki w ustroju istnieją tak przyzwyczajone elementy, dopóty walka będzie skuteczną. Gdy z biegiem czasu odnowa tkanek postąpi o tyle, iż elementy przyzwyczajone zostaną zastąpione przez nowe — odporność zniknie. Znikanie odporności będzie się odbywać stopniowo, w miarę znikania odpornych elementów; przez pewien czas jednak własności mogą być nawet dziedziczone przez elementy nowe, z dawnych powstające. Odporność ustroju staje się nie możliwą wtedy, gdy ilość zarazka większą jest od ilości elementów, mogących go zniszczyć.

Z tego cośmy powiedzieli widać, iż szczepienie nie może po sobie pozostawiać w ustroju żywego zarazka. Nie należy więc z tej strony obawiać się szczepień ochronnych. Jeżeli dziwną, a może niepradopodobną nawet rzeczą wydaje się możność szczepienia w przyszłości wielkiej liczby chorób zakaźnych, to w każdym razie zaszczepienie takie być może tyle szkodliwym co zwyczajny katar lub coś podobnego, i prócz pozyskania odporności tkanek przeciwko istniejącej epidemii, nie wywoła w nim żadnych następstw szkodliwych.

Z powyższych uwag można po części wyjaśnić istotę usposobienia do danej choroby. Dla żaby usposobienie względem wąglika — jest to zanurzenie jej do ciepłej wody. Podobnie usposobienie człowieka względem chorób zakaźnych, należy uważać jako pewne warunki zewnętrzne, które wpływają na zmianę składników ustroju. Że chemizm tkanek gra pierwszorzędą rolę możemy się łatwo przekonać z doświadczeń, jakie wykonaliśmy niedawno. Znanym był od dawna fakt łatwego tworzenia się ropni u chorych na moczówkę cukrową. Przekonaliśmy się, że cukier zawarty w glebie nie powiększa rozrostu hodowli bakteryj gronkowca, które wywołują ropnie u chorych na moczówkę. Wstrzyku-

jąc królikom pod skórę hodowlę gronkowca, również bardzo często nie mogliśmy wywołać ropnia. Gdy natomiast uczyniliśmy to po uprzednim wstrzyknięciu 25% rozczyну cukru, w miejscu szczepienia ropienie następowało. Oczywiście cukier osłabia tkankę i czyni ją podatną do rozwoju bakteryj ropnych. Że usposobienie bywa często wynikiem przyczyn mechanicznych, udowodnił Wysokowicz, szczepiąc też same bakterie gronkowca do krwi królikom, którym uprzednio zranione zostały zastawki sercowe. rozwijała się wtedy sprawa dobrze znanego zapalenia wsierdzia i brzegów zastawek.

W ten sposób różne czynniki chemiczne i mechaniczne mogą usposabiać do chorób zakaźnych, najczęściej w skutek zmian miejscowych lub ogólnych. Przeziębienie oddziaływa zapewne w sposób mechaniczny, powodując miejscową niedokrwiłość i zarazem zmieniając na pewien czas skład tkanki; gdy do usposobionego w ten sposób płuca dostaną się bakterie, będzie zapalenie płuc lub gruźlica, zależnie od tego jakie bakterie się dostały.

Dziedziczenie chorób zakaźnych jest najczęściej dziedziczeniem ciałaśkładu rodziców; w rzadkich wypadkach i w pewnych tylko chorobach jest ono rzeczywiście zakażeniem, nabytem w ustroju matki za pośrednictwem łożyska, lub podczas przejścia przez zakażone drogi porodowe. Nie ma dotąd spostrzeżeń, które by dowodziły zakażenia przez obecność zarazka bądź w jajku bądź też w ciałku nasiennym, jakkolwiek były spostrzegane zarazki gruźlicy w płynie nasiennym, pochodzącym z dotkniętych nią gruczołów wydzielających; zwierzęta w ten sposób spłodzone przychodziły na świat z gruźlicą (Landouzy i Martin). Johnie znalazł wprawdzie w wątrobie płodu cielęcia bakterie gruźlicze, jak również Merkel i Charrin u płodu ludzkiego; najczęściej jednak przy gruźlicy odziedziczonym zostaje tylko ciałaśkład rodziców, a z nim pewne stany usposabiające pewne narządy

np. płuca do danej choroby. Zarazek, dostając się na podatną glebę rozwija się oczywiście łatwiej, niż tam, gdzie warunków do rozwoju nie posiada. Niektóre doświadczenia nad przechodzeniem zarazki z ustroju matki do płodu przytaczamy. Straus i Chamberland dowiedli, iż bakterye karbunkułowe mogą przechodzić z łożyska do płodu. Chauveau faktu tego na owcach nie mógł potwierdzić. Wolff wykonał bardzo ściśle doświadczenia nad 9-ma samicami świnek morskich i doszedł do przekonania, że fakt ten może zachodzić niezmiernie rzadko. Malvoz, który podobne próby wykonał bardzo dokładnie na stu kilkudziesięciu zwierzętach doszedł do tych samych wyników. Twierdzi on, że tylko wtedy możliwym jest przejście zarazki z łożyska na płód, gdy w łożysku istnieją pewne miejscowe uszkodzenia w postaci podbiegnięć krwi i t. p.

7. Czynniki powstrzymujące rozwój bakteryj.

W poprzednich rozdziałach omówiliśmy czynniki, które w mniejszym lub większym stopniu wpływają hamująco na rozwój drobnoustrojów. Do takich czynników należą, aczkolwiek w nieznacznej mierze, mechaniczne przyczyny, podwyższona ciepłota, światło i pewne czynniki chemiczne.

Jedną z najpierwszych przyczyn jest wyczerpanie wody i materij odżywczych. Takie wyniki spostrzegamy w hodowli płytkowej na galarecie, gdy wskutek wysychania gleby kolonia bakteryj rośnie coraz wolniej, wreszcie wysycha coraz bardziej i rośnięcie całkowicie ustaje. W próbówce w hodowli kłutej lub rysowej nie mamy tak łatwo wysychania, łatwo zaś następuje po pewnym czasie wyczerpanie materij odżywczych. Natenczas, jeśli warstwę hodowlaną zdejmujemy i posiejemy na tejże glebie też same bakterye—wzrostu nie będzie.

O wpływie ciepłoty mówiliśmy powyżej, że powoduje ona zmianę własności niektó-

rych bakteryj; granice ciepłoty przydatnej do wyrastania, wymieniliśmy również.

Hamujący wpływ światła zaznaczył Duclaux (1885) po raz pierwszy na czystych hodowlach bakteryj tyrothrix scaber. Po 1½ — 2 miesięcznem działaniu promieni słonecznych zarodniki tych bakteryj zostały zupełnie zabite; tymczasem też same zarodniki przechowane przez trzy lata w ciemności wyrastały potem w bakterye.

W ogóle Duclaux zauważył, iż zarodniki dłużej wytrzymują wpływ bezpośrednich promieni słonecznych niż bakterye. Stopień wytrzymałości jest zmiennym i zależy od gatunku bakteryj. W tymże czasie Arloing, pracując nad bakterjami węglika spostrzegł widoczny wpływ na wzrost ich nawet mocnego gazowego światła; natomiast światło to nie wywierało żadnego wpływu na jadowitość tych bakteryj. Formowanie zarodników następowało silniej w czerwonej i żółtej części widma niż w błękitnej i fioletowej.

Następnie Duclaux stwierdził zabójcze działanie światła na pewne gatunki chorobotwórczych ziarników. Ginęły one prędzej niż laseczniki. Wtedy już Duclaux zaznaczył, iż światło uważać należy za najtańszy i najlepszy sposób niszczenia drobnoustrojów.

Dalej znów Arloing zaznaczył, że światło słoneczne zabija zarodniki bakteryj węglika po dwóch godzinach; rozumiemy tutaj bezpośrednie promienie słoneczne, światło rozproszone bowiem okazuje wpływ bardzo nieznaczny. Światło działa tem szybciej im warstwa hodowlana jest cieńszą.

Praca Roux zmniejszyła wprawdzie bardzo znaczenie wymienionych badań, wynikiem jej jednak było zaznaczenie, iż światło w istocie wpływa hamująco na rozwój drobnoustrojów. Roux zaznaczył, iż wielkie znaczenie przy wystawieniu na działanie słońca odegrywa powietrze, a właściwie tlen, oraz nie jest bez znaczenia, w jakiej glebie wystawione zostały bakterye na dzia-

łanie słońca. Bulion używany przez wyżej wymienionych autorów zawiera łatwo utleniające się materye, które pod wpływem światła działają na bakterye i zarodniki nadmiarem słabo połączonego tlenu.

Jeżeli zmniejszenie ilości wody od 60 — 70% wpływa hamująco na rozwój bakteryj, to zupełny jej brak szybko niszczy bakterye w formie wegietacyjnej, nie naruszając jednak zarodników. W ten sposób możemy nawet odróżnić, które bakterye wytwarzają zarodniki, które zaś nie. Bakterye bez zarodników zostają przez jednokrotne wysuszenie zabite, podczas gdy zarodniki pozostają do rozwoju i nadal zdolne. Pomiędzy zarodnikami różnych gatunków zachodzą jednak pod tym względem dość znaczne różnice. Najłatwiej ulegają wysuszeniu różne rodzaje krętków (spirylli) i niektórych ziarników (kokków).

Najsilniejszy wpływ zabójczy na różne drobnoustroje wywiera ciepłota podwyższona, gdy tymczasem najniższe stopnie sztucznie otrzymanej ciepłoty wogóle nie wpływają w sposób widoczny. Wpływ podwyższonej ciepłoty zależy: 1) od czasu działania, 2) od stopnia ciepłoty, 3) od stopnia wilgoci zawartej w ogrzaniem powietrzu, 4) od obecności lub braku zarodników.

Im krócej działa podwyższona ciepłota, tem stopień jej musi być wyższy. Bakterye nie zawierające zarodników zostają zabite w płynach już przy 48—60 C. Bakterye, zawierające zarodniki, jak już wiemy, mogą być zabite przez taki stopień ciepłoty tylko przy kilkakrotnem powtórzeniu ogrzewania, ponieważ w przerwach pomiędzy ogrzewaniem jednym a drugim zarodniki wyrastają w bakterye, a te zostają zabite jako takie. Po 4—5 krotnem ogrzaniu w płynie takim nie pozostanie ani jeden zarodnik. Sucha ciepłota musi posiadać znaczny stopień ciepłoty, ażeby wywrzeć wpływ zabójczy na zarodniki nawet pleśniowe. Ogrzane do 120 w ciągu pół godziny zarodniki *aspergillus niger* nie

zostają w zupełności zabite. Zarodniki *penicillum* są nieco mniej odporne.

Zarodniki bakteryj są jednak pod tym względem najodporniejsze; niektóre ich gatunki, znajduwane w ziemi wytrzymują godzinę trwającą ogrzewanie do 150°. Nieco mniej odporne są zarodniki bakteryj siennej, te przetrzymują 130° w ciągu tegoż czasu. Jeszcze mniej odporności posiadają zarodniki bakteryj gruzliczych, a najmniej zarodniki bakteryj węglikowych. Inaczej oddziaływa wilgotne ciepło. Para wodna działając w ciągu godziny przy 100 C° zabija zarodniki wszystkich znanych bakteryj. Potrzeba jednak, ażeby to była czysta para wodna, nie zaś para z powietrzem zmieszana, która działa znacznie słabiej. Przyrząd w tym celu zbudowany przez Kocha opisaliśmy powyżej.

Niektóre substancje chemiczne wpływają na drobnoustroje szkodliwie. Przeważnie oddziałują w ten sposób sole metaliczne, ogólnie dla życia zwierzęcego i roślinnego szkodliwe. Stopień działania zależy od jakości użytej do działania substancji i od stężenia roztworu. I tutaj widoczną jest różnica zachodząca w działaniu na bakterye w postaci wegietacyjnej i na zarodniki. Fenol działa już w roztworze 0,25 do 0,5%. 1% kwas siarczany zabija je już po 5—15 minutach. Podobnie działają inne słabe nawet środki dezynfekcyjne. Do użytku dezynfekcyjnego należy jednak wartość środka sądzić głównie według tego, czy i jak szybko zabija on drobnoustroje w postaci form trwałych, zarodnikowych.

Badania Kocha, wykonane nad bakteryami węglikowymi dały wyniki następujące:

	powstrzymuje rozwój w roztworze.	zupełnie zatrzymuje rozwój w roztworze.
chlornik rtęci (sublimat)	1:1600000	1:300000
olejek gorczyczny	1: 330000	1: 33000
alkohol allylowy	1: 167000	—
arsenian potasu	1: 100000	1: 10000
tymol	1: 80000	—
olejek terpentynowy	1: 75000	—

kwask pruski	1:	40000	1:	8000
olejek miętowy	1:	33000	—	
„ goździkowy	1:	5000	—	
mydło potasowe	1:	5000	1:	1000
jod	1:	5000	—	
kwask salicylowy	1:	3300	1:	1500
kamfora	1:	2500	1:	1250
kwask solny	1:	2500	1:	1700
„ benzoesowy	1:	2000		
brom }				
chlor }	1:	1500	—	
nadmandganiau potasu	1:	1400	—	
fenol (kw. karbolowy)	1:	1250	1:	850
kwask borny	1:	1250	1:	800
chinina	1:	830	1:	625
będźwianiau sodowy	1:	200	—	
alkohol	1:	100	1:	125
sól kuchenna	1:	64	—	

Kalomel silnie powstrzymuje gnicię i sprawy fermentacyjne w kiszkaeh, nie niszcząc jednocześnie działania fermentów trawiennych. Kwasy organiczne z szeregu tłuszczowych, cytrynowy, mrówkowy, również powstrzymują gnicię. Dwutlenek wodoru (woda utleniona) i ozon według Bert'a, Regnard'a i Chappuis również wpływają powstrzymująco; próby jednak wykonane w tym kierunku nie posiadają dostatecznej ścisłości.

Poszukiwania nad zarodnikami bakterij węglikowych wykonane przez Koch'a wykazały iż: woda, alkohol, chloroform, gliceryna, benzol, 5% kwas salicylowy, 5% tymol, amoniak, alun, stężone roztwory różnych soli, 5% rozczyu boraksu, i 2% mydło potasowe nie wywierają na nie żadnego działania.

Słabe lub niezupełne działanie wywierają: eter (zabija po 30 dniach), 1% rozczyu jodu (po 5 dniach niezupełnie zabija), 2% kwas solny (po 10 dniach), 5% siarczan miedzi (niezupełnie po 5 dniach), stężony rozczyu kwasu bornego (niezupełnie po 6 dniach) 0,1% kwasu arsenawego (zupełnie po 10 dniach), kwas mrówkowy (po 4 dniach), 1% chininy z kwasem solnym (zupełnie po 10

dniach) olejek terpentynowy (po 5 dniach); chlorek wapna (po 5 dniach).

Szybkie i zupełne działanie wywierają: woda chlorowa, 2% rozczyu bromu, woda jodowa, 1% kwas osmowy, 5% nadmanganian potasowy 1:20000 rozczyu sublimatu—zabijają one zarodniki węglika po 1 dniu.

Fenol w 5% wodnym rozczyu zabija zarodniki po 1 dniu. W oleju i alkoholu nie działa.

Gärtner i Plagge wykonali próby w celu przekonania się, jakie środki używane przez chirurgów wywierają najbardziej dezynfekujące działanie. Wszystkie bakterie ropne, b. węglikowe, nosaciznowe, błonicowe, tyfusowe—zabite zostają w ciągu 8 sekund działaniem 0,1% sublimatu i 3% rozczyu wodnego fenolu.

Używane dawniej wykazania różnego rodzaju substancjami: kwasem siarkawym, octem i t. p. zupełnie nie prowadzą do zachęcających wyników. Ażeby np. osiągnąć niezupełną dezynfekcyę użyć należy 10% na objętość kwasu siarkawego i działać w ciągu 8 godzin. Przedmioty o znacznej spójności (materace) ulegają natenczas tylko powierzchownej dezynfekcyi. Chlor działa lepiej, mianowicie wtedy, gdy przedmioty mające uledeż dezynfekcyi są wilgotne.

Do zupełnego zniszczenia wszystkich zarodników potrzeba 0,3% objętości chloru w ciągu 3 godzin. W celu takiej dezynfekcyi na pół funta podchloranu wapna użyć należy około funta kwasu solnego na 1 metr sześcienny.

Najlepszymi środkami dezynfekcyjnymi, jak się z prób dotychczasowych okazało, są: rozczyu sublimatu i para wodna do 100 C. ogrzana. 1‰ (jeden na tysiąc), rozczyu sublimatu może być użyty bez obawy do obmywania rąk, narzędzi i mniejszych przedmiotów, osobliwie jeżeli jest zakwaszony również 1 lub 2‰ kwasu solnego. Taki kwaśny rozczyu działa dobrze mianowicie wobec obfitości ciał białkowatych i materyj organicznych, które z sublima-

tem dają nierozpuszczalne kłaczkę przenikliwe dla kwasu (np. plwocina gruzli-
cza). Do dezynfekcyi większych przedmio-
tów, sprzętów, odzieży i pomieszków su-
blimatu używać nie należy, gdyż może on od-
działywać szkodliwie na zdrowie. Również
niekorzystnem bywa użycie jego w postaci
rozpyłań do oczyszczania powietrza. W tych
razach należy użyć albo gorącej pary wo-
dnej, albo gorącej wody z dodatkiem 5%
fenolu, lub wreszcie, co się tyczy pomie-
szków, dać jak największy przystęp świa-
tłu i powietrzu, które, o ile sądzić można
z powyżej wzmiankowanych doświadczeń,
w stosunkowo niedługim czasie działanie
pożyteczne wywierają.

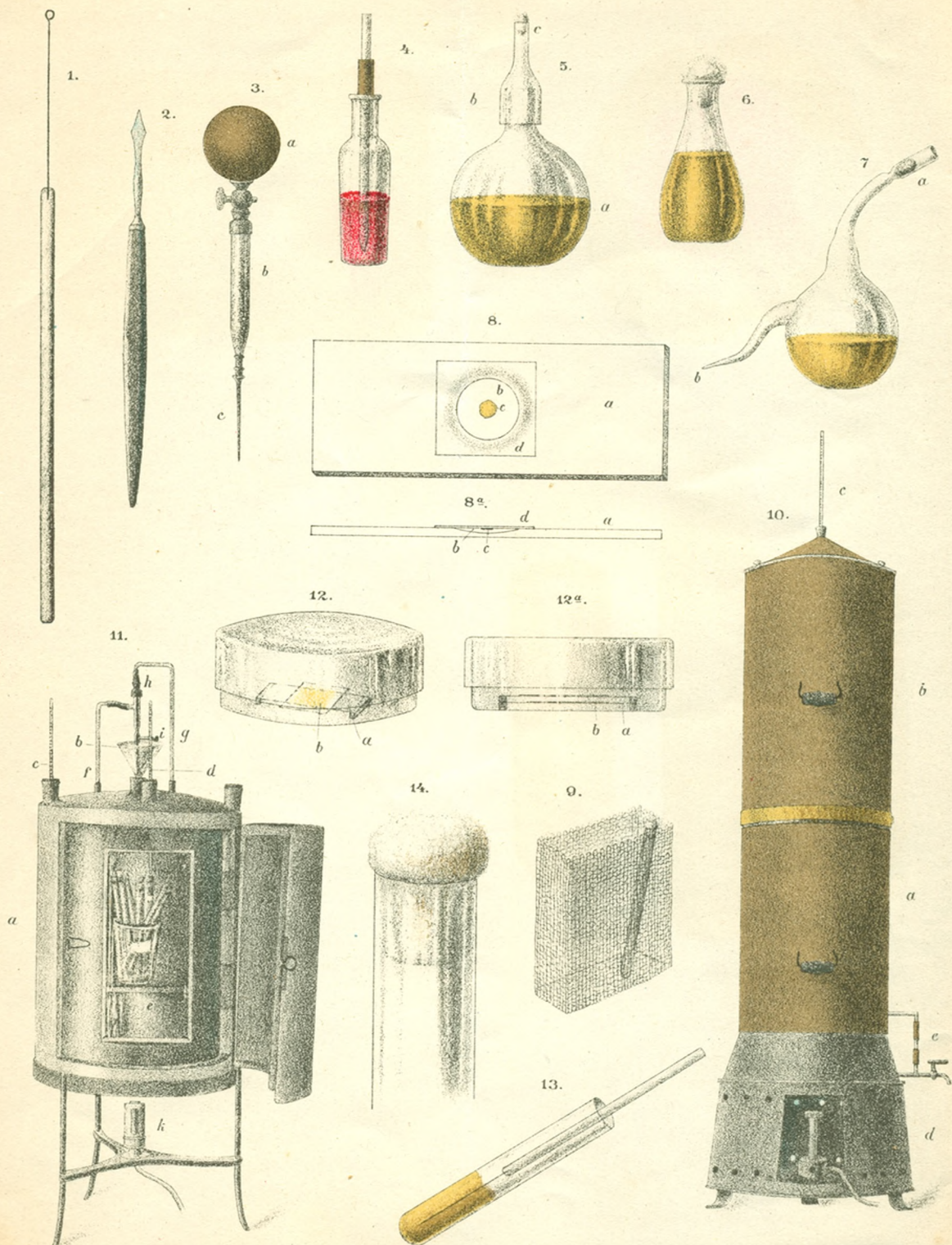
Szczegółowiej o dezynfekcyi powiemy po
rozpatrzeniu różnych gatunków drobnou-
strojów.

Podręczniki i literatura ogólna.

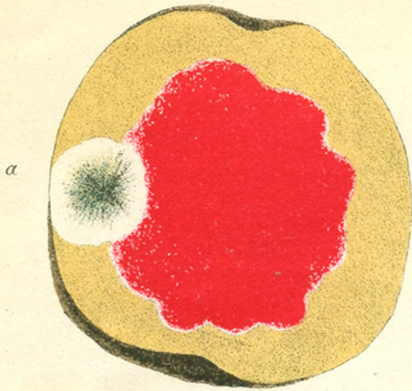
- Hueppe*. Die formen der Bacterien. 1886.
" Die Methoden der Bacterienfor-
schung III wyd. 1889.
Loeffler. Vorlesungen über die geschichtliche
Entwicklung der Lehre von den Bacterien.
Cz. I. 1888.
Koch. Die Wundinfectionskrankheiten. 1878.
Flügge. Die Microorganismen. 1886.
Pasteur. Etudes sur la bière. 1876.
Baumgarten. Lehrbuch der pathologischen
Mycologie. 1888.
Zopf. Die Spaltpilze. 1883.
Duclaux. Le microbe et la maladie. 1886.

- Duclaux*. Chimie biologique. 1883.
Cornil et Babes. Les bactéries. 1886.
Hoyer. O barwieniu grzybków chorobo-
twórczych. Odb. z Gaz. Lek. 1886.
Jakowski. Grzybki chorobotwórcze. Odb.
z Gaz. Lek. 1887.
Natanson J. Świat istot najdrobniejszych.
Odb. z Wszechświata. 1886.
Annales de l'Institut Pasteur. 1886/9.
Centralblatt für Bacteriologie. 1887/9.
Raum J. O wpływie światła na bakterye.
Zdrowie. 1889.
Hansen. Comptes rendus du laboratoire de
Carlsberg. 1887.
Jørgensen. Die Microorganismen der Gäh-
rungsindustrie. 1888.
Prażmowski. O znaczeniu brodawek ko-
rzeniowych grochu. Odb. z Pam. Akad.
Umiej. w Krak. 1889.
Nencki. O rozkładzie białka pod wpły-
wem anaerobów. Gaz. Lek. 1889.
Chauveau. Comptes Rendus de l'Acad. d.
sc. 1889 t. CIX.
Wysokowicz. Ueber die Schicksale der
ins Blut injicirten Microorganismen. Zeitschr.
für Hygiene. 1886.
Sahli. Ueber die modernen Gesichtspunkte
in der Pathologie der Infectionskrankheiten.
1888.
Miecznikow. Biologisches Centralblatt
1883/4. Virchows Archiv. 1886/7.
Fraenkel. Grundriss der Bacterienkunde.
1886.
Brieger. Untersuchungen über Ptomaine.
1885/6.

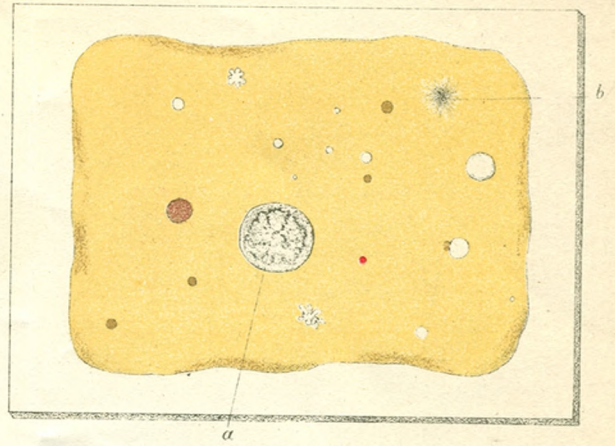
KONIEC CZĘŚCI OGÓLNEJ.



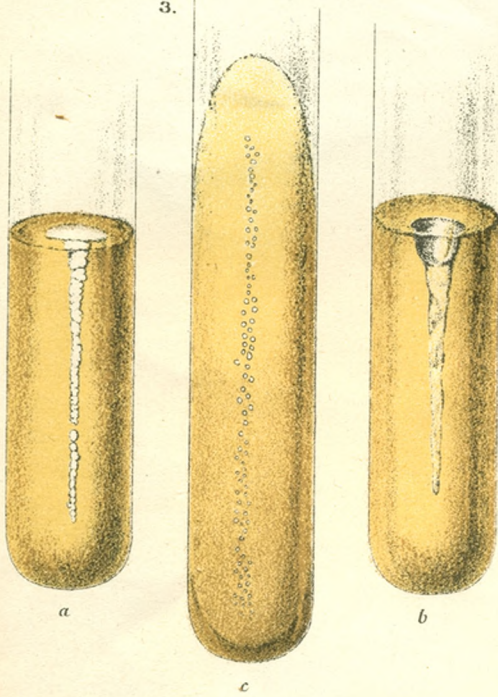
1.



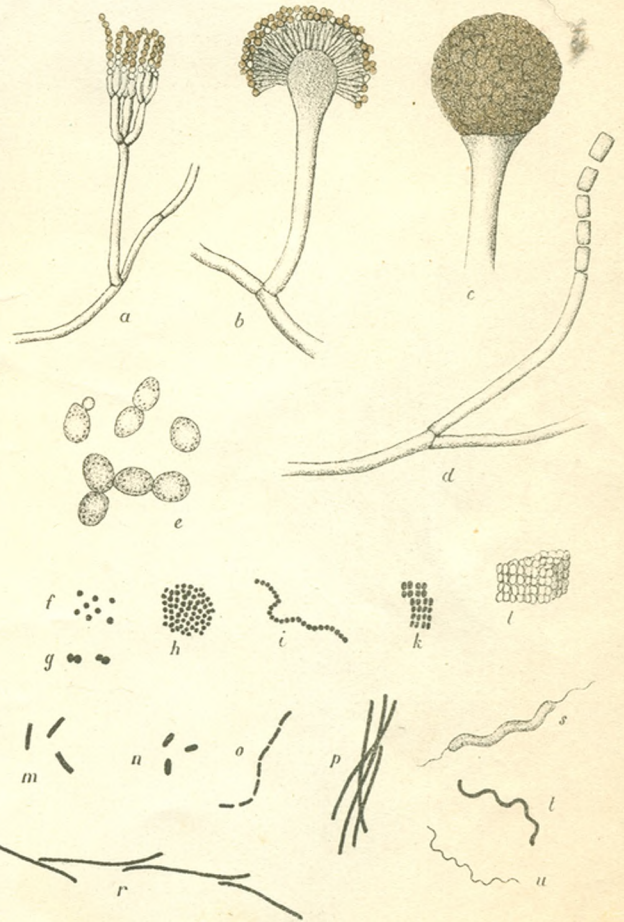
2.



3.



4.



5.



Objaśnienia do tablic.

T A B L I C A I.

1. Igła platynowa kółkiem zakończona do szczepień i przenoszenia hodowli na różne gleby. $\frac{2}{3}$ wielk. natur.

2. Igła płaska do szczepień zwierzętom cząstek hodowli pod skórę, do komory oka i t. p. dwie takie igły służą do rozcinania włókien płwociny przy jej badaniu.

3. Strzykawka Koch'a do zastrzykiwania płynów z roztartą w nich hodowlą pod skórę, do otrzewnej i t. p. zwierzętom, a) balonik gumowy z drobnym otworkiem u góry; b) rurka szklana, c) igielka. $\frac{1}{2}$ w. nat.

4. Flaszeczka do rozcieńczonych alkoholowych roztworów barwnika. $\frac{1}{3}$ w. nat.

5. Balonik Pasteur'a do przechowywania wyjałowionych płynów i do hodowli; a) ilość płynu z hodowlą; b) zdejmowany szklany dziobek z doszlifowaną powierzchnią do szyjki balonika; c) watowa zatyczka. $\frac{1}{3}$ w. nat.

6. Kolbka piramidalna Erlenmeyer'a do tegoż użytku, wypełniona galaretą lub bulionem do wysokości maksymalnej w celu przechowania zapasu pożywki. $\frac{1}{3}$ nat. w.

7. Kolbka Pasteur'a do rozlewania wyjałowionych płynów;—a) zatyczka watowa,—b) zatopiony koniec, który się odłamuje w razie potrzeby nalania płynu, poczem znów zatopionym zostaje. $\frac{1}{3}$ w. nat.

8—8a. Hodowla w wilgotnej przestrzeni (metoda A. Prażmowskiego zmieniona przez Koch'a);—a) szkiełko przedmiotowe z zagłębieniem,—b) przykrywka u dołu którego

wisi kropelka płynu z hodowlą; c—d) delikatna warstewka waseliny w koło zagłębienia w szkiełku przedmiotowym.

9. Koszyk drucziany do wyjaławiania probówek w parowarze. $\frac{1}{5}$ w. nat.

10. Parowar Kocha.—a) pojedynczy cylinder obłożony wojłokiem do zwykłych wyjaławiania;—b) nadstawa do wyjaławiania długich rur i wysokich przedmiotów;—c) termometr do 100 C°;—d) blaszana podstawa pod którą umieszcza się lampka gazowa większa;—e) wodoskaz— $\frac{1}{20}$ w. nat.

11. Ogrzewnik czyli termostat Berent'a. a) skrzynka o podwójnych ścianach wypełniona wodą o 37°C zapomocą lejka umieszczonego w górze—b—c) termometr wskazujący ciepłotę wody;—d) termometr wskazujący ciepłotę wewnętrzną skrzynki, od przodu zamkniętej drzwiczkami z szklaną szybą—e i drugimi blaszanymi;—f) rurka doprowadzająca gaz;—g) rurka prowadząca gaz do lampki k z regulatora, którego zbiorniczek wypełniony rtęcią zanurzony w wodzie pomiędzy ścianami skrzynki;—h) ruchoma na śrubie rurka, której dolny koniec prawie dotyka powierzchni słupa rtęci;—i) śróbka służąca do zregulowania wysokości płomienia lampki k. $\frac{1}{8}$ wielkości naturalnej.

12—12a. Klosze szklane do umieszczania hodowli na płytkach;—a) podstawki;—b) płytki z hodowlami. $\frac{1}{6}$ w. nat.

13. Sposób trzymania probówki przy zaszczeniu hodowli klutej; probówka pochyło

umieszczona pomiędzy pierwszym i trzecim palcami ręki lewej, watowa zatyczka trzymana pomiędzy palcami czwartym i trzecim ręki prawej, drucik z hodowlą przenoszona pomiędzy pierwszym i drugim palcami ręki prawej.

14. Koniec probówki z wyjąłowioną do lekkiego zbrunatnienia watową zatyczką.

T A B L I C A II.

1. Hodowla bac. prodigiosus na kartoflu; a) kolonia pleśni spadła z powietrza podczas szczepienia. Wielk. natur.

2. Hodowla płytkowa na galarecie żelatynowej pokryta koloniami bakteryj z powietrza.—b pleśń;—a) kolonia rozpuszczająca galaretę. $\frac{2}{3}$ wielk. nat.

3. Probówki z hodowlami na galarecie żelatynowej.—a) hodowla 3-dniowa bakteryj zapalenia płuc (Friedländer'a);—b) hodowla

5-dniowa bakteryj cholery azyatyckiej;—c) hodowla rysowa paciorkowca róży (Strept. erysipelatis) na powierzchni pochyło skrzelnej galarety. Wielk. nat.

4. a)—Penicillum;—b) aspergillus;—c) mucor;—d) oidium;—e) drożdże; kształty bakteryj;—f) ziarniki (mikrokoki);—g) ziarniki podwójne (diplokoki);—h) skupienie (zooglea);—i) paciorkowiec (streptokok);—k) ziarnik czwórkowy (mikr. tetragenus) podzielność w dwóch wymiarach;—l) sześcianka—sarcina (podzielność w trzech wymiarach);—m) lasecznik (bacillus);—n) laseczka (bacterium); o) laseczniki łańcuszkowe (strepto bacillus); p) włoskowiec (leptothrix);—r) cladotrix; s) krętek (vibrio);—t) spirillum;—u) spirochaete (powiększenie 300—800).

5. Drobną tętniczka mózgową z bakteriami gruźliczemi (zabarwienie metodą Ehrlich'a—preparat własny).

SPIS RZECZY.



	str.
Wstęp	1
I. Krótki historyczny pogląd na rozwój nauki o drobnoustrojach.	
1. Pierwsze spostrzeżenia	3
2. Samorodztwo, jego zwolennicy i przeciwnicy.	4
3. Pierwsze próby klasyfikacyi. — Dalszy rozwój nauki o bakterjach	7
4. Prace Pasteura nad fermentacją i gniciem. — Zarzuty Béchamp'a. — Spostrzeżenia Lemaire'a. — Wystąpienie Listera. — Odkrycie bakteryj karbunkułu	10
5. Dalsze poszukiwania nad zarazkiem żywym chorób zarazkowych. — Wielokształtność grzybów i zmienność ich w zależności od podłoża. — Metody hodowli Hallier'a i jego poszukiwania. — Poglądy przeciwne.	14
6. Dalsze doświadczenia nad contagium animalium, pierwsze próby nad produktami bakteryj. — Poszukiwania anatomo-patologiczne. — Doświadczenia Klebs'a. — Teorya Hüter'a	17
7. Fakta potwierdzające różno gatunkowość drobnoustrojów. — Hodowle Schroeter'a na stałych podłożach. — Klasyfikacya Cohn'a i jego badania nad biologią bakteryj i ich własnościami fizyologicznymi	20
8. Zarzuty przeciwko układowi Cohna. — Microbacteria, microsporina, monadina Klebsa — jego uznanie dla układu Cohna: micrococcus variolae i vaccinae Klebsa. — Bacillus malariae, b. typhi, b. diphtheritidis. —	

	str.
Poszukiwania Listera nad wpływem podłoża na kształt i własności bakteryj. — Podobieństwo gonidyów erenothrix do bakteryj.	25
9. Coccobacteria septica Billrotha. — Stosunek do chorób zakaźnych. — Poglądy Virchow'a przeciwne teorii Billrotha. — Dalsze prace Cohna. — Odkrycie Obermeier'a. — Odkrycie zarodników przez Cohn'a	28
10. Koch udowadnia doświadczalnie istnienie przyczynowego związku karbunkułu z bacillus anthracis. — Zaprzeczenie Paul Bert'a i potwierdzenie spostrzeżeń Koch'a przez Pasteur'a: odkrycie „vibron septique.“	33

II. Badanie drobnoustrojów.

1. Uwagi ogólne. — Wygląd pleśni, drożdży i bakteryj. — Badanie wstępne za pomocą mikroskopu bakteryj żywych i zabarwionych. — Barwienie na szkiełku	36
2. Barwniki i ich przygotowanie.	40
3. Badanie żywych drobnoustrojów w wilgotnej przestrzeni. — Szczepienie próbne zwierzętom, obchodzenie się z szczepionkami, przyrządami i zwierzętami	44
4. Sekcyja zwierzęcia. — Przyrządzanie i badanie skrawków. — Metody barwienia pojedyncze, podwójne i złożone. — Mikrotom. — Mikroskop i inne pomocnicze przyrządy	49
5. Badanie i utrwalanie bakteryj za pomocą fotografii, opis przyrządu fotograficznego Zeiss'a, oraz wykonanie fotografii mikroskopowej	61

III. Hodowanie bakteryj.		<i>str.</i>
1. Uwagi ogólne.—Cel hodowania.—Hodowle rozdzielne (fractionirte) Pasteur'a i Klebsa.—Hodowle na podłożach stałych i ich przewaga nad hodowlami w płynach.—Płyny hodowlane	67	
2. Wyjaławianie czyli sterylizacya.—Przyrządy używane do wyjaławiania: Koch'a i Pasteur'a.—Zasady wyjaławiania i jego wykonanie, filtrowanie przez ciała porowate: filtr Chamberland'a.—Wyjaławianie i dezynfekcyja naczyń i przyrządów	70	
3. Różne gleby stałe: kartofle, galareta odżywcza, agar-agar, ścięta surowica, chleb, jaja i inne.	75	
4. Przyrządzanie czystych hodowli na płytkach i w probówkach.—Potrzebne do tego przyrządy.—Przeszczepianie.—Hodowanie w podwyższonej ciepłocie i bez tlenu	82	
IV. Biologia drobnoustrojów.		
1. Skład chemiczny pleśni, drożdży i bakteryj.—Warunki życiowe	90	
	<i>str.</i>	
2. Wpływ czynników zewnętrznych: światła, elektryczności i bodźców mechanicznych na pleśnie, drożdże i bakterye.—Wpływ ciepłoty i stopnia wilgotności.		95
3. Fermentacya i gnicie.—Saprofity i pasorzyty.—Produkta przemiany materji drobnoustrojów: gazy, ciała płynne i stałe, kwasy, związki aromatyczne, wodany węgla, peptony, barwniki, ptomainy i ich działanie		96
4. Fermenty bezustrojowe i rodzaje fermentacyi.		99
5. Chorobotwórczość.—Różnica zarazka od jadu.—Podział chorób zarazkowych.—Drogi przenikania zarazka do ustroju.—Zakażenie miejscowe i ogólne.		100
6. Odporność ustroju.—Osłabienie chorobotwórczych własności zarazków.—Odporność ustroju nabyta pod wpływem czynników naturalnych i wywołana sztucznie.—Działanie szczepień ochronnych.—Teorya fagocytyarna.—Szczepienia ospy, wąglika i wścieklizny.—Usposobienie do chorób zakaźnych i dziedziczność		104
7. Czynniki powstrzymujące rozwój bakteryj		111



DOSTRZEŻONE OMYŁKI W DRUKU.

strona	wiersz	szpalta	zamiast	ma być
2	14 od góry	1	postanowionej	postawionej
15	2 „ dołu	1	które	i
23	5 „ góry	2	μ ¹) mający 8—16	mający 8—16 μ ¹)
28	7 „ „	2	powstawają	powstają
32	1 „ „	1	zawierają	zawierające
40	22 „ „	1	(np. safraniny)	opuszczyć
41	45 „ góry	1	lub	i
47	7 „ „	2	rurkę	igłę
49	16 „ „	2	rurkę	igłę
49	21 „ dołu	1	naczynia	naczynia z wodą
50	7 „ „	1	w soku	soku
50	5 „ „	2	14	24
51	20 „ „	1	teraz	opuszczyć
62	23 „ „	1	oraz ruchem	o ruchu
68	15 „ góry	2	jaki	jaka
71	14 „ „	1	zapahowej	zapasowej
72	11 „ dołu	2	on	ono
73	10 „ „	2	zjałowienie	wyjałowienie
76	18 „ góry	1	badamy	badany
85	1 „ „	1	popelniamy	popelniany
89	8 „ „	2	obszernych w kolbach	w obszernych kolbach

Uwaga. Przy opisie fotograficznych przyrządów na str. 62 pominięto zaznaczenie, iż płytki używane do zdejmowania preparatów zabarwionych na czerwono, błękitno lub fioletowo, winny być koniecznie izochromatyczne (przyrządzone z czerwonym barwnikiem). Takie płytki otrzymać można u Schippang & Wehenkel w Berlinie oraz u Attout-Tailfer w Paryżu. Przed źródłem światła umieszcza się płyn zielony, złożony z 17,5 grm. siarczanu miedzi i 1,7 grm. dwu-chromianu potasu na 100 g. wody (Zettnow). Preparat widzieć należy czarnym na zielonem tle.

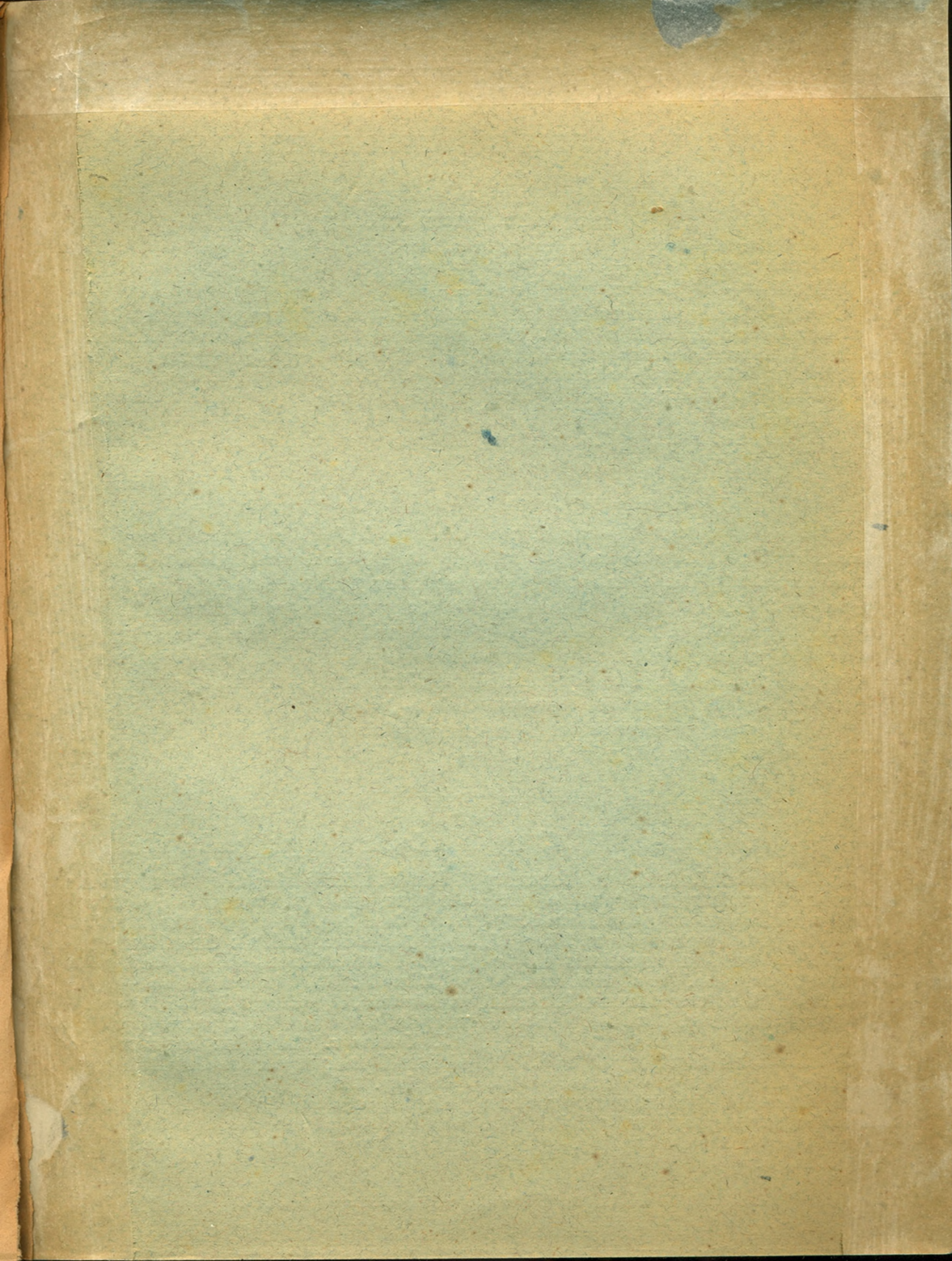
1947D 1238

990284

Bibl. Jag.

~~1947D~~







W Warszawie
Rocznie rs. 4 kop. — rs. 5 kop. — 6 flor. -10 m. 10 s. 14 fr.
Półrocznie „ 2 „ — „ 2 „ 50 3 „ 5 „ 5 „ 7 „

Cena pojedynczego numeru 45 kop.
Prenumerować najlepiej w Redakcji.
W Austrii można prenumerować w administracji Przeglądu lekarskiego w Krakowie lub u protomedyka, Dra Merunowicza (12 Piekar-

ska) we Lwowie, do którego też można składać rękopisma dla pomieszczenia w „Zdrowiu.“

W Niemczech przedpłatę przyjmuje księgarnia Żupańskiego w Poznaniu.

We Francji—księgarnia Luksemburska.

Staraniem redakcji „Zdrowia“ wyjdzie w pierwszym półroczu r. 1890.

„WYKŁAD HYGIENY“

przekład dopiero co wyszłego z pod prasy dzieła prof. *Fliigg'ego* przez D-rów *Bujwida*, *Hewelkiego* i *Łuczkiewicza* pod redakcją prof. *Łuczkiewicza*. Cena tej książki która zawierać będzie do trzydziestu arkuszy formatu większej ósemki wynosi rs. 3 kop. 50 z przesyłką rs. 4, zaś dla prenumeratorów „Zdrowia“ rs. 2, z przesyłką rs. 2 kop. 50. Będzie to pierwsze vade-mecum nowoczesnej higieny w naszym języku; ponieważ zaś na wydawnictwo to użytym zostanie fundusz po wystawie higienicznej pozostały, przeto redakcja „Zdrowia“ postanowiła sprzedawać je bez zysku, aby ułatwić szybkie rozpowszechnienie książki.

Uprasza się o wczesne zamawianie książki, albowiem pragnęlibyśmy uniknąć wydania zbytłej ilości egzemplarzy.

W Redakcji „ZDROWIA“ są do nabycia następujące książki:

B. Danielewicz. Ludność m. Warszawy w obrazach graficznych (dwanaście tablic graficznych litografowanych w kolorach. Cena rs. 1 kop. 20, z przesyłką rs. 1 kop. 35.

J. Polak. Praktyka szczepienia ospy ochronnej. Cena kop. 75, z przes. kop. 90.

J. Polak. O znaczeniu sztuki lekarskiej i o stanowisku lekarzy. Cena kop. 60, z przesyłką kop. 70.

J. Polak. „Kalendarz lekarski“ na r. 1890. Cena rs. 1 kop. 20, z przesyłką rs. 1 k. 40.

A. Malinowski. Rys historyczny rozwoju zakładów dobroczynnych w Król. Polskiam. Cena kop. 30, z przesyłką kop. 40, (odb. ze „Zdrowia.“)

Soxhlet. Mleko dla dzieci i odżywianie ssawców, przeł. St. Prauss. (odb. ze „Zdrowia“) Cena kop. 10, z przesyłką kop. 15.

W. Rakiewicz. Budowie dla celów leczniczych i opiekuńczych (część drukowana w „Zdrowiu.“ Odbitka uzupełniona—wydana kosztem „Wyst. Hyg.“ 22 tablic litografowanych). Cena kop. 40, z przes. kop. 50.

J. Kuniewicz. Jak zabezpieczyć rodziców od chorób potęgowych. Cena kop. 15, z przesyłką kop. 20.

Katalog wystawy higienicznej, z planem. cena kop. 40, z przesyłką kop. 50.

Plany wystawy oddzielne po kop. 10.