

Wydział nauk matematycznych i przyrodniczych.

Posiedzenie

z dnia 2 Grudnia 1915 r.

Rok VIII. № 9.

Obecni:

Przewodniczący Wydziału p. J. Lewiński.
Za Sekretarza p. E. Loth.

Członkowie Towarzystwa pp.: S. Dickstein, E. Flatau, Wł. Gorczyński, M. Jakowski, L. Kryński, J. Łyskowski, M. Rejchman, St. Serkowski, Wł. Smosarski, J. Sosnowski, K. Stołyhwo, St. J. Thugutt, Z. Wóycicki.

Komunikaty.

1. St. Serkowski:

Badania nad katalazą bakteryjną.

Komunikat zgłoszony dnia 6 Kwietnia 1914 r.

Od chwili spreparowania nadtlenku wodoru przez The-
nard'a (1818) i prac Schönbein'a (1861) wykonano dużo
prac nad katalazą, oraz nieorganicznymi koloidalnymi katalaza-
torami, posiadającymi własność rozkładania H_2O_2 na tlen i wo-
dę. Pierwszy udowodnił istnienie tych fermentów Jacobson
(1892), a wyosobnił w stanie czystym i nazwał katalazą Loew

Sprawozdania Tow. Nauk. Warsz. Rok VIII, 1915. Zeszyt 9.

1

(1900 — 1901). Ten ferment znajduje się w żywych tkankach, zwierzęcych narządach, płynach i wydzielinach ustroju (choć rola katalazy w tkankach nie jest jeszcze dostatecznie wyjaśniona), wreszcie w świecie roślinnym — od osobników wysokoorganizowanych aż do najmniejszych drobnoustrojów.

Nad katalazą bakteryjną dotychczas mamy niewiele badań ścisłych¹⁾, mianowicie Sieber'owej, Gottstein'a, Loewenstein'a, Jorns'a i Rywosz'ów, a nad katalazą w mleku Lobeck'a. Znacznie więcej prac poświęcono badaniom nad katalazą w surowicy krwi, wydzielinach i tkankach. N. Sieber'owa badała (1912) wpływ H_2O_2 na różne substancje — kazeinę, heminę, włosy i na laseczniki gruźlicze. Tych ostatnich doświadczeń wykonała z górną sto, modyfikując je, co do ilości obydwóch składników (H_2O_2 i TBC), t^o, czasu oddziaływania i t. d. Autorce chodziło o hydro- i katalityczne działanie H_2O_2 na laseczniki TBC pod ciśnieniem 3—6 atmosfer i t^o do 160° C. w ciągu 2 godzin. Pozostałość w kolbie (osad i przesącz) podlegała następnie badaniu chemicznemu.

Co do prac nad bakteryjnymi katalazami, to ogólny wniosek z tych badań ma więcej jakościowe, niż ilościowe znaczenie: w kilku opublikowanych pracach stwierdzono mianowicie niejako ogólne prawo, że bakteryjna katalaza rozszczepia H_2O_2 . Nawet w pracach Jorns'a i Rywosz'ów brano pod uwagę wysuszone masy bakteryjne wagowo i stwierdzono, że 1 mg. bakterij suchych wytwarza od 0.1 do 0.2 ctm. sz. tlenu. Pomimo zbadania przez nich kilkunastu szczepów, różnice były niezmiernie drobne (w granicach omyłek metodycznych), przeważnie zaś poprzestano na określeniach jakościowych w wyrazach „duży rozkład“, „średni“, „nieznaczny“ i t. p. (por. Jorns, l. c. str. 156 — 157).

¹⁾ Percy Waentig u. Otto Steche. Ueber die fermentative Hydroperoxydzersehung. Zeitschr. f. phys. Chem. 1912, t. 83, str. 315 i t. 79, str. 446.

N. Sieber. Wasserstoffhyperoxyd als hydrolysierendes Princip. Z. f. hys. Chem. 1912, t. 81, str. 185.

A. Jorns. Ueber Bakterienkatalase, Arch. f. Hygiene 1908, t. 67, 2 z, str. 134.

E. Seligman. Ueber den Einfluss einiger Aldehyde auf die Oxydationsfermente der Milch. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., 1905, t. 50, str. 97.

Nie stwierdzono jednak zgoła, czy i które mianowicie gatunki bakteryj zawierają w stanie żywym, w hodowlach katalazę, czy ilości te są stałe, jakie przyczyny mogą powodować ich przyrost lub ubytek, czy są ściśle związane z ciałami komórkowymi, czy też mogą znajdować się w wytworach wydzielniczych (endo- i ectokatalaza). W r. 1893 Gottstein stwierdził, że H_2O_2 rozkłada się przez żywe, lecz nie przez martwe bakterye, że własność katalityczna różnych gatunków bakteryj nie jest jednakową, i wreszcie że działanie to zależy nie od fermentów, lecz od związków nukleinowych. Loewenstein rozszerzył krąg wiadomości, wskazując, że właściwością rozkładu H_2O_2 cechują się nietylko komórki bakteryjne, lecz i przesącze z hodowli. D. i M. Rywoszowie porównawczo zbadali około 20 gatunków bakteryj, stosując metodę wagową do oznaczania mas bakteryjnych, powodujących rozkład H_2O_2 . Według nich, beztlenowe działają znacznie słabiej od tlenowców. Na niejednakowe zdolności rozkładowe względem H_2O_2 wskazał też Jensen, który głównie badał bakterye i drożdżaki w mleku. Obszerniej doświadczenia wykonane były przez Jorns'a, który zbadał jakościowo około 90 gatunków i stwierdził, że, z małemi wyjątkami (*bac. vulgatus*, *bac. mallei*), wszystkie bakterye posiadają zdolność rozszczepiania H_2O_2 , choć nie w jednakowym stopniu.

Z powyższych cytat jest wyjaśniony, sędzę, dostatecznie cel szczegółowych doświadczeń nad katalazą bakteryjną i dążenie do podziału masy gatunków bakteryjnych na kilka kategorii pod względem siły katalatycznej, nawet dążenie do różnicowania poszczególnych gatunków każdej kategorii. Szereg doświadczeń wstępnych miał na celu próby metodyczne. Początkowo zastosowałem przyrząd Lobeck'a do katalazy w mleku, umożliwiającą otrzymanie nie więcej nad 10 ctm. sz. gazu. Cyfry oznaczają ilość centymetrów sz. 0, wydzielanych przez 10 ctm. sz. mleka lub hodowli bulionowej + 5 ctm. sz. 1% H_2O_2 Merck'a.

Jeżeli przy dalszych badaniach potwierdzi się, że streptokokki dają 0 katalazy, to upadnie przez to pogląd Lobeck'a, jakoby wyższe cyfry otrzymywane w jego przyrządzie, mogły wskazywać na pochodzenie mleka od krów chorych na mastitis „streptococcica“.

TABLICA I.

Mleko (po upływie 48 go- dzin od zaszczepienia)	kwasowość (stopnie Thörnera)	katalaza (2 godzin obserwacya)	Bulion (po upływie 15—18 godzin od zaszczepienia)	katalaza (2 godzin obserwacya)
B. coli com.	71°	3	b. coli com.	7
b. pyocyaneus	30°	>10	b. pyocyaneus	>10
streptococci	17°	0	streptococci	0
staphyl. aurei	29°	>10	staphyl. aurei	>10
bac. enteritidis Gaertneri	27°	3.5	bac. enteritidis Gaertneri	3.5
mleko jałowe (kontrola)	17°	0	bulion jałowy (kontrola)	0

W dalszym ciągu nad mlekiem jałowem wykonałem następujące doświadczenia:

TABLICA II.

	katalaza (2 godzin obserwacya)
Mleko surowe zaraz po dostarczeniu	2.5
„ to samo, po przegotowaniu	0
„ surowe. po 6 godz. przy 37° C.	2.5
„ „ z dodat. kilku uszek staph. aur. po 6 godzinach.	8.0!
„ jałowe, szczepione hodowl., badane po 15 godzinach (37°):	
b. coli com.	3.5
b. pyocyaneus	>10
streptoc. pyog.	0
staphylococci aurei	>10
„bac. Halton“ (zatrucia mięsnego)	1.5

Już te pierwsze próby dały mi pewną wskazówkę, że ilość wydzielanego gazu zależy głównie od gatunku bakteryi, a w mniejszym stopniu od innych czynników (czas hodowli, rodzaj podło-

za), i że niektóre gatunki, jak np. staphylococci aurei i bac. pyocyaneus produkują szybko i tak dużo gazu, że zachodzi potrzeba uprzedniego rozcieńczenia hodowli lub użycia innego przyrządu (eudiometru) — analogicznie do oznaczania cukru w sacharometrach przy dużej % glukozy.

Postanowiłem więc w dalszym ciągu zbadać następujące warunki, zanim przejdę do właściwego tematu pracy:

1) czy caeteris paribus zachowują się niejednakowo wobec p.-k. (próby na katalazę) gatunki bakteryj, należące do tejże samej grupy bakteryj (t. j. chorobotwórcze i analogiczne saprofity);

2) jak się zachowują wobec p.-k. wydzieliny ludzkie normalne i patologiczne, ropa, płyn mózgowo-rdzeniowy, surowica, surowice swoiste (przeciwciała) + antigen etc.;

3) zbadać optimum koncentracji H_2O_2 do p.-k.;

4) jakie warunki są niezbędne w celu otrzymania stałych norm p.-k. pod względem rodzaju podłoża, czasu obserwacji, t^0 , ilości bakteryj (gęstości zawiesin) etc.

TABLICA III.

H_2O_2 Merck		H_2O_2 Spiess
20 ^h	b. typhi abd.	1.8
24 ^h	b. coli com.	8
	b. pyocyaneus	37
	staphyloc. aur.	23
	sarcina flava	4
	micr. tetrag. ruber	2
		13.5!

O ile wzrost jest słabszy (24^h przy pokoj. t^0), to

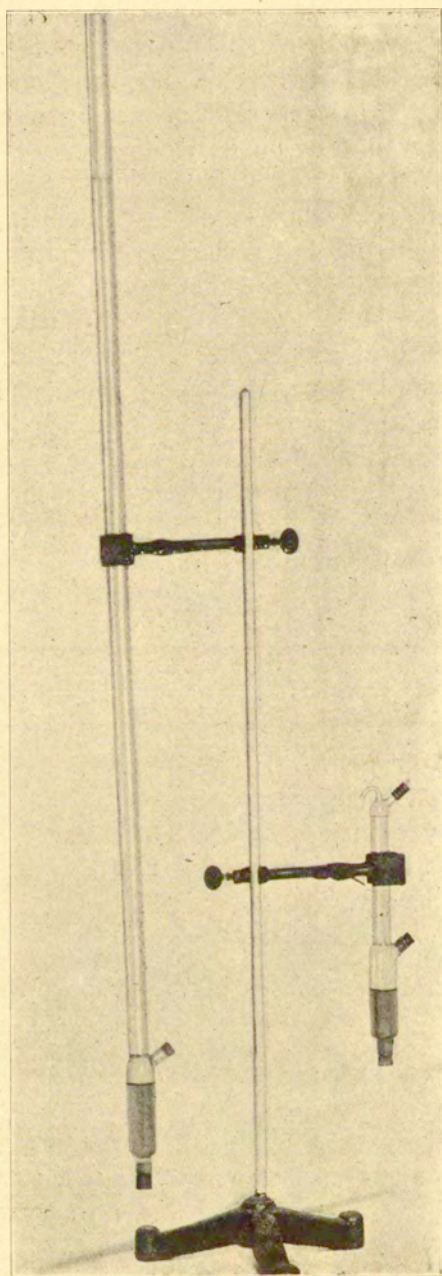
p.-k. w mleku:

staphyl. aureus	8.5
b. coli com.	4
b. pyocyaneus	6.5
b. zatrucia mięsnego	2.0

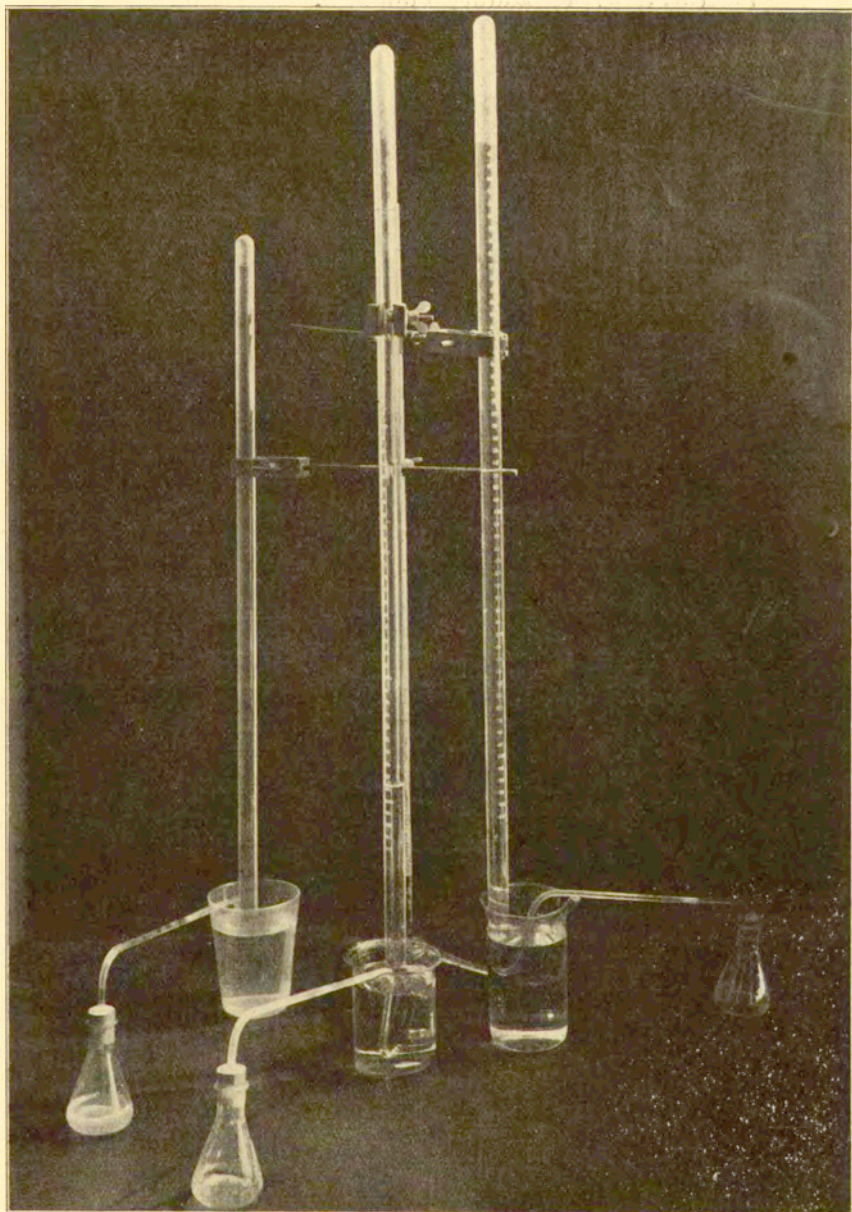
6-godzinne hodowle bulionowe dają:

w bulionie:

b. typhi abdom.	1.0
b. coli com.	4.0



Fot. 1.



Fot. 2.

Po 15^h w 37° C. kultury bulionowe:

	w bulionie:
gronkowcowe, wyosobnione z mleka	9.25
staphyloc. aureus (№ 13)	7.5
„ „ (№ 81)	0
„ „ (№ 24)	0.5
micr. tetragenus ruber	7
„ „ albus	10

• Po 18 ^h przy 37° C. w bulionie:	
staphylococ. aureus (N 97)	10
staphylococ. aureus (N 81)	10
b. pyocyaneus w zwykłym bul.	10
„ „ w cukrowym „	0.5
„ „ w gliceryn. „	10
b. coli com.	7
b. zatrucia mięsnego	3.5

Po 24 godzinach 37° C.	p.-k.
b. pyocyaneus w bul. zwykłym	31
„ „ cukrowym	8
„ „ gliceryn.	6.5
przesącz 24 godz. hodowli bul. b. pyo- cyaneus przez świecę Berkefelda	0!

Aby umożliwić obliczanie k. powyżej 10, poleciłem firmie Hegershoff'a w Lipsku zmienić w katalazatorze Lobeck'a długość rurki z 10 na 100 ct. Do ilości oznaczeń katalazy używałem wydłużonych katalazatorów Lobeck'a i zwykłych eudiometrów (równocześnie 3 aparaty dla głównego doświadczenia i dwa kontrolowe) — o ile dane bakterje zawierają mało katalazy, lub też eudiometru połączonego z kolbką, zawierającą mieszaninę kultury z H₂ O₂ przy dużej zawartości katalazy¹⁾ (por. fot. 1 i 2).

¹⁾ Spozstrzegłem, że w sprzedażnych eudiometrach i biuretach podziałka nie odpowiada pojemności, i że każdy zbiornik gazu musi być zosobna sprawdzany i skorygowany.

Co do rozłożonej wody utlenionej, to na mocy dokonanych doświadczeń widzę, że do tego celu — o ile wchodzi w grę i bakterye — nie nadają się ani jodometryczna metoda Jolles'a, ani mianowanie nadmanganianem potasu: pierwsza dlatego, że bakterye same przez się wydzielają jod z jodku potasu, drugie — ponieważ prócz ciał bakteryj i nadtlenu wodoru, mieszanina zawiera i samo podłoże.

Natomiast można i należy stosować mianowanie $\frac{N}{10}$ KMnO_4 w celu oznaczenia koncentracji wody utlenionej, przeznaczonej do doświadczeń.

Do mianowania naprz. można używać $\frac{N}{10}$ KMnO_4 , którego 1 ctm.³ = 0.001696 grm. H_2O_2 , albo roztwór 0.37195%-wy, którego 1 ctm.³ = 0.002 grm. H_2O_2 .

Początkowo oznaczamy miano wody utlenionej 1%-wej, mianując w obecności kwasu siarczanego $\frac{N}{10}$ -ym nadmanganianem do różowego zabarwienia. Następnie do 5-10 ctm. roztworu katalazy dodajemy nadmiar¹⁾ wody utlenionej (20 ctm.) i pozostawiamy przez 2 godziny przy t^o pokojowej. Po tym czasie zakwaszamy kwasem siarczanym, rozcieńczamy wodą destylowaną i mianujemy nadmanganianem do różowego zabarwienia. O ile to ostatnie wystąpi przy pierwszej kropli nadmanganianu, jest dowodem, że do doświadczenia użyto za mało wody utlenionej.

Obliczenie:

na 20 ctm. ³ H_2O_2 zużyto	100 ctm. nadmanganianu
na 5 katalazy + 20 H_2O_2	30 „ „
po 2 godzinach	

różnica 70 ctm. odpowiada ilości

rozłożonej wody utlenionej.

Jeżeli użyliśmy $\frac{N}{10}$ KMnO_4 , to rezultat = 0.001696×70

„ „ 0.37195%-wy roztwór „ = 0.002×70

¹⁾ 100% nadtlenek wodoru zawiera 47% tlenu.

1 ctm.³ 100% nadtlenu wydziela 47.0 ctm.³ tlenu.

1 ctm.³ 3% „ „ 14.2 „ „

Wszystkie oznaczenia wykonane są na objętość gazu.

W następującej seryi doświadczeń stwierdziłem, że t° 70—75 niszczy katalazę po upływie 30 minut.

Użyto bac. pyocyaneus, którego 4-dniowa hodowla dawała miano = 124; hodowlę w kąpeli wodnej ogrzewano stopniowo do 85° C.

TABLICA IV.

t° kąpeli wodnej	ilość minut ogrzewania					
	0	5	10	20	30	40
55°	112	110	100	85	62	35
65°	112	105	42	35	30	30
75°	85	45	38	26	18	15
85°	80	20	12.5	0	0	0

Oto szereg różnych prób:

Przesącze bakteryjne przez świece P u k a l'a lub B e r k e f e l d'a zawierają katalazę w ilości znacznie mniejszej, niż hodowle, przy czem p.-k. w przesączach występuje tylko w późniejszych okresach wzrostu hodowli, naprz.:

przesącz 24 ^h b. pyocyanei	0	22 hodowla
„ z 4-dniowej tejże hodowli	75	252 „

(dla kontroli przesącze sprawdzono na jałowość).

Różnica w zawartości katalazy w różnych warstwach kultur widoczną jest z następujących doświadczeń:

Bac. pyocyaneus	powierzchnia	96
24 h	osad	192
Bac. typhi abdom.	powierzchnia	2.2
40 h	osad	1.0!
Bac. coli com.	powierzchnia	6.25
20 h	osad	8.75

Wpływ inaktywacji i przesączania na p.-k.:

Mocz normalny (N. 57469)	= 0
Tenże moc z 2 uszka kult. b. pyocyanei β	= 21
" " + 2 " " " "	
po inaktywacji przy 56° w ciągu 1h	= 1.0
Wysięk gruźliczy z opłucnej	34.5
Przesącz przez świecę z tegoż wysięku	19.7

Czy istnieje proporcja między ilością wziętego materiału a objętością gazu?

hodowla bac. pyocyaneus β			
(3-dniowa w bulionie 37° C.)			
kultura: 1 ctm. sz.	=	34	gazu
" 2 " "	=	72	
" 3 " "	=	99.5	
przesącz			
z tejże 1 " "	=	0	
2 " "	=	8.4	
3 " "	=	16.5	

Mocz zawierający dużo ciałek ropnych i proteus vulgaris
(cystitis e proteo) = 24

Płyny puchlinowe (prziesiękowe) z hodowlą laseczników ro-
py błękitnej wykazują tem więcej k., im więcej zawierają bak-
teryi, naprz.:

Do przesięku dodano 1 uszko pyocyanei	= 43.2
" 5 uszek " "	60.4
Do przesięku innego pochodzenia 1 uszko " "	29.2
" " " 5 uszek " "	56.4

Staphylococcus aureus zaszczerpiono równocześnie do bulionu
i na stałe podłoże: po 18h zawiesina ze stałego agaru = 25.5

" hodowla bulionowa	= 24
po 3 dniach zawiesina z agaru	= 28.0
" hodowla bulionowa	= 140 !
Zawiesiny 3-dniowych hodowli b. coli com.	= 6.0
" " " gonokoków	= 0
" " " paciorkowców	= 0
Hodowla 2-dniowa b. dysenteriae Sh i g'a	= 6.0
" po 4 dniach " "	= bez zmiany 6.0

Osady z bulionów samoistne oraz osady aglutynowane róż-
nią się pod względem katalazy od warstw powierzchniowych:

60h b. typhi abdominalis

hodowla	{	osadu 2 ctm. sz.	= 7 (czyli 10 ctm. = 35)
aglutyn.		powierzchni 2 ctm. sz.	= 2.5
hodowla	{	osadu 2 ctm. sz.	= 2 (czyli 10 ctm. = 10)
nie aglutyn.		powierzchni 2 ctm. sz.	= 1
Kontrola aglutynacyi: w obliczeniu na 2 ctm. sz.)			
hodowla 16h typhi abdom.		powierzchnia	= 2
		osad	= 5
		po dodaniu surowicy wysoko-	
		aglutyn. powierzchnia	= 1
		osad	= 7

Wobec różnicy w zawartości katalazy w warstwach powierzchniowych i głębszych należy przed wykonaniem p.-k. dokładnie kulturę wymieszać.

I Hodowla TBc — emulsja	= 0
II Hodowla TBc zemulgowana	= 2.5
TBc Woda kondensacyjna z kultury kartofl.	= 72
" " z jałowego kartofla	= 0.5
Pseudo " " z kultury kartofl. bac.	
pseudotuberculosis	= 37

3 dniowa hodowla b. typhi abdominalis:

Osad aglutynowany 2 ctm. sz.	= 5 (10 c. = 25 g.)
powierzchnia 2 " " tylko parę pęcherzyków	(mniej < 0.25)

3 dniowa hodowla b. typhi nieaglutynowana:

Osad z bulionu 2 ctm. sz.	= 5 (t. j. 10 = 25)
(niecentryfugowany)	
z powierzchni 2 ctm. sz.	= 1.5

2 doświadczenia

Wysięk z opłucnej pneumokokowy N. I (10 ctm.)	= 13	12
" " " N. II "	= 13	8.5
		po prze-
		sączeniu.

Katalaza w dializacie:

9 dniowa kultura bac. pyocyaneus:

1 ctm. sz. > 80	(czyli 10 ctm. > 800)
3 ctm. sz. dializatu = 54	(czyli 10 ctm. = 180)

W małym katalizatorze: $\left\{ \begin{array}{l} \text{w zwykłym bulionie} > 10 \\ \text{b. pyocyaneus 16}^h \text{ w cukrowym} \text{ „ } 7.75 \\ \text{w gliceryn.} \text{ „ } > 10 \end{array} \right.$

Emulsja 18^h kultury z podłoża stałego staphyl. aureus:
 w wodzie > 10 (zaraz po przygot.)
 w NaCl > 10 „ „
 sama woda = 0
 płyn Koch'a = 0

Dla porównania katalazy w hodowli gruźliczej i w wysięku gruźliczym:

1) płynna kultura TBc	72—73	(na 10)
2) wysięk TBc (z jamy brzusznej)	43	„
3) przesącz z tego wysięku przez świecę	23	„
4) inny wysięk TBc z opłucnej	80	po przeфіл.
5) przesiek z jamy brzusznej (na tle wady serca)	13	12
6) 2-gi „ „ „ „ „ „ „	13	9

Jak widzimy z wyżej przytoczonych doświadczeń, na wynik reakcyi nie jest bez znaczenia skład podłoża: hamująco działa obecność glukozy; natomiast dodatek gliceryny nie wpływa wybitnie. Ten sam gatunek bakteryi w buljonie zwykłym lub glicerynowym wykazuje do 4 razy więcej katalazy, niż w podłożu cukrowym przy wszelkich jednakowych warunkach (czasu, t^o, H₂O₂). Pewien wpływ może wywierać i stopień zasadowości podłoża:

3-dniowa buljonowa hodowla *bac. xerosis*:

2 ctm. sz. hodowli + 5 kr. $\frac{N}{10}$ NaOH = 3.75, czyli 10 = 18.75

2 „ „ + 5 „ $\frac{N}{10}$ HCl = 2.75, czyli 10 = 13.75

2 „ „ + 5 „ ag. destil. = 2.25, czyli 10 = 11.25

na 10 ctm. sz.

Przesącz 24^h kultury *b. diphteriae* 1.5 | 224 sama hodowla
 „ 16-dniowej „ *b. fluorescens liquef.* 290 | 721 „ „

Wogóle więc ektokatalazy jest znacznie mniej, niż endokatalazy w żywych komórkach bakteryjnych.

Najbardziej zastanowiły mnie fakty, że na mocy zawartości katalazy można odróżniać całe grupy bakteryi, naprzykład grupa b, typhi-coli

b. typhi	2.0—2.5
b. coli com.	8.0—8.8

grupa b. pyocyaneus-fluorescens:

(starsze hodowle	b. pyocyaneus	α	1400 !
w jednakowym	b. „	β	300 !
czasie)	b. fluorescens liquef		720 !

Grupa tuberkulozy — pseudo-TBc.

b. tuberculosis	72	(maximum)
b. pseudotubercul.	37	„

Co do grupy typhi-coli, to już 6-godzinne hodowle b. typhi wykazują 4 razy mniej katalazy od hodowli b. coli com.

Maximum k. w kulturach tyfusu przypada dopiero na 10 dzień, a maximum b. coli już po 48 godzinach, więc w jedno lub dwudniowych hodowlach różnica występuje znaczna:

24 h	b. typhi	1.0
	b. coli c.	8.0
3-dniowe	b. typhi	1.2
	b. coli c.	8.4
6-dniowe	b. typhi	2.2
	b. coli c.	8.8

Grupa b. dysenteriae: Shig'a = jak tyfus
Flexner = jak b. coli c.

3-dniowe hodowle z grupy pyocyaneus
o jedną dobę później

b. pyocyaneus	Δ	580	780
b. „	β	148	252
b. fluorescens		120	192

Przy sprawdzaniu jednej, tej samej kultury co pewien przeciąg czasu łatwo można się przekonać, że przy rozwoju hodowli

każdy gatunek bakteryjny ma trzy okresy pod względem zawartości katalazy.

Długość każdego okresu jest niejednakową w różnych gatunkach.

W początkowym okresie (16—24 h) cyfry tlenu są nieduże, ale już uwydatnia się różnica między poszczególnymi gatunkami i grupami, tak naprz.:

b. typhi	0.5	
b. dysenteriae Shiga	0.5	
b. pyocyaneus Δ	42	
b. fluorescens liq.	50	
b. pyocyaneus β	22	
staphyloc. aureus	23	} w dalszych okresach występują większe różnice.
„ albus, non haemol.	22	

Z każdym dniem później cyfry te stopniowo wzrastają; wzrost k. co do czasu i stopnia różni się pomiędzy poszczególnymi gatunkami i wynosi maximum w jednych gatunkach po 5—6 dniach, w drugich po 10, w trzecich po 16 dniach, poczem następuje raptowny krytyczny spadek — prawdopodobnie równoległe z obumieraniem bakterii.

Naprzykład, b. pyocyaneus narasta szybko i stopniowo do 8 lub 10 dnia, Δ do 1448 (jeden ze szczepów), drugi Δ innego pochodzenia do 1054, poczem w dwa dni później pierwszy z nich spada do 82 !
a nazajutrz do 44 !

Staphylococcus pyog. aureus	po 8 dniach	384
„ „	po 10 dniach	45 !
„ „	po 16 dniach	14

Porównawcze badanie kultur w pewnych odstępach czasu: (patrz tallica V).

Wpływ na wynik ma jakość nadtlenu wodoru i koncentracja: najlepsze są roztwory H_2O_2 Merck (33%), należy jednak skontrolować koncentrację przez mianowanie i używać 3% roztworu w ilości 5 ctm. sz. i dodawać przy końcu reakcji nadmiar odczynnika, pamiętając, że

100%	H_2O_2	zawiera	47%	tlenu
1 ctm.	3%	może dać	tylko	14.2 ctm. sz. tlenu,
a 5	„	„	„	71 „ „ „ !

TABLICA V.

	24h	48h	3 dni	4 dni	6 dni	8 dni	10 dni	16 dni	23 dni
<i>B. typhi</i> abdom	1.8	(44h) 1.0!	1.0	3.0	2.2	4.5	6.0	1.0	0.25
<i>B. coli</i> com	7	8	8.4	8.0	8.8	8.0	5.0	8.0	11
<i>B. paratyphi</i> B.	2.0	3.0	9.0	10.5	—	—	16.0	19.5	3.8
<i>B. pyocyaneus</i>	37	96	124	410	724	1054	82!	44	15
<i>B. fluorescens</i> liquef.	50	104	120	192	370	475	510	721 (w prze- sączu) 210)	1080
<i>Staphylococcus pyog. aureus</i>	23	35	128	154	328	384	45!	14	5.0
<i>Sarcina flava</i>	4	2.2	12.0	19	33	—	—	—	—
<i>V. cholerae</i> asiat	0	0	0.5	—	3.0	—	7.0	—	10
<i>Granulobacillus putrific.</i> I (rhinitis)	185	296	220	370	543	730	644	628	203
<i>Granulobacillus putrific.</i> II (rhinitis)	—	14	14.8	36	—	60	228	—	43.5

	24h	48h	3 dni	4 dni	6 dni	8 dni	10 dni	15 dni	22 dni
<i>B. paratyphi</i> A.	1.8	2.4	2.4	—	—	—	—	—	—
<i>b. paratyphi</i> Zupnik	2.0	—	2.3	3.0	3.0	—	4.5	—	1.0
<i>b. dysenteriae</i> Flexner	—	6.0	7.5	6.6	—	—	6.0	6.0	—
<i>b. coli</i> com. (№ 248)	9.0	8.0	—	—	8.0	13.5	10.5	10.0	16.0
<i>b. paracoli</i> anindolicum	3.2	—	4.5	4.8	3.0	—	7.5	—	—
<i>Pneumobacillus</i> Friedl. №. 52046	6.5	6.5	7.5	6.5	—	—	13.5	13.5	11.0
<i>Pneumobacillus</i> Friedl. №. 53217	6.0	6.0	6.6	—	—	8.0	6.0	5.5	5.0
<i>bac. rhinosclerom.</i>	3.0	3.0	4.0	—	—	7.5	7.5	6.3	—
<i>b. prodigiosus</i> w termostacie	7.3	15.7	24.5 (prze- sącz 6.2)	—	51	174	150	—	66
<i>bac. prodigiosus</i> pokojowej t ^o	35.7	60	68.5 (prze- sącz 6.0)	—	108 (prze- sącz 9.2)	276	388	674	—
<i>Staphylococcus</i> z nalotu (aureus) №. 55856	36	110	—	320 (prze- sącz 83)	631	816	924	793	205
<i>Staphylococcus</i> albus z mleka	25	43.5	—	72	96	160	180	228	—
<i>Staphylococcus</i> albus z po- wietrza	5.4	29	—	300	522	534	425	432	240

	24h	48h	3 dni	4 dni	6 dni	8 dni	10 dni	15 dni	23 dni
<i>B. acidi lactici</i> Hupe	10.5	13.0	14.5	14.0	—	24.0	37.0	—	—
<i>Staphylococcus pyrog. aureus</i> (Kral)	10.0	44	76	96	112	165	220	273	375
<i>Staphylococcus non haemolytic</i>	22	88	144	215	490	435	210	69	21
<i>B. pyocyaneus</i> α . <i>B. Gessard</i>	42	232	580	780	1176	1196	1448	2125 (prze- sącz 590)	762
<i>B. pyocyaneus</i> β . <i>Gessard</i>	22	104	148	252 (prze- sącz 75)	—	—	—	—	—
<i>B. xerosis</i>	—	7.6	10	30	39	—	—	—	—
<i>B. pyocyaneus</i> (typ β)	39 (prze- sącz 2)	—	333 (prze- sącz 84)	—	1078	—	1920	—	847
<i>Staphylococcus albus</i> (prostata)	43	61	—	—	126	164	174	—	—
<i>B. diphteriae</i>	224 (prze- sącz 1.5)	330 (prze- sącz 3.6)	780	900 (prze- sącz 18)	1147	2233 (prze- sącz 97)	3757!	1618	955
<i>B. pseudodiphteriae</i>	84	310	408 (prze- sącz 20)	408	800	—	1922	—	487
<i>Staphylococcus aureus</i> (furunculosis)	86	120	160	370	385	210	115	85	46

Można więc bez tej ostrożności otrzymać cyfry mniejsze od rzeczywistych — zwłaszcza to dotyczy kultur *b. diphteriae*, *pyocyaneus*, gronkowców i wogóle kultur, dających wysokie normy k.

Przez wielokrotne oznaczania p.-k. w kulturach tejże nazwy, lecz różnego pochodzenia, da się ustalić następujące normy dla grup bakteryi.

nizkie normy: (w oblicz. na 10 ctm. sz. hodowli)

grupa wibryonów 0. — do 1
 „ typhi coli 1 „ 8
 „ pneumokoków 3 „ 8

paciorkowców poniżej 10 (otczkowce 3 — 13.5)

grupa anthrax-subtilis 1 — 2
 „ dysenteriae - enteritidis jak typhi-coli (i bakt. zatr. mięsnego)

średnie normy:

grupa meningo-gono	50 do 100
„ tuberkulozy i pseudo	37 „ 72
„ proteus	20 „ ?

wysokie normy:

grupa pyocyjan.-fluorescens	do 1200	i wyżej
„ diphteriae i pseudo	do 220 — 300	„
„ staphylococcus (aureus et albus)	do 300 — 800	

Otrzymane wyniki p.-k. są dosyć stałe—niezależnie od pochodzenia gatunku: sprawdziłem naprz. b. typhi abdom. 3 kultury, b. pyocyaneus 2 hodowle, granulobacillus putrificus 2 hodowle, staphylococcus aureus i albus—po kilka. Niema wyraźnych różnic w zależności od pochodzenia szczepu: naprz. kultura b. pyocyanei, wyosobniona z dróg żółciowych, dała po 8 dniach 1054 ctm. tlenu (w obliczeniu na 10 ctm.³ kultury), szczep wiedeński w tym czasie dał 1176 ctm.³.

Płyny ustrojowe same (norm i patolog.) } kontrola
 „ „ (przeciwciała) + odp. antygeny }

Mocz świeży (nephro-pyelitis)	=	0	
Wysiłek gruźliczy z opłucnej		80	
Surowica luetyczna		165 .	(Wasserm. dodatni № 8)
Płyn mózgodz. (lues cerebri)		60	„ krwi i płynu dodatni 8)
„ „ (paralysis progr.) № 1		17.5	„ krwi we wszy-
„ „ „ „ № 2		8.0	stkich trzech był u-
„ „ „ „ № 3		6.6	jemny
„ „ normalny		0	(dwa pęcherzyki ga- zu nieobliczalne)

przeciwciała z antygenem:

lues	płyn mózgowy. (Wasserm. dodatni № 8).	
		po 1 h
	1.25 płynu + 0.25 antygen + 3.5 NaCl	k = 0.75
kontrola	1.25 „ + 0.25 alkohol + 3.5 NaCl	k = 1.0
	1.25 „ + 3.75 NaCl	k = 8.5

Jeżeli 1.25 płynu dał k = 0.75, to 10 płynu = 6.0

lues	surowica (Wasserm. dodatni № 8)
	0.5 serum + 0.1 antygen + 0.4 NaCl + ag. dest. k = 4.6
kontrola	0.5 „ + 0.1 alkohol + 0.4 NaCl + ag. dest. k = 10.0

lues (kontr. = Wasserm. negat. № 1) — płyn mózgowy	
	0.75 płynu + 0.15 antygen + 4.5 NaCl k = 0.5 !
kontrola	0.75 „ + 0.15 alkohol + 4.5 NaCl
	0.75 + 4.65 NaCl

We wszystkich trzech próbach jednakowo.

par. progr. — Wasserm. negat. № 1 — płyn mózgowy	
	1.25 płynu + 0.25 antygen + 4 NaCl k = 0
	1.25 „ + 0.25 alkohol + 4 NaCl k = 0
	1.25 „ + 4.25 NaCl k = 1.0

Par. progr. Płyn mózgowy Wasserm. negat. № 1.	
	1.0 płynu + 0.2 antygen luet. + 4 NaCl k = 1.0
kontrola	1.0 „ + 0.2 alkohol + 4 NaCl k = 1.0
	1.0 „ + 4.2 NaCl k = 1.75

Surowica krwi, w anamnezie lues, Wasserm. wielokrotnie negat.
№ 57352 № 1

	0.5 serum + 0.1 antygen luet. + 4.5 NaCl k = 5.4
kontrola	0.5 „ + 0.1 alkohol + 4.5 NaCl k = 5.5
	0.5 „ + 4.6 NaCl k = 6.0

p. k. po 2½-godzinnym staniu prób w cieplarni przy 37°C.

Surowica krwi, w anamnezie lues, Wasserm. negat. № 1
№ 57262

	0.5 serum + 0.1 antygen luet. + 4.5 NaCl k = 2.5
kontrola	0.5 „ + 0.1 alkohol + 4.5 NaCl k = 0.5
	0.5 „ + 4.6 NaCl k = 2.0

Jeżeli 0.5 serum daje $k = 2.5$, to 10 serum = $k = 50$.

Surowica krwi (anamneza niewiadoma)—Wasserm. negat. № 1.
№ 57334

	0.5 serum	+ 0.1 antig. luet.	+ 4.5 NaCl	$k = 0$
kontrola	0.5	" + 0.1 alkohol	+ 4.5 NaCl	$k = 6$
	0.5	" + 0	+ 4.6 NaCl	$k = 7$

Surowica krwi lues Wasserm. dodatni № 6 — 7

	0.5 serum	+ 0.1 antig. luet.	+ 4.5 NaCl	$k = 3.8$
kontrola	0.5	" + 0.1 alkohol	+ 4.5 NaCl	$k = 3.8$
	0.5	" + 0	+ 4.5 NaCl	$k = 7.0$

Surowica krwi lues Wasserm. wyraźnie dodatni № 8 skali

0.5 surowicy luetycznej $k=6.5$ (przy 10 ctm.³ = 130).

0.5 serum + 0.5 aq. dest. + 4.5 NaCl $k=7.25$

0.5 " + 0.5 antig. luet. + 4.5 NaCl $k=1.8$ (alkohol !)

Wnioski metodyczne:

Eudiometry i katalazatory przed próbą na katalazę należy oczyścić i wysuszyć, a najbezpieczniej wyjałowić. Próby kontrolowe polegają na sprawdzeniu czystości hodowli i koncentracji nadtlenu wodoru. Przed zakończeniem próby dodać trzeba nadmiar odczynnika, biorąc pod uwagę, że 1 ctm. sz. 3% nadtlenu wydziela 14.2 ctm. sz. tlenu. Porównując szereg hodowli na ich własności katalatyczne trzeba zachować jednakową miarę co do czasu, rozwoju hodowli, t^o, wzrostu, składu podłoża, czasu trwania reakcji, nawet t^o zewnętrznej. Nie można naprz. porównywać katalazy pneumokoków w buljonie cukrowym z gronkowcami w buljonie zwykłym, ponieważ glukoza i laktoza wywiera na katalazę działanie hamujące.

Do ścisłych badań pożytecznym jest wykonywać podwójne próby—właściwe i kontrolowe — w jednym rzędzie biorąc określone ilości substancji bakteryjnej przy postępowo zwiększonych dawkach nadtlenu, w drugim—przy stałych dozach H₂O₂ i substancji dopełniać wodą lub fizyologicznym roztworem soli. Je-

żeli chodzi o minimalne ilości katalazatora lub aktywatora, to ustawia się szereg prób w dawkach ubywających, a po skończonej próbie (2 godziny) dodaje się odwrotnie dawki postępowo wzrastające w celu sprawdzenia wniosków cyfrowych.

P.-k. wykonuje się w ciągu 2 godzin przy pokojowej t^0 , w razie podniesienia t^0 do $23-28^0$ czas trwania reakcyi skraca się. Naczynie musi być często skłóćcane. Do ilości owych oznaczeń katalazy bakteryjnej nie nadają się ani jodometryczna metoda Jolle s'a, ani mianowanie nadmanganianem potasu, które należy jednak stosować do oznaczania ektokatalazy w przesączach bakteryjnych.

Wnioski ogólne:

W sprawie katalazy mleka nie można zgodzić się ani z poglądem L o b e c k'a ani z teorią B e r t o u'a (Rev. d'Hygiène, 1912, paźdz., str. 1020). Wzrost p. k. w mleku nie wskazuje na mastitis „streptococcica“, prędzej „staphylococicca“; powierzchnia mleka zawiera więcej k. od mleka zbieranego, co zależy od rozwoju tlenowców mlecznych w warstwach powierzchniowych. Natomiast zwiększona zawartość k-y w ostatnich porcyach udoju zależy od zwykłej traumatycznej domieszki leukocytów i krwi. Mleko nieświeże zawdzięcza obfitość k-y nie tyle bakterjom kwasu mlecznego, ile niepożądaney domieszce i rozwojowi gronkowców. Co do zastosowania p.-k. do badania płynów ustrojowych, i zwłaszcza do rozpoznawania stanów patologicznych dotychczasowe badania nie uprawniają do wniosków dodatnich.

Przy rozwoju hodowli każdy gatunek bakteryjny ma trzy okresy pod względem zawartości katalazy: w pierwszym okresie cyfry są nieduże, choć już po 16—24^h uwydatnia się różnica między poszczególnymi grupami i gatunkami bakteryi; w drugim okresie cyfry te wzrastają — choć nie w jednakowym stopniu — i dochodzą w różnym (ale dla poszczególnych gatunków dość stałym) czasie do swego maximum: w trzecim spadają prawie do zera, spadek jest szybki, nieraz krytyczny.

Pod względem zawartości k-y pośród zbadanych przeźennie gatunków bakteryi mogą odróżnić trzy główne grupy:

Nizkie normy katalazy wykazują grupy: wibryonów, typhi-coli, dysenteriae, enteritidis, anthracis-subtilis, pneumokoków, paciorkowców i otoczkowców.

Średnie normy są cechą grup: meningo- i gonokoków, tuberkulozy i pseudotuberkulozy, *b. proteus vulgaris*.

Wysoką zawartością k-y odznaczają się grupy: *pyocyaneus-fluorescens*, *diphtheriae*, *pseudodiphtheriae* i *granulobacillus*, *staphylococci* (*aurei* et *albi*). Te trzy normy są stałe i niezależne od pochodzenia bakteryi: naprz. *b. coli* czy to z dróg żółciowych, czy z wody stale należy do pierwszej grupy, gronkowce stale do trzeciej; *v. Finkler-Priori* do tejże grupy pierwszej, jak wogóle wszelkie wibryony.

W niektórych grupach zwłaszcza należących do niskich norm, można na mocy zawartości k-y (*ceteris paribus*) odróżnić oddzielne gatunki, jak *b. coli* od *bac. typhi*, *b. dysenteriae* Shig'a od typu Flexner'a (pierwszy zachowuje się jak *b. typhi* abd., drugi jak *b. coli*).

Przesącze bakteryjne zawierają znacznie mniej katalazy, aniżeli hodowle, ilość ektokatalazy wzrasta stopniowo z endokatalazą, choć w słabszym stopniu; w młodych 24^h hodowlach często ektokatalazy niema wcale.

RÉSUMÉ.

St. Serkowski:

Recherches sur la catalase bactérienne.

Communication annoncée le 6.IV 1914.

Depuis la préparation du hydrosupéroxyde par Thénard (1818) et des travaux de Schönbein (1861), de nombreuses recherches ont été faites sur la catalase et les catalaseurs anorganiques colloïdaux, ayant le pouvoir de dissocier H_2O_2 en oxygène et en eau. Jacobson fut le premier à confirmer l'existence de ces ferments (1892), Loew les a isolé dans l'état pur et désigné de catalase (1900 — 1901). Ce ferment se trouve dans les tissus vivants, dans les organes animaux, dans les humeurs et les sécrétions organiques (bien que le rôle de la catalase dans les tissus ne soit pas encore établi suffisamment), enfin, dans le monde végétal, autant chez les individus hautement organisés, que chez les microbes les plus petits.

Le nombre des recherches exactes sur la catalase bactérienne n'est pas très grand jusqu'à présent¹⁾; ce sont les travaux de M-me Sieber, de Gottstein, Loewenstein, Jorns et Rywosz; puis les ouvrages de Lobeck sur la catalase du lait. Les recherches sur la catalase dans le sérum du sang, les sécrétions et les tissus ont été bien plus nombreuses. N. Sieber a étudié l'action de H_2O_2 sur des substances diverses, telles que la caséine, la hémine, les cheveux et les bacilles tuberculeux. Elle a fait plus d'une centaine d'expériences avec ces derniers, tout en les modifiant à l'égard de la quantité des éléments (H_2O_2 et Tbc), de la t^0 , de la durée de l'action et ainsi de suite. N. Sieber s'intéresse tout particulièrement à l'action hydro- et catalatique de H_2O_2 sur les bacilles tuberculeux, exercée sous la pression de 3 — 6 atmosphères et à la t^0 jusqu'à 160^0 C. pendant 2 heures. Le résidu dans la cornue (le filtrat et le dépôt) fut ensuite analysé par voie chimique.

Quant aux recherches sur la catalase bactérienne, la conclusion générale tirée de ces travaux a un sens plutôt qualitatif, que quantitatif; dans plusieurs de notes publiées on a constaté à peu près la loi générale, que la catalase bactérienne dissocie H_2O_2 . Dans les travaux de Jorns et de Rywosz on a même examiné le poids des masses bactériennes desséchées et l'on y a établi, qu'un milligr. des bactéries sèches produit depuis 0.1 cc. jusqu'à 2.1 cc. d'oxygène, Bien que de races nombreuses ont été examinées, les différences se sont montrées infiniment petites (dans les limites des erreurs méthodiques); l'on s'est borné de

¹⁾ Percy Wentig et Otto Steche. Ueber die fermentative Hydroperoxydzersetzung. Zeitschr. f. phys. Chemie 1912, B. 83, S. 312 u. B. 79, S. 446.

N. Sieber. Wasserstoffhyperoxyd als hydrolysierendes Prinzip. Z f. phys. Chemie 1912. B. 81, 185.

A. Jorns. Ueber Bakterienkatalase. Arch. f. Hygiene 1908, B. 67, 2. S. 134.

E. Seligmann. Ueber d. Einfluss einiger Aldehyde auf die Oxydationsfermente d. Milch.

préférence aux déterminations qualitatives (désignation: „dissociation forte“, „moyenne“, „insignifiante“ et ainsi de suite; comp. Jorns, l. c. page 156 — 157).

Pourtant il ne fut point établi, si les espèces microbiennes renfermaient la catalase bactérienne dans l'état vivant et dans les cultures; quelles sont ces espèces; ces quantités sont-elles stationnaires; quelles sont les causes pouvant déterminer leur augmentation ou leur décroissance; sont-elles intimément combinées avec les corps cellulaires, ou bien peut-on en trouver de même dans les produits sécrétoires (endo- et ectocatalase). Gottstein a constaté en 1893, que H_2O_2 subit la dissociation par les bactéries vivantes, et non point par les mortes; que le pouvoir catalatique de diverses espèces bactériennes est différent, et qu'enfin cette action dépend des combinaisons nucléinaires, et non point du ferment. Loewenstein a élargi cette notion, en démontrant que non seulement les cellules bactériennes, mais aussi les filtrats des cultures sont caractérisés par le pouvoir de dissocier H_2O_2 . D. et M. Rywosz ont fait des études comparées sur plus de 20 espèces bactériennes, en appliquant le procédé pondéral pour déterminer les masses bactériennes qui causent la dissociation de H_2O_2 . D'après ces auteurs, les anaérobies agissent bien plus faiblement, que les aérobies. Jensen signala de même l'inégalité de l'action dissociante à l'égard de H_2O_2 : il a étudié surtout les bactéries et les blastomycètes lactiques. Ces recherches, d'une étendue plus vaste, ont été effectuées par Jorns qui examina qualitativement près de 90 espèces et établit que toutes les bactéries, à quelques exceptions (bac. vulgatus, bac. mallei), ont le pouvoir de dissocier H_2O_2 , bien que dans des degrés différents.

J'estime que les citations mentionnées établissent suffisamment le but des recherches exactes sur la catalase bactérienne, ainsi que l'effort de classer la masse des espèces bactériennes en plusieurs catégories, à l'égard du pouvoir catalatique, et même l'effort à différencier les espèces isolées de chaque catégorie.

La série d'expériences préliminaires se proposa pour but les essais méthodiques. Tout d'abord j'ai utilisé l'appareil de Lobeck, à l'aide duquel il est possible d'obtenir un maximum de gaz de 10 cc. Les chiffres désignent la quantité des centimètres cubes de O₂ dégagé par 10 cc. de lait, ou bien de culture en bouillon + 5 cc. de H₂O₂ à 1 p. 100 de Merck.

TABLE I.

Les mêmes cultures furent examinées comparativement dans du lait et dans les excréta.

Lait (48 h. après l'inoculation)	acidité (degrés de Th ö r n e r)	catalase (observée pend. 2 h.)	bouillon (15—18 h. apr. l'inoculat.)	catalase (observée pend. 2 h.)
colibacille	71 ⁰	3	colibacille	7
b. pyocyanique	30 ⁰	>10	b. pyocyan.	>10
streptocoque	17 ⁰	0	streptocoques	0
staphyloc. doré	29 ⁰	>10	staphyl. doré	>10
b. enteritidis Gaertneri	27 ⁰	3.5	b. enteritidis	3.5
lait stéril.			bouillon stéril.	
contrôle	17 ⁰	0	contrôle	0

Si les recherches ultérieures vont confirmer que le streptocoques donnent 0 de catalase, l'opinion de Lobeck en va être renversée, et notamment, que les chiffres plus élevés, obtenus à l'aide de son appareil indiquaient l'origine du lait des vaches atteintes par la mammite streptococcique.

J'ai ensuite exécuté des expériences suivantes avec le lait stérilisé et inoculé:

Ces essais préliminaires ont déjà établi en quelque sorte, que la quantité du gaz dégagé dépend surtout de l'espèce bactérienne et bien moins des autres agents, et que certaines espèces, telles le staphyloc. doré et le b. pyocyanique produisent

TABLE II.

	catalase (2 h. d'ob- servation)
lait cru, aussitôt apporté	2.5
" cuit	0
" cru, après 2 h. a 37° C.	2.5
" additionné de quelque anses de staphyl. doré après 6 heures	8.0!
" stérilisé, inoculé des cultures, analysé, après 15 h. a 37° C.	3.5
colibacille	>10
le streptoc. pyogène.	0
le staphyloc. doré	>10
le b. de Halton (empoisonnement alimentaire).	1.5

rapidement une telle quantité de gaz, qu'il y est nécessaire de délayer préalablement la culture, ou bien d'utiliser un autre appareil (eudiomètre) — par analogie à la détermination du sucre dans les saccharomètres à contenu fort de glucose.

Je résolus donc, avant de reprendre le sujet propre de mon travail — de procéder à l'examen des conditions suivantes:

1. Les espèces bactériennes appartenant au même groupe bactérien (c. à d. les pathogènes et les saprophytes analogues) réagissent-elles caeteris paribus d'une manière inégale à l'égard de é-c (épreuve de catalase).

2. De quelle manière se comportent à l'égard de é-c les sécrétions humaines normales et pathologiques, telles que le pus, la humeur céphalo-rachidienne, le sérum, les sérums spécifiques (anticorps) antigène et de suite.

3. Rechercher les optima de l'eau oxygénée concentrée à l'égard de é-c.

Quelles sont les conditions indispensables pour l'obtention des normes stationnaires de é-c à l'égard de l'espèce du milieu, de la t°, du nombre de bactéries (concentration de l'émulsion) et de suite.

TABLE III.

H ₂ O ₂ de Merck		H ₂ O ₂ de Spiess
20 h.	b. typhique	1.8
24 h.	colibacille	8
	b. pyocyannique	37
	staphylocoque doré	23
	sarcina flava	4
	micr. tetragen. ruber	2
		13.5!

Si l'accroissance est plus faible (24 h. à la t° de chambre) alors:

é-c dans le lait:

staphylocoque doré	8.5
colibacille	4
b. pyocyannique	6.5
b. de l'empoisonnem. alimentaire	2.0

Les cultures de 6 heures en bouillon donnent:

en bouillon:

b. typhique	1.0
colibacille	4.0

Après 15 heures à 37° les cultures en bouillon:

staphylocoques isolés du lait	9.25
staphylocoque doré (N° 13)	7.5
" " (N° 81)	0
" " (N° 24)	0.5
micr. tetragenes ruber	7
" " albus	>10

Dans le bouillon après 18 heures à 37°:

staphylocoque doré (N° 97)	>10
" " (N° 81)	10
b. pyocyan. en bouillon usuel	>10
" " sucré	0.5
" " glycériné	>10
colibacille	7
b. de l'empoisonnem. alimentaire	8.5

Après 24 heures à 37°:

b. pyocyan. en bouillon usuel	é-c
" " sucré	31
" " glycériné	8
" " glycériné	6.5
filtrat de culture en bouillon du bac.	
pyocyan. par la bougie Berkefeld	0!

Afin de possibiliser le calcul de la catalase au-dessus de >10 , j'ai récommandé à la maison H u g e r s h o f f à Leipzig d'allonger le tube dans le catalaseur de L o b e c k depuis 10 ctm. à 100 ctm.

Pour la détermination quantitative de la catalase je me suis servi des catalaseurs allongés de L o b e c k et des eudiomètres usuels (3 appareils simultanément pour l'expérience principale et 2 témoins), en tant, que les bactéries envisagées renferment peu de catalase, ou bien alors d'un eudiomètre combiné avec une cornue, renfermant un mélange de culture et de H_2O_2 avec contenu considérable de catalase¹⁾ (v. la fotogr. 1 et 2).

Quant à la quantité du hydrosupéroxyde dissocié, j'ai acquis la certitude, me basant sur mes expériences, que ni la méthode iodométrique de J o l l e s, ni le titrage par le permanganate de potassium, n'y peuvent pas être appliqués, en tant, qu'il s'agit simultanément des autres bactéries: la première parceque les bactéries isolent elles-mêmes le iode du kalium iodatum; le second — puisque le mélange — en dehors des corps bactériens et du hydrosupéroxyde, renferme encore le milieu.

Pourtant, l'on peut et l'on doit utiliser le titrage par N° 10 $KMnO_4$ pour déterminer la concentration du hydrosupéroxyde destiné pour les expériences.

Pour le titrage on peut faire servir le N/10 $KMnO_4$ dont 1 cc = 0,001696 gr. de H_2O_2 ou bien alors la solution de 0,37195%, dont 1 cc = 0,002 gr. de H_2O_2 .

¹⁾ J'ai aperçu que dans les endiomètres et les burettes de magasin l'échelle ne rebond pas à la capacité et que chaque récipient à gaz doit être contrôlé et corrigé séparément.

On fait tout d'abord le titrage du hydrosupéroxyde à 1 p. 100, en titrant en présence de l'acide sulfurique par le permanganate à 10 p. 100 jusqu'à la coloration rose. Ensuite, on ajoute l'excès de H_2O_2 (20 cc.) à 6—10 cc. de solution ¹⁾ de catalase et laisse ce mélange à la t° de chambre pendant 2 heures. Ce laps de temps écoulé, on ajoute de l'acide sulfurique dilué avec de l'eau distillée, et l'en titre par le permanganate jusqu'à la coloration rose. Si cette dernière apparaît déjà lors de la première goutte de permanganate, ceci prouve, que la quantité d'eau oxygenée, dont on s'est servie pour l'expérience, fut insuffisante.

Calcul:

on a pris par 20 cc de H_2O_2	}	100 cc de permanganate
" 5 cc de catalase		30 "
+ 20 H_2O_2		—
après 2 heures	}	70 doit répondre à la quantité
la différence		
d'eau oxygenée dissociée		

Si nous utilisons de N/10 $KMnO_4$, alors le résultat = 0,001696 x 70
 " la solution de 0,31795% " = 0,002 x 70

Toutes les déterminations sont calculées pour le volume de gaz.

J'ai constaté dans la série des expériences ci-dessous, que la t° de 70°—75° détruit la catalase après 30 minutes.

J'ai employé le bac. pyocyanique, dont la culture de 4 jours donna le titre = 124; la culture fut chauffée progressivement jusqu'à 85 dans un bain-marie.

Voici une série des expériences diverses:

Les filtrats bactériens par les bougies Pukal ou Berkefeld renferment bien moins de catalase, que les cultures et é-c

¹⁾ H_2O_2 à 100 p. 100 renferme 47% d'oxygène.

²⁾ cc. de H_2O_2 à 100 p. 100 dégage 47 cc. d'oxygène.

³⁾ cc. de H_2O_2 à 3 p. 100 dégage 14.3 cc. d'oxygène.

TABLE IV.

t° du b-mar.	nombre de minutes de chauffage					
	0	5	10	20	30	40
55°	112	110	100	85	62	38
65°	112	105	42	35	30	30
75°	85	45	38	26	18	15
85°	80	30	12.5	0	0	0

n'apparaît dans les filtrats que dans les périodes ultérieures du développement des cultures, par exemple:

		culture
filtrat de 24 b. du bac. pyocyanique	0	22
„ 4 j. de la même culture	75	252
(en but de contrôle, la stérilité des filtrats fut vérifiée).		

La série suivante démontre la différence du contenu de catalase dans les couches diverses des cultures.

bac. pyocyanique	} surface 96 depôt 192
24 h.	
bac. typhique	} surface 2.2 depôt 1.01
49 h.	
colibacille	} surface 6.25 depôt 8.75
20 h.	

Effet de l'inactivation et de la filtration sur é-c:	
urine normale (N° 57469)	= 0
la même + 2 anses du bac. pyocyan. β de Kalton	= 21
„ + 2 „ „ inactivé à 56° pend. 1 heure	= 1.0
exsudat tuberculeux de la pleure	= 34.5
filtrat du même exsudat par la bougie	= 19.7

Existe-t-il quelque relation entre la quantité de la matière employée et le volume du gaz?

culture: bac. pyocyan. (de 3 j. dans le bouillon à 37°3).

culture: 1 cc. = 34 cc. de gaz

„ 2 = 72

„ 3 = 99.5

filtrat de cette culture = 0

2 „ = 8.4

3 „ = 16.5

Urine renfermant des leucocytes nombreux et le proteus vulgaris = 24.

Plus grand est le contenu des bactéries dans les humeurs hydropiques (transsudées) mêlées de cultures de b. pyocyan., plus elles renferment de catalase, par exemple:

filtrat stérilisé additionné de 1 anse de b. pyocyan. = 43.2

„ „ „ 5 „ „ = 60.4

„ d'autre origine „ 1 „ „ = 29.2

„ „ „ 5 „ „ = 56.4

Le staphylocoque doré fut inoculé simultanément dans le bouillon et sur un milieu solide; après 18 h. émulsion de l'agar

solide = 25.5

culture en bouillon = 24

émulsion de l'agar après 3 j. = 28.0

culture en bouillon = 140!

émulsions des cultures de 3 j. du colibacille 6.0

„ „ „ gonocoques 0

„ „ „ streptocoques 0

culture de 2 j. du bac. dysentérique Shiga 6.0

„ de 4 j. „ sans changement 6.0

Dépôts spontanés des bouillons et dépôts agglutinés diffèrent des couches superficielles à l'égard de la catalase.

60 b. — b. typhi abdomin.

culture agglutinée: $\left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ cc. du dépôt} = 7 \text{ (càd. } 10 \text{ cc.} = 35) \\ 2 \text{ cc. de surface} = 2.5 \end{array} \right.$

culture non-agglutinée: $\left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ cc. du dépôt} = (2 \text{ càd. } 10 \text{ cc.} = 10). \\ 2 \text{ cc. de surface} = 1 \end{array} \right.$

contrôle d'agglutination (calculée par 2 cc.)

culture de 16 h. de b, typhique — surface = 2

dépôt = 5

„ addition de sérum de haute agglutination: surface = 1
dépôt = 7

Avant de procéder à l'épreuve de catalases la culture doit être bien agitée, vu les différences du contenu de culture dans les couches superficielles et les couches plus profondes.

I culture de Tbc — émulsion = 0

II culture de Tbc émulsionnée = 2.5

Tbc: au de condensation de culture sur pommes de terre = 72

„ „ sur pommes de terre stérilisée = 0.5

pseudo „ de culture sur pomme de terre bac. pseudo-tuberculeux = 37.

culture de 3 j. du bac. typhique

dépôt agglutiné: 2 cc. = 5 (10 cc. = 25 g.)

surface: 2 cc. seulement quelques vésicules (soins < 0.25)

culture de 3 j. du bac. typhique non-agglutiné:

dépôt de bouillon: 2 cc. = 5 (càd. 10 = 25 non-centrifugée)

2 cc. de surface = 1.5

2 expériences

Exsudat pneumococcique de la pleure N I (10 cc.) = 13 } 12 après fil-

N II „ = 13 } 8.5 tration

catalase en dialysate:

culture du bac. pyocyan. de 9 j.

1 cc > 80 (càd. 10 cc. > 800)

3 cc. de dialysate = 54 (càd. 10 cc. = 180)

b. pyocyan. de 16 h.
dans le petit catalaseur

en bouillon usuel > 10
" sucré 7.75
" glycériné > 10

Émulsion de 18 b. de culture du milieu solide de staphylocoque doré:

dans l'eau > 10 (lors la préparation)

dans NaCl > 10 " "

l'eau seule = 0

liqueur de Koch = 0

Pour comparer la catalase dans la culture tuberculeuse avec la culture de l'exsudat tuberculeux:

1) culture liquide Tbc	72—73	(par 10)
2) exsudat Tbc (de la cavité abdominale)	43	"
3) filtrat du même exsudat par la bougie	23	"
4) autre exsudat Tbc de la plèvre	80	"
5) exsudat de la cavité abdominale (sur		
fond de vitium cordis)	13	} <u>filtré</u>
6) second "	13	} 12
		} 9

Les expériences ci-dessus montrent, que la composition du milieu exerce une certaine action sur les résultats de la réaction; la présence de glucose détruit l'action; tandis que l'addition de la glycérine ne donne pas de réaction perceptible.

La même espèce bactérienne donne dans le bouillon usuel ou bien glycériné une catalase jusqu'à 4 fois plus grande que dans un milieu sucré — toutes les autres conditions maintenues invariables (durée, t°, H₂O₂).

L'alcalinité du milieu peut de même exercer quelque action: culture en bouillon de 3 j. de *bac. xerosis*:

2 cc. de culture + 5 gouttes de N/10NaOH	= 3.75, càd. 10=18.75
2 cc. de culture + 5 „ N/10HCl	= 2.75, càd. 10=13.75
2 cc. de culture + 5 „ de l'eau distil.	= 2.25, càd. 10=11.25

	par 10 cc.	} culture seule
filtrat de 24 b. de culture du b. diphtérique	1.5	
„ de 16 j. de b. fluoresc. liquef.:	290	721

Donc, dans les cellules bactériennes vivantes il y a considérablement moins d'ectocatalase, qu'il n'y a d'endocatalase.

Le plus saisissant fut le fait, qu'il soit possible, en vertu du contenu de catalase, de distinguer des groupes bactériens entier; ainsi par exemple, le groupe de *bac. typhi-coli*:

b. typhique	2.0—2.5
colibacille	8,0—8.8

le groupe du bac. pyocyanique-fluorescens:

cultures plus anciennes

simultanément	}	b. pyocyan. α — 1400!
		b. pyocyan. β — 300!
b. fluorescens-liquefaciens		720!

Le groupe de la tuberculose-pseudotuberculose:

b. tuberculeux	72 (maximum)
b. pseudotuberculeux	37

Quant au groupe typhi-coli les cultures du bac. typhique de 6 heures donnent déjà 4 fois moins de catalase, que ne le font les cultures du colibacille:

Les maxima de catalase dans les cultures du bac. typhique ne tombent que le 10 jour, tandis que ceux du colibacille étoient déjà après 48 heures, donc dans les cultures d'un où de 2 jours la différence est toujours considérable.

24 h. b. typhique	— 1.0
colibacille	8.0
de 3 j. b. typhi	1.2
colibacille,	8.4
de 6 j. b. typhique	2.2
colibacille	8.8

Le groupe du bac. dysentérique: Shiga — comme le b. typhique
 Flexner — comme le colibacille

Cultures de 3 j. du groupe pyocyanique	}	24 h. plus tard	
b. pyocyanique		580	780
„		148	252
b. fluoresc. liquefac.		120	192

En contrôlant la même culture dans certains intervalles de temps, on aperçoit aisément, qu'au cours du développement de la culture chaque espèce bactérienne présente trois périodes à l'égard du contenu de catalase:

La durée de chaque période varie selon les espèces.

Dans la période initiale (16—24 h,) les chiffres de l'oxygène ne sont pas grands; néanmoins, on voit déjà une différence entre les espèces et les groupes séparés; ainsi par exemple:

b. typhique	0.5	
b. dysentérique Shiga	0.5	
b. pyocyanique	42	
b. fluoresc. liquefac.	50	
b. pyocyan.	22	dans les périodes ultérieures les
staphylocoque doré	23	différences s'accroissent plus fort.
„ blanc non-hémolytique	22	

Ces chiffres augmentent progressivement chaque jour; l'augmentation de catalase — à l'égard du temps et du degré — varie chez les espèces diverses et atteint son maximum chez certaines espèces après 5 — 6 jours, chez d'autres — après 10 j., chez d'autres encore — après 16 jours; ce maximum est suivi d'une

chute critique rapide — simultanée probablement à la mort des bactéries.

Ainsi le bac. pyocyanique accroit rapidement et progressivement jusqu'au huitième ou dixième jour:

α — jusqu'à 1448 (une des races)
 autre α d'origine différente — jusqu'à 1054, après quoi, 2 jours plus tard, le premier baisse jusqu'à 82. et le lendemain — jusqu'à 44!

staphylocoque pyogène doré après 8 jours — 384

” ” ” 10 ” 45!

” ” ” 16 ” 14

Observations comparées des cultures dans des espaces déterminés de temps: (vide table V).

La qualité du hydroperoxyde et sa concentration exercent une action sur le résultat; les solutions de H_2O_2 de Merck sont les meilleures (33%); pourtant il faut contrôler la concentration par le titrage et se servir de 5 cc. de solution à 3 p. 100; vers la fin de la réaction, *on ajoute l'excès du réactif*, — tout en gardant en mémoire, que:

H_2O_2 à 100 p. 100 renferme 47% d'oxygène

1 cc. à 3 p. 100 ne peut dégager que 14.2 cc. d'oxygène, et

5 cc. 3 ” ” ” 71 ”

Donc sans cette précaution il eut pu arriver, qu'on aurait obtenu un chiffre inférieur au chiffre réel: ceci se rapporte surtout aux cultures du b. diphtérique, pyocyanique, aux staphylocoques et en général aux cultures donnant de hautes normes de catalase.

Par la détermination réitérée de é-c dans les cultures de la même désignation, mais d'origine diverse, les normes suivantes peuvent être fixées pour les groupes bactériens:

normes basses (calculées par 10 cc de culture)

le groupe des vibrions 0 à 1

” de typhi-coli 1 à 8

TABLE V.

	24 h.	48 h.	3 j.	4 j.	6 j.	8 j.	10 j.	16 j.	23 j.
b. typhique	1.8	1.01	1.0	3.0	2.2	4.5	6.0	1.0	0.25
colibacille	7	8	8.4	8.0	8.8	8.0	5.0	8.0	11
b. paratyph.	2.0	3.0	9.0	10.5	—	—	16.0	19.5	3.8
b. pyocyan	37	96	124	410	724	1054	821	44	15
b. fluor. liq.	50	104	120	192	370	475	510	721	1080
staphyloc. pyog. blanc . .	23	35	128	154	328	384	451	14	5.0
sarcina flav.	4	2.2	12.0	19	33	—	—	—	—
v. cholerae asiat	0	0	0.5	—	3.0	—	7.0	—	10
granulobac. putrif. Irhinit .	185	296	220	370	543	730	644	628	203
„ „ II (rhinit)	—	14	14.8	36	—	60	228	—	43.5
b. paratyphi A.	1.8	2.4	2.4	—	—	—	—	—	—
b. paratyphi Župnik	2.0	—	2.3	3.0	3.0	—	4.5	—	1.0
b. dysenteriae Flexner . . .	—	6.0	7.5	6.6	—	—	6.0	6.0	—
colibac. (№248)	9.0	8.0	—	—	8.0	13.5	10.5	10.0	16.0
b. paracoli anindolicum . .	3.2	—	4.5	4.8	3.0	—	7.5	—	—
pneumobac. Friedlaenderi № 52046	6.5	6.5	7.5	6.5	—	—	13.5	13.5	11.0
pneumobac. Friedlaenderi № 53217	6.0	6.0	6.6	—	—	8.0	6.0	5.5	5.0
b. rhinosclerom	3.0	3.0	4.0	—	—	7.5	7.5	6.3	—
b. prodigiosus en étuve . . .	7.3	15.7	24.5 (filtrat 6.2)	—	51	174	150	—	66
b prodigiosus á t ⁰ de chambre	35.7	60	68.5 (filtrat 6.0)	—	108 (filtrat 9.2)	276	388	674	—
Staphylocoque (doré d'un dépôt) № 55856	36	110	—	320 (filtrat 8.3)	631	816	924	793	205
Staph. blanc du lait.	25	43.5	—	72	96	160	180	228	—

	24 h.	48 h.	3 j.	4 j.	6 j.	8 j.	10 j.	15 j.	22 j.
staph. blanc de l'air	5.4	29	—	300	522	534	425	432	240
b. acidi lactici Hu- e p p e	10.5	14.0	14.5	14.0	—	24.0	37.0	—	—
staph. pyog. doré blanc (K r a l) . . .	10.0	44	76	96	112	165	220	273	375
staph. non haemo- lyticus	22	88	144	215	490	435	210	69	2!
b. pyocyan. α . G e s- s a r d.	42	232	580	780	1176	1196	1448	2125 (filtrat 590)	762
b. pyocyan. β . G e s- s a r d.	22	104	148	252 (filtrat 75)	—	—	—	—	—
b. xerosis	—	7.6	10	30	39	—	—	—	—
b. pyocyan: (type β .)	39 (filtrat 2)	—	333 (filtrat 84)	—	1978	—	1920	—	847
staphyl. alb. (pros- tata)	43	61	—	—	126	164	174	—	—
b. diphtérique . . .	224 (filtrat 1.5)	330 (filtrat 3.6)	780 408	900 (filtrat 18)	1147	2233 (filtrat 97)	3757!	1618	955
b. pseudodipht. . .	84	310	(filtrat 20)	408	800	—	1922	—	487
staph. doré (furun- culosis)	86	120	160	370	385	210	115	85	46

le groupe des pneumocoques-streptocoques au-dessous de 10 (b. encapsulés 3 à 13.5)

- „ anthrax subtilis 1 à 2
- „ dysenteriae-enteritidis, comme le typhi-coli (et les b. de l'empois. aliment.)

normes moyennes:

le groupe de méningo-gono- 50 à 100
de tuberculose et pseudo- 37 à 72
du proteus 20 à ?

normes hautes:

groupe pyocyanus-fluorescens jusqu'à 1200 et au-delà
„ de b. diphteriae et pseu- 220—300 „
staphylocoques doré et blanc 300—800

Les résultats de catalase obtenus sont assez stationnaires, indépendamment de l'origine de l'espèce; ainsi par exemple, j'ai contrôlé 3 cultures de b. typique, 2 de b. pyocyanique, 2 de granulobaccille putr. et à plusieurs — du staphylocoque doré et blanc. La provenance des races ne provoque pas des différences perceptibles; ainsi par ex. 1 culture de b. pyocyan., isolée des voies biliaires donna après 8 jours 1054 cc. d'oxygène (calculé par 10 cc. de culture), la race Viennoise donna dans le même laps de temps — 1176 cc.

Humeurs organiques seules (normales et pathologiques) { contrôle
 " " (anticorps) + antigènes relatives {
 Urine fraîche nephro-pyérite = 0
 exsudat tuberculeux de la plèvre = 80
 sérum luétique = 165 ! (Wassermann positif
 Table VI N^o 8)

Liqueur cephalo-rachidienne (lues cerebui) = 60 (Wassermann du sang et de la liqueur positif N 8).
 " " (de paralysis propr.) N 1 17.5 { Wassermann du
 N 2 8.0 { sang-négatif dans
 N 3 6.6 { toutes les trois.
 " normale 0
 anticorps avec antigène:

lues liqueur céphalo-rachidienne (Wassermann positif N 8).
 après 1 h.

contrôle	1.25 de liq. + 0.25 d'antig. + 3.5 NaCl	c = 0.75
	1.25 " + 0.25 d'alcool. + 3.5 NaCl	c = 1.0
	1.25 " + 3.75 NaCl	c = 8.5

Si 1.25 de liqueur donne c = 0.75, 10 cc de liqueur donnent c = 6.0

Lues sérum (Wassermann positif N 8)
 contr. 0.5 de sérum + 0.1 d'antig. + 0.4 NaCl eau distillée c = 4.6
 0.5 " + 0.1 d'alcool + 0.4 NaCl eau distillée c = 10.0

lues (contr. Wassermann négat. N 1) — céphalo-rachidienne

contr.	0.75 de liqueur + 0.15 d'antigène + 4.5 NaCl	c = 0.51
	0.75 " + 0.15 d'alcool + 4.5 NaCl	La même

dans toutes les 3 expériences.

paral. progres. Wassermann négatif N 1 — liqueur céphalo-rachidienne.

1.25 de liqueur + 0.25 d'antigène + 4 NaCl	c = 0
1.25 " + 0.25 d'alcool + 4 NaCl	c = 0
1.25 " + 4.25 NaCl	c = 1.0

paral. progr. liqueur céphalo-rachidienne Wassermann négatif N 1

contr. {	1.0 de liqueur + 0.2 d'antigène lact. 4 NaCl	c = 1.0
	1.0 " + 0.2 d'alcool + NaCl	c = 1.0
	1.0 " + 4.2 NaCl	c = 1.75

sérum du sang, lues dans l'anamnèse. Wassermann plusieurs fois négatif N 1.

N 57352

contr. {	0.5 de sérum + 0.1 d'antigène luét. + 4.5 NaCl	c = 5.4
	0.5 " + 0.1 d'alcool + 4.5 NaCl	c = 5.5
	0.5 " + 4.6 NaCl	c = 6.0

é-c maintenue à étuve à 37°C pendant 2 heures.

sérum de sang, lues dans l'anamnèse, Wassermann négatif M 1.

N 57362

contr. {	0.5 de sérum + 0.1 d'antig. luét. + 4.5 NaCl	c = 2.5
	0.5 " + 0.1 d'alcool + 4.5 NaCl	c = 0.5
	0.5 " + 4.6 NaCl	c = 2.0

Si 0.5 de sérum donne une catalase de 2.5, 10 cc de sérum donnent c = 50.

sérum du sang (anamnèse inconnue) Wassermann négatif N 1.

N 57334

0.5 de sérum + 0.1 d'antigène luét. + 4.5 NaCl	c = 0
0.5 " + 0.1 d'alcool + 4.5 NaCl	c = 0
0.5 " + 0 + 4.6 NaCl	c = 7

sérum du sang lués Wassermann positif N 6—7.

	0.5 de sérum	+ 0.1 d'antig. luet.	+ 4.5 NaCl	c = 3.8	
contr.	}	0.5 „	+ 0.1 d'alcool	+ 4.5 NaCl	c = 3.8
		0.5 „	+ 0	+ 4.5 NaCl	c = 7.0

sérum du sang — lués — Wassermann nettement positif
N 8 de l'échelle.

0.5 du sérum luétique	c = 6.5 (pour 10 cc. 130)
0.5 „ luét. + 0.5 d'eau distil. + 4.5 NaCl	c = 7.25
0.5 du sérum luét. + 0.5 d'an- tig. luét. + 4.5 NaCl	c = 1.8 (alcool!)

Indications méthodiques.

Les eudiomètres et les catalaseurs sont à nettoyer et mettre à sec avant l'épreuve de catalase; le plus sûr est de les stériliser. Les expériences témoins consistent dans le contrôle de la pureté de la culture et de la concentration du péropéroxyde. Avant d'achever l'expérience il faut ajouter l'excès du réactif, tout en prenant en considération, que 1 cc de hydropéroxyde à 3 p. 100 produit 14.2 cc d'oxygène. En comparant le pouvoir catalatique d'une série de cultures il faut maintenir des conditions égales à l'égard de la durée de développement de la culture, de la t⁰ de l'accroissance, de la composition du milieu, de la durée de la réaction, même de la t⁰ extérieure. Ainsi, par exemple, il est inadmissible de comparer la catalase des pneumocoques dans le bouillon usuel, puisque la glucose et la lactose détruisent la catalase.

Il est bien utile — pour des recherches exactes — de faire des expériences doubles: expériences propres et expériences témoins, en prenant d'abord des quantités déterminées de substance bactérienne et en augmentant progressivement les doses de hydropéroxyde; ensuite — en ajoutant de l'eau ou de la solution physiologique de NaCl aux doses invariables de H₂ O₂ et

de la matière examinée. Lorsqu'il s'agit des quantités minimales de catalase ou d'activateur, l'on dispose une série d'expériences en doses diminuantes; l'expérience achevée (2 h.) on ajoute en sens inverse des doses progressivement augmentées pour vérifier les données en chiffres.

L'épreuve de catalase est exécutée pendant 2 heures à la t° de chambre; si la t° est portée jusqu'à 23 — 28, la durée de la réaction devient plus courte. Le vase doit être agité bien souvent. Ni la méthode iodométrique de Jolles, ni le titrage par le permanganate de potassium ne peuvent être employés pour la détermination quantitative de la catalase bactérienne; pourtant il faut l'utiliser en déterminant la concentration du hydrogénéperoxyde; on peut les employer de même à la détermination de l'ectocatalase dans les filtrats bactériens.

Considérations générales.

À l'égard de la catalase du lait il est impossible de s'accorder ni avec l'avis de Lobeck, ni avec la théorie de Bertou (Rev. d'Hygiène 1912, octobre, p. 1200). L'accroissement de é-c dans le lait n'indique point la mammite „streptococcique“ mais plutôt la „staphylococcique“. Le fait, que la surface du lait renferme plus de catalase, que le lait écrémé, est amené par le développement des aérobies lactiques dans les couches superficielles. Cependant, le plus fort contenu de catalase dans les dernières portions du lait traité provient de l'admixture usuelle traumatique des leucocytes et du sang. Le lait gâté doit l'abondance de sa catalase pas autant aux bactéries de l'acide lactique qu'à l'admixture peu désirable et au développement des staphylocoques.

Quant à l'application de é-c à l'examen des humeurs organiques et surtout à la diagnose des états pathologiques — les observations faites jusqu'à présent n'autorisent point à des conclusions positives.

Chaque espèce bactérienne — au cours du développement de sa culture — présente trois périodes à l'égard du contenu de catalase: dans la première de ces périodes les chiffres sont petits, quoiqu'on aperçoit déjà après 16—24 heures une différence plus nette entre les groupes et les espèces bactériennes isolées; ces chiffres augmentent dans la seconde période — encore que dans un degré inégal — et atteignent leur maxima dans de différents laps de temps (ces laps sont assez constants pour les espèces isolées); dans la troisième période les chiffres baissent presque jusqu'au 0; la chute est rapide, parfois critique.

Parmi les espèces bactériennes, que j'ai examinées, je puis distinguer trois groupes principales à l'égard du contenu de catalase:

Les groupes suivants donnent des normes basses de catalase: vibrions, *b. typhi-coli*, *b. dysentérique*, *b. enteritidis*, *b. anthracis subtilis*, pneumocoques, streptocoques et *b. encapsulés*.

Les normes moyennes caractérisent les groupes de méningo- et gonocoques; *b. tuberculeux* et pseudotuberculeux et du *proteus vulgaris*.

Un fort contenu de catalase montrent les groupes du *b. pyocyanique* de *fluorescens*, *b. diphtérique*, pseudodiphtérique et *granulobacillus*, les staphylocoques (dorés et blancs).

Ces trois normes sont constantes et indépendantes de l'origine des bactéries; ainsi par ex. le colibacille appartient invariablement au groupe premier, s'il provient des voies biliaires, ou bien de l'eau; les staphylocoques appartiennent toujours au troisième groupe; *v. Finkleri-Priori* — au même groupe premier, comme tous les vibrions en général.

En vertu du contenu de la catalase, on peut caeteris paribus distinguer les espèces isolées dans certains groupes, surtout dans les groupes à des normes basses, telles que le colibacille typhique, le *b. dysentérique Shiga* du type Flexner

(le premier se comporte comme le *b. typhi* abdomin., le second comme le colibacille).

Les filtrats bactériens renferment bien moins de catalase que les cultures et s'accroissent parallèlement à l'endocatalase, bien qu'à un degré inférieur; bien souvent la catalase peut même faire défaut dans les jeunes cultures de 24 heures.

2. St. Serkowski:

Wpływ niektórych czynników fizyko-chemicznych na zjawisko precypitacji i aglutynacji.

Komunikat zgłoszony dn. 15 Października 1915 r.

Spostrzegając w czasie wykonanych prób nad reakcją Widal'a i aglutynacją bakteryj pod wpływem surowicy zwierząt uodpornionych, wiele faktów, które w znacznej mierze odbiegają od utartych wniosków, postanowiłem te dane zbadać przez systematyczne doświadczenia. Miały one głównie na celu dążenie:

1) do wyjaśnienia ilościowych stosunków i wzajemnej zależności między trzema czynnikami biorącymi udział w reakcji;

2) do zbadania, o ile w opadach swoistych biorą udział precypityny, t. j. czy opady zawierają prócz aglutynatów bakteryjnych też i precypitaty globulinowe;

3) czy niektóre odczyny (np. próba Ulenhuth'a zastosowanp przez Kraus'a do bakteryjnych przesączów) dadzą się zastosować i do zawiesin bakteryjnych;

4) czy nie możnaby uzyskać precypitatów wyłącznie przez działanie katalityczne bakteryj swoistych, czy też koniecznym jest udział zawiesin bakteryjnych lub ich przesączów;

5) czy spostrzegany wzrost miana precypito-aglutynacyjnego nie dałby się uzależnić od a) absolutnej ilości precypitynogeny i precypityny, b) zmian nasycenia soli NaCl od 0.85 do 8.5%, c) zamiany NaCl przez $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, d) dodatek $\text{CH}_3 \cdot \text{COOH}$, e) dodatek komplementu, f) ogrzewanie zawiesin bakteryjnych i t. d.;

i 6) czy wogóle możliwa jest zmiana metodyki badania, któraby pozwoliła na otrzymanie wybitnie wyższego miana i w ten sposób umożliwi-

ła otrzymanie wyników dodatnich przy małych zawartościach precypityny, wzgl. aglutyniny (w surowicy chorych na dur brzuszny w pierwszym okresie choroby, w czasie gruźlicy, w wydzielinach chorych, pokarmie i t. d.).

Nie będę przytaczał tu sposobów wykonywania aglutynacji makroskopowej w kapilarach, w małych wązkich rurkach, obliczonych na 1 ctm. sz., w większych probówkach, w płytkach i t. d. Wszystkie te sposoby wychodzą z tego założenia, że wynik próby makroskopowej zależy od stopnia rozcieńczenia surowicy i prawidłowego przygotowania zawiesiny bakteryjnej, niezależnie od wielkości naczyń, wzgl. od objętości zmieszanych płynów — surowicy rozcieńczonej i zawiesiny.

Według ogólnie przyjętego mniemania, można jednakowe miano uzyskać w 0.5, w 1.0, w 5 lub 10 ctm. sz. mieszaniny, chodzi tylko o ścisły stopień rozcieńczenia surowicy.

Czy takie założenie odpowiada faktom, widocznem jest z następujących doświadczeń: Różne surowice — po ustaleniu miana (w oblicz. na 1 ctm. sz.) łączono z taką objętością zawiesiny, aby stosunek pozostał bez zmiany: mieszano je w ten sposób, że w każdej następnej próbówce równolegle zwiększano ilość obydwóch substancji ze stałym zachowaniem stopnia rozcieńczenia z pierwszej próbówki, np. 1) 1 ctm. zawiesiny bakteryj + 1 kropla precypityny rozcieńczonej $\frac{1}{100}$; 2) 2 ctm. sz. zawiesiny + 2 krople precyp.; w 3-iej 3 ctm. sz. + 3 krople i t. d.

Wniosek z tych badań¹⁾: na wynik precypitacji wywiera wpływ nie tylko stopień rozcieńczenia swoistej surowicy, lecz i absolutna ilość użytych substancji. Jeżeli miano w obliczeniu na 1 ctm. sz. ogólnej mieszaniny wynosi: 1:200, to przy 5-krotnych dawkach można otrzymać opady nawet przy 1:2000; surowicy wysokoaglutynowej wzrost miana z 1:2500 do 1:20,000, a przy stopniowo coraz zwiększających się dozach miano surowic wzrasta coraz wyżej bez ograniczenia. Stąd i dalszy wniosek: jeżeli

¹⁾ W tych i następnych doświadczeniach brali udział moi współpracownicy pp. A. Sachnowski, S. Pernak, J. Przyborowski, H. Winnicka, H. Ołtuszevska, K. Sterling, L. Szereszewski i T. Raniecki, za co im uprzejmie dziękuję.

TABLICA I.

		50	100	200	250	500	1000	2000	4000	8000	10,000	kontrola
Miano przy 1 ctm. sz.	Surowicy tyfusowej wysokoaglut	+	++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-
	surowicy chorego na tyfus (10 dzień chor.)	z	++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
	surowicy choler. wysokoaglutvn	h	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-

Aglutynacja powyżej „miana“.

dawki surowicy i zawiesiny wzrastają stopniowo, ale stosunek pierwszej do drugiej i stopień rozcieńczenia surowicy w każdej z sześciu próbek pozostaje bez zmiany.

	zawiesiny od 1-go do 6-ciu ctm. sz.						K zawiesina bez surowicy	Uwagi
	1	2	3	4	5	6		
Surowica tyfus. wys.-aglutyn. w rozc. 1:4000 + zawiesina tyfusowa	-	-	±	+	++	+++	-	Precypitat w 5-ej i 6-ej próbce tak duży (pomimo rozcieńcz. 1:4000), jak powyżej w rozc. 1:100-1000
Surowica tyfus. wys.-aglutyn. w rozc. 1:8000 + zawiesina tyfusowa	-	-	±	±	++	+++	-	Precypitat w 5-ej i 6-ej próbce przy 1:8000=precypil. przy 1:100-1000
Surowica chorego tyfusowego (10 dz. chor.) w rozc. 1:1000 + zawiesina tyfusowa	-	-	±	+++	+++	+++	-	Precyp. w 4, 5 i 6-ej próbce przy rozc. surow. 1:1000=prec. przy rozc. 1:100-200
Surowica tegoż chorego w rozc. 1:2000 + zawiesina tyfusowa	-	-	±	+++	+++	+++	-	jak wyżej, pomimo rozc. surowicy na 1:2000
Surowica choler. wys.-aglut. w rozc. 1:10,000 + zawies. wibr. cholery . . .	-	±	+	+++	+++	+++	-	Precyp. w 4, 5 i 6 próbkach przy rozc. surowicy na 10 tys. = prec. 1:50 do 1:4000
Surowica choler. wys.-aglut. w rozc. 1:20,000 + zawies. wibr. cholery . . .	-	-	±	+++	+++	+++	-	jak wyżej, pomimo rozc. surowicy na 1:20,000
Surowica choler. wys.-aglut. w rozc. 1:20,000 + zawiesina tyfusowa	-	-	-	-	-	-	-	druga kontrola, surowica bez zawiesiny też ujemna.

Te same doświadczenia były powtórzone czterokrotnie z jednakowym wynikiem dodatnim w próbkach 4 do 6-ej; drobne różnice (+ albo ±) występowały tylko w 2 i 3-ej.

surowica chorego w pierwszych okresach duru brzuszego nie aglutynuje przy zwykle stosowanych rozcieńczeniach (1:25 — 50 — 100 — 200) i przy użyciu 1 ctm. sz. mieszaniny, to należy aglutynację powtórzyć w dawkach większych (5 — 10-krotnie) z zachowaniem tych samych stopni rozcieńczenia surowicy. To samo odnosi się do innych spraw zakaźnych, np. krwawej biegunki, gruźlicy i t. p.

Wynik opadów zależy od absolutnej ilości składników, ilości znajdującej się jedynie w takiej zależności od rozcieńczenia precypityn wzgl. aglutynin, że przy olbrzymim rozcieńczeniu ostatnich należy zamiast 3 lub 5-krotnych, zwiększyć absolutną ilość składników 8—10-krotnie: widoczną jest ta zależność z doświadczeń, zestawionych w tabl. II.

Co do wzrostu miana aglutynacyjnego pod wpływem zmian w samej surowicy, badacze spostrzegali sporadycznie taki wzrost w zależności od różnych przyczyn. Tak na przykład R. Scheller¹⁾, Glässner²⁾ i F. Eisenberg³⁾ zauważyli wzrost miana surowic po dłuższym staniu ich w porównaniu do surowic świeżo zebranych.

Szukając w teorii koloidów objaśnienia powyżej opisanych (tabl. I i II) zjawisk, polegających na roli objętości obydwóch składników w większym stopniu, aniżeli na stopniu rozcieńczenia surowicy swoistej, nie znajdują ścisłej analogii. Stwierdzono niejednokrotnie zależność ciśnienia osmotycznego od ilości cząsteczek w danej objętości⁴⁾.

Być może, że i w danym zjawisku ilość cząsteczek odgrywa pewną rolę. Często roztwory koloidalne zmieniają się stopniowo w zależności od zmian, zachodzących w samych cząsteczkach: amikrony przechodzą w submikrony i następuje w końcu koagulacja, przyczem można zauważyć spadek ciśnienia osmotycznego. Ponieważ wpływ elektrolitów na ciśnienie osmotyczne białka jest stwierdzony, więc i w danym wypadku roztwór soli, działając na większą ilość białka, obniża jego ciśnienie osmotyczne: w sa-

1) Centr. f. Bakteriöl. 1904, t. 36, str. 427 i 694 i 1905, t. 38, str. 100.

2) Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 1905, t. I, str. 640.

3) C. f. Bakter. 1906, t. 41, str. 96 i nast.

4) v. R. Zsigmondy. Kolloidchemie 1912, str. 42.

TABLICA II.

Miano surowicy pozostaje bez zmiany. Ilość obydwóch substancyj wzrasta równomiernie o wartość 1-ej próbki, w ten sposób, że w 2-ej pr. mamy $2 \times$ zaw. 1-ej, w 3-ej $= 3 \times 1$ i t. d.

	Próba wielokrotna na 1 do 8 ctm. sz.								W 8 k. (kontroli) zawiesina bez surowicy.	
	1	2	3	4	5	6	7	8		8 k.
Surowica chorego tyfusow. (14 dzień choroby) rozcz. $\frac{1}{2000}$ + zawiesina tyf.	—	—	±	+	+	+	+	+	—	surowice rozcieńczone na 1:1000.
Surowica świnki morskiej rozcz. $\frac{1}{1000}$ + zawiesina tyfusowa.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. $\frac{1}{4000}$ + zawiesina choleryczna	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. $\frac{1}{4000}$ + zawiesina tyfusowa	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. $\frac{1}{40000}$ + zawiesina tyfusowa	—	—	—	±	+++	+++	+++	+++	—	
Surowica tyfusowa wysokoaglut. w rozcz. $\frac{1}{10000}$ + zawiesina tyfusowa.	—	—	±	+	+++	+++	+++	+++	—	
Surowica choler. nizkoaglut. (3 kr. iniekcye): rozcz. $\frac{1}{20000}$ + zawiesina choleryczna	—	—	—	±	+	+++	+++	+++	—	
Surowica choler. nizkoaglut. (5 kr. injek.): rozcz. $\frac{1}{20000}$ + zawiesina choleryczna.	—	—	±	+	+++	+++	+++	+++	—	
Surowica ludzka od osoby, przed 11 miesiącami uodpornionej wakcyną choleryczną 3-krotnie.	—	—	—	±	+	+	+	+	—	
Surowica ludzka od osoby, przed 3 mies. uodpornionej wakcyną tyfusową 2-krotnie.	—	—	—	±	+	+	+	+	—	

mych mikronach następują zmiany, a w następstwie zjawia się koagulacja. To objaśnienie nie tłumaczy nam jednak wpływu i udziału surowicy swoistej, ani też roli zwiększonych dawek precypitynogenu.

W założeniu tworzenia się swoistych opadów odróżnia się zjawisko aglutynacji od precypitacji: pod pierwszą nazwą rozu-

mie się opadanie ciał bakteryjnych, pod drugą koagulację związków rozpuszczonych w ekstraktach i przesączach bezbakteryjnych. Jedno i drugie zjawisko wymaga współrzędnie trzech czynników — współdziałania antygeny (aglutynogen wzgl. precypitynogen), przeciwciała (aglutynina wzgl. precypityna) i fizjologicznego roztworu soli.

Istnieje niemało prac, dążących bądź do utożsamienia lub analogii obydwóch zjawisk, bądź też do wykazania zasadniczej różnic między nimi. Na mocy spostrzeżeń z codziennej praktyki pragnę wypowiedzieć pogląd, że zarówno pod wpływem surowicy chorych, jak i surowicy zwierząt uodpornionych w połączeniu z odpowiednią zawieszyną bakteryjną odbywają się równocześnie w jednych i tych samych próbkach obydwaj zjawiska: aglutynacyi prawie stale towarzyszy precypitacya. Ta ostatnia zwykle do tego stopnia przewyższa w niższych rozcieńczeniach pierwszą, że mówimy o aglutynacyi dodatniej wtedy, kiedy należałoby stwierdzać obecność precypitacyi. Nietylko przy zwykłym badaniu makroskopowem, ale również przez odważanie stwierdziłem, że precypitat był 10 do 20 razy większym od użytej masy ciał bakteryjnych. Również drobnowidzowo miałem sposobność wielokrotnego przekonania się, że w swoistych aglutynatach zlepki bakteryjne stanowią znikomą mniejszość, główna część zaś opadów składa się z mas i kłaczek bezkształtnych, bezbakteryjnych: precypitat więc przeważa nad aglutynatem.

Dodając do zawiesziny bakteryjnej surowicę odpowiednią swoistą w szeregu próbek w dawkach stopniowo ubywających czyli w rozcieńczeniu stale wzrastającym, stale spostrzega się wybitną „aglutynacyę“ (+ + +) w niższych i częściową (+) w wyższych rozcieńczeniach.

Ten ogólnie znany fakt objaśnia się, mojem zdaniem, tem, że t. zw. wybitna aglutynacya jest połączeniem precypitacyi z aglutynacyą, a opady częściowe zawierają wyłącznie aglutynaty: czyli że miano surowicy aglutynacyjnej jest stale wyższem od precypitacyjnego. Jeżeli nawet niema opadów częściowych przy wykonanej reakcyi, co niekiedy zdarza się przy znacznej różnicy rozcieńczeń (np. 200 — 500 — 1000 i t. d.), to jednakowoż zjawiają się one, o ile zastosujemy większe stopniowa-

nie, czyli mniejsze różnice między jednym rozcieńczeniem a następnym.

Zdarzało mi się nieraz otrzymać reakcję Wida'a częściową (czyli właściwą aglutynację) przy rozcieńczeniu serum 1:250 i wybitną przy 1:200 i tylko w tem ostatniem rozcieńczeniu stwierdziłem precypitat, oczywiście włącznie z aglutynatem.

W celu stwierdzenia własności chemicznych powstałych opadów, wykonywałem następujące badania: Płyn z ponad opadu usuwałem zapomocą pipetki włoskowatej, następnie osad przemywałem dwukrotnie fizyologicznym roztworem soli. Oczyszczony osad okazał się nierozpuszczalnym w wodzie destylowanej, rozpuszczalnym zaś w słabych roztworach soli i ługu. Po oddzieleniu roztworu soli, pozostały osad rozpuszczałem w słabym ługu sodowym (1%). Otrzymany płyn, zawierający minimalne ilości nierozpuszczonych kłaczków, sączyłem dwukrotnie przez sączek z bibuły chemicznie czystej i z klarownym przesączem wykonałem następujące reakcje:

1) do części przesączu dodano jednakową objętość nasyconego roztworu siarczanu amonu, przyczem otrzymano wyraźne zmętnienie, stopniowo opadające. Siarczan magnezu przy nasyceniu płynu wywołuje również osad;

2) do drugiej części dodawano kroplę rozcieńczonego kwasu octowego, i przy tej próbie tworzyło się zmętnienie, a po pewnym czasie nieznaczny kłaczkowaty osad;

3) do trzeciej części przesączu dodawano kwasu fosforowo-wolfrامowego (10%): w punkcie zetknięcia płynów powstawał biały pierścień;

4) czwarta część po zmieszaniu z alkoholem mętniała i po pewnym czasie wydzielala osad.

Wszystkie powyższe próby, a zwłaszcza pierwsza z nich — przemawiają za tem, że opady składają się ze związków, należących do grupy globulin. Tylko drobna część opadów w postaci nierozpuszczalnych kłaczków składała się z bakteryi, a po części z globuliny, ponieważ niezupełna rozpuszczalność w ługu może być spowodowana przez dłuższe znajdowanie się osadów w roztworze soli: niektóre rodzaje globuliny, znajdując się przez dłuższy czas w roztworach wodnych albo solnych, stają się nierozpuszczalne.

W dalszym ciągu wykonywanych doświadczeń, chciałem sprawdzić, czy do zawiesin bakteryjnych przez uwarstwienie z odpowiednią swoistą surowicą da się zastosować odczyn pierścieniowy precypitacyjny Uhlenhuth'a, stosowany przez Krausa do bezbakteryjnych przesączów. Stosowałem też odczyn ten w modyfikacji proponowanej do skrytego krwawienia przez Br. Kretkowskiego, mojego współpracownika (St. Petersburg. Medicin. Wochenschr. 1909). Mianowicie, do surowicy swoistej, nierozcieńczonej i rozcieńczonej, w bardzo wązkich probówkach dodawałem gęstą zawiesinę odnośnych bakteryj — nie w fizyologicznym roztworze NaCl, lecz o podwójnej koncentracji; zawiesina była ostrożnie wpuszczana po ścianie zapomocą pipetki w celu otrzymania dwóch warstw. Przy skoncentrowanej surowicy zajmowała ona górną, przy rozcieńczonej dolną warstwę.

Zauważyłem, że natychmiast po uwarstwieniu tworzy się biały pierścień w miejscu zetknięcia się płynów przy użyciu homologicznych precypityny i precypitynogeny — np. surowicy chorego tyfusowego i gęstej zawiesiny laseczników duru brzuszego w 1.7% roztworze NaCl.

Pierścień zwykle tworzy się natychmiast i nie później jak po 20 — 40 minutach przy pokojowej temperaturze. Ten odczyn występował niekiedy tak wyraźnie, że wpośród długiej seryi probówek można było stwierdzić odrazu i rozpoznać tę, w której obie znajdujące się w styczności substancje były wzajemnie swoiste.

Doświadczeń tych wykonano setki, nie będę ich przytaczał szczegółowiej, ponieważ w ostatecznym wyniku próba ta okazuje się niemożliwą do wykonania w praktycznym zastosowaniu. Mianowicie jeden i ten sam odczyn z temi samemi odczynnikami, powtórzony w kilkunastu probówkach, daje niezupełnie zgodne wyniki — w jednych dodatne, w innych ujemne. W tych ostatnich powstają zamiast pierścieni opady. Na wynik wywiera wpływ gęstość zawiesiny, mniej lub więcej ostrożne uwarstwienie, oraz częste zjawisko opadów nieswoistych z powodu nadmiernego nasycenia surowicy i gęstości zawiesiny.

Zamiast zawiesiny bakteryjnej lub przesączu w celu otrzymania precypitatatów można użyć wysuszonych preparatów bakteryjnych. Przekonałem się o tym fakcie, przez zanurzenie cienkich rurek włoskowatych w surowicy chorych tyfusowych,

rozcieńczonej od 1:1 do 1:1000 razy. Powierzchnia kapillarów pokryta była cienką warstwą zawiesiny tyfusowej, następnie wysuszona i dokładnie przemyta wodą przed zanurzeniem do surowicy — w tym celu, aby komórki bakteryjne znajdowały się w styczności z surowicą, lecz nie tworzyły zawiesiny. Otrzymany w niektórych próbkach wyraźny precypitat pod wpływem katalitycznego działania bakterij wewnątrz, bądź zewnątrz rurek włoskowatych, dowodzi, że opady swoiste można otrzymać nawet w warunkach nieobecności zawiesiny lub przesącza. Opady otrzymują się wyraźne przy użyciu większej ilości surowicy (do 3 — 5 ctm. sz.), niekiedy i w 1-ym ctm. sz., ale na wynik znacznie wpływa trudny do wypełnienia i skontrolowania warunek taki, aby warstwa bakterij wysuszonych była dość gęstą, przylegała szczelnie do powierzchni i nie zmyła się pod wpływem prądu wody. Wykonano bardzo dużo odnośnych doświadczeń, nie przytaczam ich jednak z powyższych względów, uniemożliwiających zarówno, te próby jak i pierścieniowe w wykonaniu praktycznym.

Od chwili odkrycia reakcji Widala, mnóstwo badaczy ustaliło fakt, że przeciętnie odczyn dodatni otrzymać można nie wcześniej, jak na 7 — 11 dzień choroby. Zdarzają się (wprawdzie rzadko) przypadki pozytywnego odczynu na 3 — 5, ale więcej stwierdzono takich, w których reakcja Widala zjawiała się dopiero w 18-ym, 22-im, 25-ym, 32-im, nawet w 40-ym dniu choroby. W pierwszym więc okresie duru brzuszego, kiedy wczesne rozpoznanie miałoby wielką doniosłość, odczyn serodyagnostyczny zawodzi.

Zawodzi też aglutynacja w czasie gruźlicy. Jak wiadomo (Arloing i Courmont 1898), surowica chorych na gruźlicę albo wcale nie aglutynuje, albo daje opady w rozcieńczeniach niewiele wyższych ponad normę fizyologiczną=1 na 5 do 20; według Jessen'a 1:25 jest najniższem mianem. Wskutek tego otrzymano do 30% wyników dodatnich u osób zupełnie zdrowych (13—25% Paltauf, 22—55% Carrières); natomiast ludzie, dotknięci gruźlicą, niektórzy nawet prosówkową, wykazywali w surowicy odczyn dodatni w 15—88% według pierwszego i 51 do 58% według drugiego z wymienionych badaczy.

Dużo więc danych przemawia za tem, że zarówno w pierwszym okresie duru brzuszego, jak w czasie gruźlicy surowica

chorych zawiera zbyt małą zawartość przeciwciał — w porównaniu do zawartości, niezbędnej do ujawnienia odczynów serodyagnostycznych — aglutynacji i precypitacji. Musimy więc dążyć do skoncentrowania przeciwciał oraz do uczulenia samego odczynu, wzgl. spotęgowania miana.

Co do koncentracji przeciwciał w surowicach antytoksycznych proponowano niemało metod¹⁾: z bardziej znanych przytoczę metodę Gibson'a zapomocą osadzania siarczanem amonu (3-krotna koncentracja), Gibson-Banzhaf'a (5-krot. konc.), oraz nowsze metody Brieger-Krause'go za pomocą chlorku sodowego, Brunner-Pinkus'a siarczanu sodowego i t. d. Te dane nie dadzą się zastosować do koncentracji precypityn.

W ścisłym związku z zakresem zamierzonych i wykonanych przezemnie doświadczeń stoi sprawa, niezupełnie dotychczas wyjaśniona, z jaką frakcją globulinową wiążą się swoiste precypityny. Wnioski badaczy są rozbieżne i nie wiadomo jeszcze ściśle, czy precypitynę i aglutyninę wiąże euglobulina czy pseudoglobulina²⁾. Wiadomo tylko, że żadne z przeciwciał nie jest związane z albuminą. Z tego powodu w planie następnych moich doświadczeń nie mogłem uwzględnić poszczególnych frakcji, lecz starałem się dążyć do możliwego wyjaśnienia sprawy na drodze empirycznej. Tak więc stosowałem do przygotowania zawiesin ubywające koncentracje $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ od 76 do 0.59%, lub też wzrastające NaCl od 0.85 do 8.5% same, lub z dodatkiem $\text{CH}_3\text{.COOH}$.

Z pośród olbrzymiej ilości dokonanych prób przytoczę część ich: p. tab. III, IV i V.

¹⁾ O koncentracji przeciwciał drogą wymrażania (metoda Bujwida), oraz wydzielenia globuliny z surowic p. Samuely w podr. Abderhalden'a—Hand. d. biochem. Arbeitsmethoden, 1910, t. 2, str. 360; w podr. Hoppe-Seyler'a—Hand. d. phys. u. path. chem. Analyse, 1909, 8 wyd., str. 406; poczęści w podr. chemii fizyol. Hammarsten'a, biochem. Oppenheimer'a i „Methoden d. Antikörperdarstellung“ M. Ficker'a (II t. Kolle-Wassermann, str. 210 i nast.).

²⁾ Tak np. precypityny są związane z euglobuliną (Pick, Bang), lub tylko częściowo z nią (Franceschelli), aglutyniny tyfusowe przeważnie z pseudoglobuliną (Pribram); zlepniki ochronne i antytoksyny w surowicy kóz, koni i królików z frakcją euglobulinową (Gibson i Collins), hemolizyny w obydwóch frakcjach (Fuhrmann), antytoksyny w eu- i pseudoglobulinie. Szczeg. patrz: Franceschelli: Arch. f. Hygiene 1909, t. 69, str. 207; Pribram w podręczniku Kraus-Levaditi, t. 2, str. 87 i Ficker w podręczniku Kolle-Wassermann, t. 2, str. 230.

TABLICA IIIa.

Precypito-aglutynacja zawiesiny tyfusowej, wykonanej w różnej % NaCl od 0.85 do 8.5%, pod wpływem surowicy tyfusowej królika, uodpornionego 9-krotnie wakcyką tyfusową. Wszystkie zawiesiny dla usunięcia opadów samoistnych stały uprzednio 2 godziny w cieplarni. Z każdej koncentracji NaCl wykonano 9 prób: rozc. serum od 1 : 50 do 1 : 20000. W każdej próbie po 1 ctm. sz. zawiesiny. Kontrola 1-a zawiera zawiesinę bez surowicy, k₂ — zawiesinę z surowicą w rozc. 1:2000 (jak w 6 ej próbówce) z dodatkiem 1 kropli 10% kw. octowego.

	Rozcieńczenia surowicy									kontrola	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	k ₁	k ₂
I. 0.85% NaCl	+	+	+	+	+	□	—	—	—	—	+
I. 0.85% NaCl + 1 kr. 10% CH ₃ . COOH	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
II. 1.70 NaCl.	++	++	++	++	++	±	±	±	—	—	+
III. 2.55 NaCl	++	++	++	++	++	±	±	—	—	—	+
IV. 3.40 NaCl	++	++	++	++	+	+	±	±	—	—	+
V. 4.25 NaCl.	+	+	+	—	—	□	—	—	—	—	□
VI. 5.10 NaCl	+	+	+	±	—	□	—	—	—	—	□
VIII. 6.80 NaCl	+	+	+	±	—	□	—	—	—	—	□
IX. 8.5 NaCl.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
X. 8.5 NaCl + 1 kr. 10% CH ₃ COOH	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Wyniki sprawdzane 3-krotnie: po 8, 16 i 24 godz. Po 8 godzinach najsilniej wystąpiła precypitacja w próbkach, zawierających dodatek CH₃, COOH; po 24 godzinach, jak i po 16. Spotęgowanie miana przez kwas octowy nastąpiło tylko w mniejszych koncentracjach NaCl (0.85 i 1.70). Opady nieswoiste wypadły tylko przy 8.5% NaCl bez kwasu. Najwyższe miano w bezkwasowych aglutynacjach dały konc. NaCl: 1.70 i 2.55%

Obecność kwasu octowego stale zwiększa miano, o ile nasycenie soli w zawieszynie nie przekracza 2.55%; w wyższych zaś nasyceniach działanie jest wprost odwrotne: kwas octowy zmniejsza miano. Zresztą w nasyceniach zbliżających się do 8.5% wypadają osady samoistne w kontrolach bez udziału surowicy.

Tak na przykład, surowica chorego tyfusowego (14 dzień choroby) dała swoiste opady w rozcieńczeniach nast. z zawiesziną swoistą (na 1 ctm. sz.).

TABLICA IIIb.

Szczepy cholery №№ 26 i 37.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	kontr.	
										10	11
NaCl:	1:500										
I — 0.85	100	200	500	1000	2000	5000	10000	20000	bez surow. z kw. oct.		
II — 1.70	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
III — 2.25	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
IV — 3.40	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
V — 4.25	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
VI — 5.10	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
VIII — 6.80											
X — 8.50											

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	kontr.	
										10	11
I — 0.85											
II — 1.70	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
III — 2.55	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
IV — 3.40	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
V — 4.25	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
VI — 5.10	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
VIII — 6.80											
X — 8.50											

	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000	1/3000
I — 0.85										
II — 1.70	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
III — 2.55	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
IV — 3.40	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
V — 4.25	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
VI — 5.10	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
VIII — 6.80										
X — 8.50										

Czyli:

przy konc. NaCl. 1.70 i 2.25 obecność kwasu (1 kropla 10% kwasu octowego) sprzyja precyp., daje miano 1:2000 + tam gdzie bez kwasu miano = 1:1000 +.

Natomiast

przy stężeniach > 3.40 NaCl obecność kwasu hamuje precypitaty.

w NaCl 0.85% bez kwasu 1:200 z kwasem 1:2000
 w potr. roztworze (2.55%) „ 1:200 „ 1:2000
 w 5% siarczanie amonu „ 1:500 (zabrakło serum)

Surowica królika uodporn. (tyfusowa aglut.) z odpowiednią zawiesiną tyfusową (na 1 ctm.³):

w NaCl 0.85% bez kwasu 1:2000 z kwasem 1:5000
 w potr. NaCl (2.55%) „ 1:2000 „ 1:5000
 w 5% siarczanie amonu „ 1:2000 „ 1:2000

TABLICA IV.

Miano precypitacyjno-aglutynacyjne po 15 minutach, 4 godzinach i 24 godzinach. Surowica królika, uodpornionego mieszaną wakcyką choleryczną 5-krotnie; krew zebrana szprycą z serca; próby wykonane w kilka godzin później po oddzieleniu surowicy; zawiesina wykonana ze szczepu cholery № 36, tj. jednego z kilkunastu szczepów, wchodzących w skład wakcyny. W rachubę wzięto tylko +, nie uwzględniono ±.

Miano w obliczeniu na 1 ctm. sz.

	po 15 min.	po 4 godz.	po 24 godz.
I. 0.85 NaCl . .	1:50	1:50	1:100
II. 1.70 NaCl . .	1:100	1:100	1:200
III. 2.55 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
IV. 3.40 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
V. 4.25 NaCl . .	1:200	1:500	1:2000!
VI. 5.10 NaCl . .	1:200	1:200	1:500
VII. 5.95 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
VIII. 6.80 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
IX. 7.65 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
X. 8.5 NaCl . .	1:200	1:200	1:5000

w IX mniejsze, w X większe opady samoistne w próbkach kontrolowych: zawiesina bez surowicy.

Na drugi dzień powtórzono to samo doświadczenie: i znów najwyższe miano ze szczepem w. cholery № 36 otrzymano w V próbie, tj. przy 4.25% NaCl; w kontrolach tylko X próba (8.5% NaCl) dała nieswoiste opady. Przy modyfikacji tychże prób z b. rzadką, zaledwie opalizującą zawiesiną otrzymano w V próbce nawet wyższe miano: 1 na **2500**. Niezupełnie identyczne wyniki otrzymano z innymi szczepami cholery (tablica V.)

Surowica królika uodpornionego (paratyfusowa B aglut) z odpowiednią zawiesiną paratyfusową (na 1 ctm. sz.):

z fizyol. roztworem soli	bez kwasu	1:1200	z kwasem	1:2000
w potrójn. (2.55%)	"	1:2000	"	1:4000
w 5% siarczanie amonu	"	1:500	"	1:1000

Przez inaktywację surowicy 1 godz. przy 60° udało się tylko wzmocnić precypitat w większych koncentracjach, t. j. usunąć t. zw. „zonę hamującą“ — bez podniesienia ogólnego mia-

TABLICA V. (na 1 ctm. sz.)

Każdą próbę wykonano w 9 probówkach po 1 cm. zawies. z nbyw. dawkami surowicy i 2 kontrolami.

Szczep cholery N 26 z sur. swoistą:	miano „pa“ = 1:2000 (zaw w fiz. NaCl)
„ „ „ „ „ „	= 1:2000 („ w 2.25% NaCl)
„ „ „ „ „ „	= 1:5000 („ „ „ + 1 kr. 10% CH ₃ COOH)
„ „ „ „ „ „	(„ w 10% (NH ₄) ₂ SO ₄)
Szczep cholery N 18 z sur. swoistą:	„pa“ = 1:1000 (zaw. w fizyol. NaCl)
„ „ „ „ „ „	= 1:5000 („ „ „ + 1 kr. 10% CH ₃ COOH)
„ „ „ „ „ „	= 1:500 („ w 5% Na ₂ SO ₄)
Szczep b. typhi abdom. z sur. swoistą:	„pa“ = 1:2000 (zaw. w fizyol. NaCl)
„ „ „ „ „ „	= 1:5000 („ „ „ + 1 kr. 10% CH ₃ COOH)
„ „ „ „ „ „	= 1:20000 („ w 5% Na ₂ SO ₄)
	[w 5% Na ₂ SO ₄ zawiesina v. cholerae daje ubytek, b. typhi wzrost miana].
Szczep cholerae asiat.	„pa“ = 1:1000 (przy zawiesinach od 1.70 do 3.40% NaCl)
„ „ „ „ „ „	= 1:2000 (zawiesina 1.70% NaCl + 1 kr. 10% CH ₃ COOH).
„ „ „ „ „ „	= 1:500 (zawiesina > 3.40 do 5.10% NaCl)
„ „ „ „ „ „	= 1:200 (zaw. 5.10% NaCl + 1 kr. 10% CH ₃ COOH)
Szczep v. cholerae as. N 19	„pa“ = 1:1000 (zaw. 1.70 i 2.55% NaCl)
„ „ „ „ „ „	1:2000 („ „ też i „ + 1 kr. 10% CH ₃ COOH)
„ „ „ „ „ „	1:200 (zaw. > 3.40 do 5.10% NaCl)
„ „ „ „ „ „	1:200 (to samo z dod. 10% CH ₃ COOH)
„ „ „ „ „ „	0 („ „ „ nadm. kw. octowego).
Vibrio berolinensis z surowicą swoistą choler.	„pa“ = 1:50± (zaw. fizyol. NaCl)
„ „ „ „ „ „	1:50± (to samo z zaw. do 3.40% NaCl)
„ „ „ „ „ „	0 (zaw. > 4.25% NaCl)
„ „ „ „ „ „	0 (wszystk. konc. NaCl+kw. oct.)

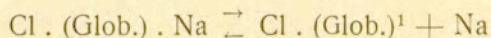
Większe dawki kwasu octowego 3 — 4 krople tegoż 10% roztworu dawały pseudoprecypitaty nawet w rozc. 1:1000 w zawies. v. berolinensis. Te same wyniki otrzymano z v. non phosphorescens.

Zawiesina tyfus. 1 ctm. sz. + sur. chorego (9 dzień choroby):	„pa“ = 1:200 (zaw. w fiz. NaCl)
„ „ „ „ „ „	1:1000 („ w fizyol. + 1 kr. 10% CH ₃ COOH).
„ „ „ „ „ „	∞ (pa i w kontrolach, zawies. wykonana w 10% (NH ₄) ₂ SO ₄).
Zaw. tyfus. 1 ctm. sz. + sur. chorego (14 dz. choroby):	„pa“ = 1:200 (w fiz. NaCl te i następne)
„ „ „ „ „ „	1:1000 (dodano do poprzedn. po 24 godz. powt. sur. chorego rozc. $\frac{1}{100}$).
„ „ + sur. mało uodp. królika:	„pa“ = 1:200 } do probówek dod. i ujem-
„ „ „ „ „ „	1:2000 } nych dodano po 24 godz. ilość tegoż serum., odpow. rozc. $\frac{1}{100}$.

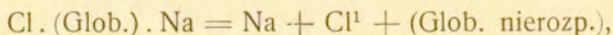
na; natomiast ogrzewanie zawiesin bakteryjnych (p. tabl. X) wznosi miano:

Z bardzo wielu doświadczeń, których część zestawiona jest w tablicach w pracy niniejszej, wynika ten fakt niezbity, że z substancji, wywierających wpływ na zawiesinę, podnosi miano precypitacyjne mała obecność kwasu octowego przy niezbyt wysokiej zawartości soli.

Uzasadnianie tego faktu znajdujemy w teorii chemii koloidów. Właściwością globulin jest ich rozpuszczalność w rozcieńczonych roztworach soli obojętnych i przeciwnie nierozpuszczalność w wodzie czystej. Nadmiar soli strąca globuliny, które ponownie rozpuszczają się przy rozcieńczeniu¹⁾. Według Hardy'ego²⁾, globulina jest ciałem w wodzie nierozpuszczalnym, a rozpuszczalność jej w solach alkaliu uważać trzeba za tworzenie się związków podwójnych. Podobnie jak to ma miejsce przy związkach nieorganicznych, globulina tworzy z chlorkiem sodu związek Na. (Glob). Cl, związek ten rozszczepia się (dysocjacja) w następujący sposób:



Obecność chlorku sodu powstrzymuje do pewnego stopnia rozszczepianie. Przy bardzo znacznym rozcieńczeniu rozpada się powyższy związek, tworząc nierozpuszczalną globulinę według następującego wzoru:



przyczem zwiększa się zmętnienie. Przy średnim nasyceniu soli kuchennej większa część globuliny zostaje w roztworze, jako elektrolit, a mniejsza w postaci submikronów. W bardziej skoncentrowanych roztworach NaCl rozszczepienie związku globuliny z chlorkiem sodu zostaje powstrzymane i następuje tworzenie się osadu.

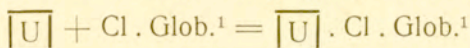
W zgodzie z temi poglądami znajdują się wyniki doświadczeń Michaleli's'a³⁾, który stwierdził, że roztwory globuliny, roz-

¹⁾ Richard Zsigmondy. Kolloidchemie, Lipsk, 1912, rozdz. Eiweisskörper, str. 246.

²⁾ Hardy. Journ. of Physiol. 1905, 33, str. 251—337.

³⁾ Virch. Arch. f. path. Anat. u. Phys. 1905(179, str. 195—208.

cieńczone wodą, zawierają daleko większą ilość ultramikronów, niż roztwory rozcieńczone fizyologicznym roztworem NaCl. Roztwory koloidalne są więcj stałe i nie wypadają z nich cząsteczki globuliny, co można najłatwiej objaśnić naładowaniem elektrycznym ultramikronów globulinowych. Schematycznie te dane możnaby przedstawić według następującego wzoru:



Co do połączenia globulin z kwasami i zasadami, Hardy przypuszcza powstawanie rzeczywistych jonów białkowych, którym przeciwdziała hydroliza. Związki globuliny ze słabszymi kwasami podlegają hydrolizie, tworząc ultramikrony w znacznie większej ilości, niż połączenia z silniejszymi kwasami. Powstałe ze związków soli z globuliną ultramikrony są naładowane elektrycznie, jak wyżej wskazano. Naładowane ultramikrony odznaczają się daleko większą ruchliwością od właściwych jonów białkowych; na mocycznego Hardy odróżnia właściwe jony od rzekomych, to jest naładowanych ultramikronów.

Zależność precypitatów od większej lub mniejszej ilości dodanego kwasu octowego można objaśnić własnościami elektrolitów. Jak wiadomo, sole alkalii i magnezu, dodane w większej ilości, strącają białko surowicze; wypadanie białka zależy od anionów. Jeżeli weźmiemy na przykład sole sodowe różnych kwasów, to działanie strącające zależne jest tylko od kwasu i postępuje w następującym porządku: Najsilniej działa:

cytrynian > winian > siarczan > octan > chlorek > azotan > jodek i >rodanek. Octan działa silniej, niż chlorek: wprowadzając więc jony kwasu octowego do środowiska, zawierającego tylko jony chloru, zwiększamy tem samem zdolność precypitacyjną. Te dane objaśniają nam przyczynę, dlaczego kwas octowy tylko w pewnych koncentracjach NaCl zwiększa precypitat, przy nadmiernem zaś nasyceniu (p. tabl. III) wpływ $CH_3.COOH$ zostaje paraliżowany nadmiarem jonów chloru.

O wpływie kwasów, a w szczególności kwasu octowego na przebieg aglutynacji znajdujemy w piśmiennictwie dość dużo danych¹⁾. Stwierdzono, że wibryony cholery pod wpływem 1%

¹⁾ Szczegóły patrz u Paltauf'a i Kraus'a w II-gim i Fornet'a w III-cim tomie podr. Kollé-Wassermann, 2-gie wyd.

ługu potasowego tracą charakter aglutinogenu odnośnie do surowic swoistych (Neufeld). Neisser i Friedemann zauważyli zdolność osadzania laseczników tyfusowych przez minimalne dawki kwasu. Przy każdym odczynie precypitaty tworzą się szybciej i prędyzej (Kraus), kwaśna reakcja sprzyja tworzeniu się opadów, o ile powodują ją kwasy organiczne — kwas octowy lub kwaśne sole (fosforan sodu) (Rostowski). Spadek zdolności opadowych zauważyli w bakterjach duru brzuszego Wassermann przy użyciu silnie zasadowych podłoży, Lentz i Tietz przy stosowaniu agaru z zielenią malachitową, Kirstein przy hodowaniu las. tyfusowych w bezbiałkowym agarze z moczem. Ostatni z autorów spostrzegł wzrost miana przez hodowanie laseczników tyfusowych na kartoflu z dodatkiem 1% kwasu octowego. We wszystkich tych przypadkach zarówno spadek jak wzrost miana wracał do normy po zastosowaniu podłoży zwykłych. Eisenberg¹⁾ przez zmieszanie 1 cz. surowicy z 1 cz. HCl $\frac{1}{2}$ N otrzymywał inaktywację, również przez dodatek H₂SO₄, co początki udało się aktywować przez szybkie zobojętnienie kwasu. Ze nadmiar kwasu octowego szkodzi aglutyninom, wiadomo też z prac Winterberg'a.

Większość badaczy uznała cechy zbliżone między aglutynacją bakteryj a opadami zawiesin koloidalnych przez elektrolity i niekiedy przez nie-elektrolity; różnicę stwierdzono tylko w działaniu soli i ziem alkali. W ostatnich latach zajmowano się niemało t. zw. kwasową aglutynacją bakteryj, zwłaszcza tyfusowych. Michaelis²⁾ sądzi, że optimum koagulacji białka denaturowanego schodzi się z punktem izoelektrycznym, jaki powstaje przy słabokwaśnej reakcji roztworów białkowych. Co do bakteryj, te opadają tylko przy pewnym stopniu kwasowości, nie jednakowej dla różnych gatunków bakteryj, wskutek czego aglutynacją kwasową — zdaniem M. — można posiłkować się przy różnicowaniu bakteryj. Według Beniasch'a³⁾, aglutynacja kwasowa nie zależy ani od kwasu ani od anionów, lecz wyłącznie od jonów wodorowych, i występuje tylko przy pewnej określonej koncentracji H—jonów (H): dla bakteryj tyfusowych optimum = 4×10^{-5} . W granicach tejże koncentracji znajduje się

1) Centr. f. Bakteriöl. 1906, t. 41 str. 760 i nast.

2) Deut. Medic. Wochenschr. 1911, str. 969 i Centr. f. Bakter.

3) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912, t. 12, str. 368.

grupa bac. enteritidis: paratyphus B i A znajdują się w jednokowych granicach koncentracji H—jonów; również nie da się tej drodze odróżnić bac. diphteriae od pseudodiphteriae i wogóle bakteryi swoistych od zbliżonych. Sole wywierają wpływ hamujący na aglutynacyę kwasową.

W dążeniu do uzyskania jaknajwyższego miana precypitacyjno-aglutynacyjnego („pa“), wykonałem jeszcze następujące badania nad wpływem kwaśnych i zasadowych podłoży na własności bakteryj. Do tego celu użyłem ściśle mianowanych podłoży według skali Madsen'a: mianowicie słabo-kwaśnych (+20°), słabo zasadowych (-20°), zasadowych (-60°) i (-105°). Na takich podłożach agarowych zaszczerpiono b. typhi abdomin. i w. cholerae asiat. (szczep. N 36). Hodowla przy 37°C trwała 20 godzin, poczem z nich (po uprzednim przesianiu na podłoża neutralne 0° Madsen'a) wykonano zawiesiny, postawiono je na 3 godziny dla kontroli w cieplarni, i wreszcie agl. z surowicami choleryczną i tyfusową wysoko-aglutynującą w rozc. od 1:50 do 1:20.000, t. j. znacznie powyżej miana tych surowic (p. tabl. VI).

Ponieważ okazało się, że wzrost miana do 1:20.000 nastąpił tylko przy zastosowaniu zawiesin bakteryj z podłoża kwaśnego (+ 20 M.), to dodatkowo wykonano z 2-dniowej kultury zawiesinę w celu określenia miana najwyższego. Okazało się, że „pa“ dodatnia wyraźnie.

dla zawiesiny tyfusowej przy rozcieńczeniu serum do 1:200.000!
„ „ cholerycznej nie podniosła się wyżej 1:20.000

Zmniejszenie miana z podłoży alkalicznych również wyraźniejsze było dla bakteryj tyfusowych, jak i wzrost miana.

Z hodowli zaszczerpionych na obojętne podłoża (0° M.) wykonano po 2 godzinach emulsje w celu stwierdzenia rewersybilności zjawiska, t. j. czy zjawiska ubytku i wzrostu są odwracalne czy stałe. Szczegóły i wyniki tej seryi doświadczeń są zestawione w Tabl. VI.

I w tych doświadczeniach, jak i w poprzednich wyjaśniło się, że uczulenie bakteryj zapomocą kwasu octowego więcej wpływa na bakterye tyfusowe, aniżeli na wibryony choleryczne pod względem precypitatów i wzrostu miana precypitacyjnego.

Badania nad zamianą NaCl przez siarczan amonu (tabl. VII i VIII) dowodzą, że zawiesiny mogłyby być przygotowane na 5%

TABLICA VI a.

„Pa“ tyfusowa. Zawiesina bakteryj z jednodniowych kultur na podłożach mianowanych według Madsen'a od +20 do -105. Surowica swoista zwierząt uodpornionych.

Miano „Pa“	Stopnie Madsen'a				odwrotność zjawiska z podłoża 0° M. : pasaze				
	+20	-20	-60	-105	z +20 na 0°	z -20 na 0°	z -60 na 0°	z -105 na 0° M.	
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/1000	+	+	+	-	+	+	+	+	
1/2000	+	+	+	-	+	+	+	+	
1/5000	+	+	-	-	+	+	+	+	
1/10000	+	+	-	-	+	+	+	+	
1/20000	+	-	-	-	+	+	+	+	

(na 1 ctm. sz.)

W 4 pion. rubrykach z prawej strony „pa“ w zawiesinach tyfusowych z podłoż 0° M, na których materiał wyszczepiono z podłoż kwaśnych +20° i zasadowych do -105° M.
Wynik zawiesin z 0° = +20° M.

kontrolę w 9 próbkach (bez surowicy) ujemne.

Wobec osiągnięcia najwyższego miana w zawiesinach z podłoż słabo-kwaśnych +20 M. (1/20000) wykonana dodatkowo „pa“ z takichże dwudniowych podłoż dała miano aż do 1:200,000!

B. typhi abdom.	+20 M.
1/5000	+
1/10000	+
1/20000	+
1/50000	+
1/100'000	+
1/200'000	+

(NH₄)₂SO₄, ale taka zamiana nie miałaby żadnego wpływu na przebieg reakcji, ani na wysokość miana.

Cały szereg oznaczeń meiostragminowych wykonano w celu stwierdzenia różnic w napięciu powierzchniowym w precypitynogenach w porównaniu do napięcia pow. mieszanin po związaniu precypitonogenów i precypityny z takim obliczeniem czasu

TABLICA VIb.

„Pa“ chleryczna (też na 1 ctm. sz.) Zawiesina wibrjonów cholery (szczep № 36) z 1-dniowych hodowli na podłożach mianow. od +20° do -105° Madsen'a. Surowica swoista zwierząt uodpornionych. W prawej części tablicy zjawisko odwracalności: z poprzednich podłóż materiały przeszczepiono na obojętne podłoża (0° M) i z tych ostatnich wykonano zawiesiny.

Miano „pa“	stopni Madsen'a				odwrac. zjawiska				(na 1 ctm. sz.)
	+20	-20	-60	-105	z +20 na 0°	z -20 na 0°	z -60 na 0°	z -105 na 0°	
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/2000	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/10000	+	+	-	-	+	+	-	-	
1/20000	+	+	-	-	-	-	-	-	
1/50000	-	-	-	-	-	-	-	-	
1/100000	-	-	-	-	-	-	-	-	

Widzimy więc, że wzrost miana cholery z podłóż kwaśnych jest wprawdzie znaczny, ale mniej wybitny niż w zawiesinach tyfusowych: to samo odnosi się do zjawiska odwracalności.

TABLICA VII.

Precypitaty bez udziału surowic swoistych. Zawiesiny przygotowane:

w siarczanie amonu o stężeniu:	b. typhi abd.	v. cholerae asiatic.
76 %	+	+
38 „	+	+
19 „	+	+
9.5 „	-	-
4.75 „	-	-
2.38 „	-	-
1.19 „	-	-
0.59 „	-	-

„Pa“: zawiesiny laseczników tyfusowych i wibrjonów cholery (szczep. № 21) w siarczanie amonu o nasyceniu 19% i 9.5%; surowice wysoko-aglutynujące swoiste w rozc. od 1 : 50 do 1 : 200000. Każda próba wykonana w 10 prob. i 2 kontrolach.

konc. 19% (NH₄)₂ SO₄ zawiesiny : 1 ctm. sz.
b. typhi + serum typh. „pa“ = 1 : 1000
v. cholerae 21 + ser. chol. „ = 1 : 2000
w kontrolach niema opadów

konc. 9.5% (NH₄)₂ SO₄ zawiesiny : 1 ctm. sz.
b. typhi + serum typh. „pa“ = 1 : 1000
v. cholerae 21 + ser. chol. „ = 1 : 2000
(takie same miano otrzymano w fizyol. roztw. NaCl.)

surow. chorego (4 tygodni) tyfusowego + zawiesina w 20% siarcz. amonu:

	b. typhi abd.	b. paratyphi B.
1/50	+	+
1/100	+	+
1/200	+	+
kontr. bez surowicy	-	+

taki sam wynik i w zwykłym fizyol. roztw. NaCl. (bez surowicy!)

TABLICA VIII.

Zmiany fizyczne w zawiesinach bakteryjnych bez udziału surowicy i z dodatkiem serum w granicach „pa”. *Vibrio cholerae asiaticae* + serum cholerae. (rozc. 1 : 1000).

Reakcja meiostragminowa Ascoli wykonana za pomocą stalagmometru (na ctm. sz. płynu).

Określenie przewodnictwa elektrycznego zawiesiny bakt. tyfusowych w 5% roztw. $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (przy porównawczym oporze 80 Ohm.)

Stężenie roztworu $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$:	Roztw. siarcz. am. + bakteryje (bez serum)	Zawiesina bakterii w siarcz. am. + serum (2 godz. w cieplarni)	Przyrost (w stalagm.)
5 %	17,0	18,2	1,2
10 %	17,1	18,3	1,2
15 %	17,5	18,2	0,7
20 %	18,5	19,1	0,6
25 %	17,5	19,0	1,5
30 %	17,6	19,6	2,0
35 %	18,0	19,6	1,6
40 %	17,7	21,2	3,5

1) 5% roztwór	79,4 Ohm.	} przewodn. przec. 0,00107
2) zawies. tyfus. w 5% roztw.	79,9 "	
3) " + sur. agl. 1 : 500	79,5 "	
4) " + sur. chor. 1 : 60	79,5 "	
5) " + sur. chor. 1 : 500	79,7 "	

w 0,85% roztw. NaCl (przy porównawczym oporze 70 Ohm.)

1) bez bakterii 0,85% roztw.	76,5 Ohm.	} przewodn. 0,00174
2) zawies. tyfusowe	77,3 "	
3) " + sur. aglut. 1 : 500	77,5 "	
4) " + sur. chor. 1 : 60	77,7 "	
5) " + sur. chor. 1 : 500	77,7 "	

w 2,55% roztw. NaCl (przy porównawczym oporze 80 Ohm.)

1) sam roztwór 2,55%	79,4 Ohm.	} przewodn. 0,00126
2) zawiesina bakterii w nim	79,7 "	
3) " + sur. aglut. 1 : 500	79,6 "	
4) " + sur. chor. 1 : 60	79,8 "	
5) " + sur. aglut. 1 : 500	79,5 "	

Tylko w 5 i 10% roztworze nie było w kontrolach opadów samoistnych.

że reakcja była powtarzana po 2 godzinach, t. j. między pierwszym („periode d'impression“ Bordet'a) a drugim okresem (agglutination proprement dite“) precypitacji.

Antigeny do niektórych z tych doświadczeń były wykonane metodą Ascoli. Różnice między 2-ma oznaczeniami okazały się tak drobne i niestałe, a często nawet biegunowo sprzeczne, że nie można z nich wyciągać dalej idących wniosków i potwierdzić poglądu Pauli, według którego zarówno w precypitacji koloidalnej, jak i aglutynacji bakteryjnej zjawiska zależne są od zmian w napięciu powierzchniowym. Należy zaznaczyć, że wiele teorii, mających objaśnić zjawisko precypitacji, brały pod uwagę zależność koloidów od soli, zjawiska adsorbcyjne, zależne od kwasów i zasad, jak również i metali, zmian w napięciu po-

wierzchniowem lub lepkości (Pauli), ale te dane nie posiadają ściślejszej analogii do wzajemnego oddziaływania dwóch ciał białkowych, wzajemnie swoistych, dających opady w obecności soli; oraz braku opadu w tych wypadkach, jeżeli jedno z tych ciał było nie swoistem względem drugiego. Według nowszych badań Pribrama, bakteryjne zawiesiny mają charakter emulsyi, która pod działaniem surowicy swoistej aglutynującej nabiera suspenzoidowego charakteru kolloidów.

Nie będę przytaczał całego szeregu teoryj, mających na celu udowodnienie, że aglutynacja jest reakcją wybitnie koloidalną, i że tworzenie się swoistych precypitatów zależne jest i od napięcia powierzchniowego i od zmian w stosunku roztworów (bakteryjno-białkowe zawiesiny należą do hydrophilowych albo lyophilowych kolloidów).

Wreszcie w ostatniej seryi doświadczeń przekonałem się, że wpływ dodatni¹⁾ na wysokość miana „pa“ wywiera inaktywacja zawiesin w ciągu 1 godziny przy 56—64°, słabo oddziaływa dodatek komplementu, niema wpływu ogrzewanie surowicy.

Wnioski:

1) Dążenie do otrzymania wzrostu miana precypitacyjnego i aglutynacyjnego ma na celu taką zmianę metodyki badania, aby umożliwić wykrycie swoistych precypityn i aglutynin w surowicy krwi (wczesne okresy duru brzuszego, gruźlica), w wydzielinach chorych i wogóle w tych wszystkich stanach chorobowych, przy których ujemne wyniki agl. i prec. objaśniają się małą zawartością przeciwciał, odpowiadającą w znaczeniu ilościowym wyższym rozcieńczeniom surowic swoistych powyżej ich miana.

2) Wzrost miana aglutynacyjnego bakterij tyfusowych i cholerycznych uzyskać można przez zwiększenie równomierne surowicy i zawiesiny 3—5 do 10 razy, w ten sposób jednak, aby stopień rozcieńczenia surowicy i stosunek wzajemny składników pozostał bez zmiany. Naprz. w razie ujemnej reakcyi Widała można surowicę rozcieńczyć w dowolny sposób, naprz. 1:100

¹⁾ Por. C. Moreschi. Beschleunigung und Verstärkung der Bakterienagglutination durch Antieiwessera, Centr. f. Bakteriologie. 1907, t. 46, str. 456.

TABLICA IX-a*).

Reakcja meiostragminowa Asc o l i. Wpływ łączenia aglutynin z aglutynogenami bez udziału lub z udziałem dopełniacza (komplementa) na napięcie powierzchniowe.

Surowica tyfusowa wysokoaglutynująca.

Surowica tyfus. rozcz. 1:20	Surow. tyfus. + antig. 24-g. tyf. (Asc o l i)	Sur. tyfus. + antig. 24-h tyf. + komplem.	Sur. tyf. ogrzew. + antig. 24-h tyf. + komplem.	Surow. tyfusowa + antig. choler.	Surowica tyfus. + ant. choler. + komplem.
- 0.5	+ 0.6	+ 0.9	+ 1.0	+ 1.4	+ 0.6
- 0.5	+ 0.5	+ 0.6	- 0.2	+ 0.5	+ 0.5
- 0.2	+ 0.5	- 1.0		- 0.4	+ 1.5
+ 0.3	- 0.5	+ 0.3			
	+ 0.3				

Surowica choleryczna wysokoaglutynująca.

Surowica choleryczna w rozcz. 1:20	Sur. chol. 24 g. ant. cholery (Asc o l i)	Surow. chol. + 24-h ant. chol. + kom.	Sur. chol. ogrz. + 24-h ant. chol. lery	Sur. chol. ogrz. + 24-h antig. chol. + komplem.	Sur. chol. 24-h ant. tyfusowy	Sur. chol. + antig. tyf. + komplem.	Sur. chol. ogrz. + ant. tyf. + komplem.
+ 0.3	+ 2.1	+ 1.6	+ 1.4	+ 0.4	+ 0.3	+ 0.3	+ 0.1
	- 0.7	+ 1.5		0	- 1.0	0	0
	0	+ 0.4			- 0.4		

*) W wykonaniu reakcji meiostragminowej (tabl. VIII, I X-a, IX-b) pomagała mi K. Sterlinzanka.

TABLICA IXb.

Zmiany napięcia powierzchniowego:

	przed ogrz.	Po 2h 37°C		przed ogrz.	Po 2h 37°C
Surowica norm. ludzka A . . .	41	40	Surowica tyfusowa zwierzęca B		
Komplement ser. świnki 1-ej. . .	39	39.2	w rozc. 1:20	18	17.5
" " 2-ej. . .	39.2	39.2	" " + antigen sw. (24h) . .	17.4	18.0
Woda destyl. " " . . .	39.4	39.4	" " + antig. swoisty (4h) . .	17.3	17.8
Sur. norm. zwierzęca 1:20. . .	17.2	17.2	" " + antig. z norm organ. . .	18.0	18.5
Sur. " " + kompl. 1y _{aa}	17.0	17.2	" " + ant. norm. + komplem.	18.0	18.0
" " " " " 4:2	17.2	17.0	" " + kompl. (aa) + ant. sw.		
Surow. norm. ludzka B 1:20. . .	17.5	17.5	(24h)	17.5	18.4
Sur. tyfus. zwierz. 1:20 . . .	17.2	17.5	" " + kompl. (2:7) + " "	17.5	17.8
Surow. norm. ludzka C 1:20 . . .	17.0	17.3	" " + kompl. (3:6) + " "	17.3	17.5
Surow. świnki TBc 1:20 . . .	41.0	—	" " + kompl. (4:5) + " "	17.7	18.8
Ser. TBc + antig. TBc . . .	43.0	43.6	" " + kompl. (aa) + ant. sw.		
Ser. TBc + organy norm. . .	42.1	42.2	(4h)	17.5	17.5
Ser. TBc + ant. TBc + kompl. .	42.3	42.0	Sam komplement	17.2	17.4
Ser. TBc + org. norm. + kompl.	41.8	41.0			
Ser. norm. A + org. norm. . .	41.5	41.7	Surowica tyfusowa zwierz. C 1:20	17.5	17.3
Ser. norm. A + antig. TBc . . .	42.1	42.2	" " + antig. tyfus. (1:5) 24h	17.5	17.8
Ser. norm. A + org. norm. + kom.	41.1	41.1	" " + antig. tyfus. (aa) 24h	18.5	19.0
Ser. norm. A + antig. TBc + kom.	42.4	43.2	" " + ant. tyf. skonc. (aa) 24h	20.2	20.2
Ser. TBc 1:20 (ludzkie). . . .	38.8	39.5	" " + kompl. aa + ant. tyf. aa		
" " + antig. norm. (org.) .	40.5	40.5	24 h	17.9	18.5
" " + org. norm. + kompl.	40.5	40.7	" " + kom. aa + ant. nor. 24h	18.0	18.8
" " + ant. TBc + kompl. .	40.8	40.8	" " + kompl. aa + ant. norm.		
Surowica tyfus. zwierzęca A. . .			skonc.	19.0	19.5
Ser. typh. + sur. norm. ludzka _{aa}	17.4	17.3	Sur. tyfus. B zwierzęca (aglutyn.)		
" " + " 2:1.5 . . .	17.5	17.5	" " + antig. tyf. 24h _{aa} . .	19.5	18.0
" " + " 2.5:1 . . .	17.5	17.5	" " + antig. 24h + kompl.	18.1	18.0
" " + " 3:0.5 . . .	17.5	17.5	" " + " choleryczny . .	17.2	18.6
" " + " aa + ant. norm.	18.3	18.5	" " + " chol. + kompl.	18.2	18.8
" " + " " + ant. typh.	17.5	17.2	Surow. chol. zwierz. (aglutyn.)		
" " + " " + ant. typh.	17.2	18.0	" " + antig. chol. 24h _{aa}	20.5	22.6
" " + " " (4 godz.)			" " + " " + kompl.	19.0	20.6
" " + " " ant. typh. alkoh.	17.5	17.5	" " + ant. tyf. aa 24h . .	21.2	21.5
" " + " " " (4 godz.)	17.2	17.5	" " + " " + kompl.	18.8	19.1
			Surow. tyfus. aglut. rozc. 1:20 . .	17.6	17.9
			" " + ant. tyf. aa 24h . . .	18.7	19.0
			" " + ant. tyf. + kompl. . . .	18.2	18.5
			" " + ant. chol. aa 24h . .	19.5	21.0
			" " + " " + kompl.	18.5	18.5

TABLICA X*)

Komplementowanie aglutynin i precypityn surowicą normalną (aglut. na 1 ctm. sz.).

1 ^h term. 37°	2 ^h bez term.	noc bez term.	36 ^h w term.	
Szczep chol. N 36 1:4000			r. Widala (13 dzień chor.) 1:200	} osady wszędzie bez precipitatu.
aglut.-prec. bez komplem.	1:5000	1:10000	" " + komplem. 1:500	
+ komplem 1:10000	1:10000	—	" " + " ogrz. 58° 1 ^h 1:500	
Szczep chol. N 37 1:4000			" " + " ; sur. ogr. 58° 1:500	
aglut. prec. bez. komplem.	1:10000	—	" " + ser. aglut. 1/10000 1:1000	
+ z komplem. 1:10000	1:10000	—		
B. typhi abd.	14 godz. w cieplarni		r. Widala (16 dni)	16 ^h 36 ^h term.
aglut. prec. bez komp. (sur. wysokoagl.)		1:5000	" + komplem.	1:200 1:500
" + kompl.		1:20000	" + sur. aglut. tyf. 1/10000	1:500 1:1000
z zaw. tyfusową:	16 ^h	30 ^h term.		24 ^h 36 ^h
sur. chor. tyf. . . .	1:500	1:500	r. Widala (19 d. ch.)	1:100 1:100
" " " + kompl.	1:1000	1:1000	" + kompl.	1:200 1:200
" " ogrzew. 1 ^h 56°	1:1000	1:1000	" + sur. aglut. tyf. 1/10000	1:100! 1:100!
" " " + kompl.	1:3000	1:5000		
Sur chor. tyf. . . .	1:200	1:500		
" + komplem. . .	1:500	1:500		24 ^h
Zaw. ogrz. 1 ^h 56° + kompl.	1:20000	d-tto	r. Widala (14 d. chor.)	—
" " " bez komp.	1:200	1:500	" + komplem.	1:100
	16 ^h :	24 ^h	" " zaw. tyfus.	
Sur. chor. tyf. . . .	1:100	—	inakt. 1 ^h 56°—64°	1:200
" " + komplem.	1:200	—	" + kompl. inakt.	1:100
" " inakt. 1 ^h 56°	1:200	—		
" " " + kompl.	1:200			
Em. ogrz. 1 ^h 56—64. . .		1:500		16 ^h 24 ^h term.
" " + kompl. . . .		1:1000	r. Widala (31 dni)	1:50 1:50
" " + sur. ogrzew.	Osad nieznaczny	1:500	" + komplem.	1:100 1:100
Em. in. + Ser. in. + kompl.		1:1000	" " + " (surow. inaktyw.)	— —
			" + kompl. inaktyw.	1:50 1:50
	24 ^h w term.			
r. Widala (23 dni chor.)		1:50		
" + kompl. . . .		1:100		
" + kompl. in. 58°		1:100		
" + k.; ser. ogrz. 58°		1:50		
" + ser. aglut. 1/10000		1:50		

*) w wykonaniu zawart. w X tabl. badań oraz zbieraniu krwi chorych szpitalnych pomagał mi współpracownik p. Leon Szereszewski.

i 1:1000 lub wyżej, i z każdego rozcieńczenia wykonać aglutynację na 3—5 lub więcej (do 10) centm. sześć.

3) Należy przy oznaczaniu miana zwracać uwagę na ilość użytych substancyj, czyli nie tylko wiedzieć stopień rozcz. surowicy, ale i objętość mieszanki (1, 3, 5 i t. d. ctm. sz.).

4) Przy badaniu prec. i agl. w większej objętości płynów zwracać trzeba uwagę na próby kontrolowe: naprz. sama zawiesina w jednej, surowica chorego + zawiesina odmiennych bakterij w drugiej próbówce (p. tabl. I i II: mieszanie surow. chol. z zawiesinami tyfusowemi i odwrotnie).

5) Bardzo wybitny wzrost miana „pa“ uzyskać można przez hodowanie bakterij, zwłaszcza tyfusowych, na podłożach — 20°, C° i +20° stopni Madsena; koniecznym jest przy takich próbach ściśle oznaczać stopień kwasowości lub zasadowości podłoża: nie wystarcza wyrażenie „kwaśne“, „alkaliczne“ i t. d.

6) Wzrost miana otrzymuje się też przez dodatek kwasu octowego (5 do 10%) w minimalnych ilościach, naprz. 1 kropla na 1 ctm. sz. zawiesiny, o ile koncentracja NaCl odpowiada fizjol. roztworowi (0.85) lub podwójnej i potrójnej (2,55%). Natomiast minimalny dodatek CH₃.COOH do bardziej stężonych roztworów soli hamuje zjawisko „pa“ i zmniejsza miano.

7) Nie można dodawać większej koncentracji CH₃.COOH. w obawie zupełnego powstrzymania danej reakcji. Nie można też łączyć dwóch sposobów w dążeniu do uzyskania jaknajwyższego miana, ponieważ mogą wypaść opady samoistne bez udziału surowicy: naprz. do zawiesiny tyfusowej z podłoż + 20° M. nie trzeba dodawać CH₃.COOH, ponieważ wypadają osady nie swoiste.

8) Zwiększanie konc. soli powyżej 1.70% lub zamiana NaCl przez (NH₄)₂SO₄ i inne sole nie może być zalecane, jako ogólna metoda, chociaż odnośnie do poszczególnych gatunków bakterij (naprz. jednego ze szczepów cholery) może wykazywać wzrost miana „pa“.

9) Próba pierścieniowa, jakkolwiek wypada dodatnio, nie może być zalecana do praktyki aglutynacyjnej ze względu na trudności metodyczne; to samo odnosi się i do prób z wysuszonymi preparatami bakterijnymi.

10) Wzrost miana „pa“ otrzymuje się też przez ogrzewanie zawiesin bakteryjnych do 56° i nie wyżej 64°C.; natomiast ogrze-

wanie surowic ani komplementowanie świeżą surowicą nie wywiera w tym kierunku wybitniejszego wpływu, prócz jedynie wzmożenia precypitatów w niższych rozcieńczeniach i osłabienia t. zw. zony hamującej.

11) Koncentracja przeciwciał, jaka stosuje się do surowic antytoksykacyjnych, nie może mieć zastosowania do potęgowania aglutynin i precypityn.

12) Pod wpływem surowicy chorych jak i surowicy zwierząt uodpornionych w połączeniu z odpowiednią zawiesiną bakteryjną (nietylko z przesączem ostatniej) odbywają się równorzędnie w jednych i tych samych próbach obydwie zjawiska — aglutynacja i precypitacja, przyczem opady prec. są 10—20 razy większe od opadów bakteryjnych. Z powodu wyższego miana aglutyn. od precypitacyjnego tylko w wyższych rozcieńczeniach otrzymujemy opady bakteryjne.

13) Zapomocą powyższych sposobów osiągnąć można wzrost miana precyp.-aglutynacyjnego różnych gatunków, ale nie wszystkich w jednakowym stopniu: z pośród zbadanych najwybitniej wzmocnić można miano aglut. i precyp. tyfusowe, znacznie słabiej v. cholerae (negatywnie b. coli com.). Praca niniejsza miała przedewszystkiem na celu opracowanie metod, dążących do „wzrostu miana“, nie rozstrzyga jednak zgoła, w jakich granicach metody te znajdują praktyczne zastosowanie w klinice lekarskiej.

RÉSUMÉ.

St. Serkowski:

Action de certains agents physico - chimiques sur le phénomène de la précipitation.

Communication annoncée le 15 X. 1915.

Au cours des expériences sur la réaction de Widal et l'agglutination bactérienne sous l'action du sérum des animaux immunisés, j'ai observé nombre de faits qui s'écartent considérablement des inductions admises; j'ai donc résolu d'examiner ces données à l'aide des expériences systématiques. Elles ont eu pour but capital:

1. d'établir les relations quantitatives et la dépendance mutuelle de tous les trois agents participant à la réaction.

2. d'examiner, si les précipitines participent aux précipités spécifiques, c. à d. si les précipités — en dehors des agglutinats bactériens — renferment encore des précipités globulineux.

3. d'examiner, si certaines réactions (par ex. l'épreuve de Uhlenhuth, appliquée par Krause aux filtrats abactériens) peuvent être utilisées également pour les émulsions bactériennes.

4. d'établir si les précipités ne peuvent pas être obtenus exclusivement par l'action catalytique des bactéries spécifiques, ou bien, si les émulsions bactériennes ou leurs filtrats y doivent participer absolument.

5. d'éclairer si l'élévation observée du titre agglutinatif ne pourrait pas être subordonnée à: 1) la quantité absolue du précipitinogène et de la précipitine; 2) aux modifications des degrés de saturation des sels de NaCl depuis 0.85 à 8.5%; 3) à la substitution de NaCl par $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, NaSO_4 , 4) à l'addition de CH_3 , COOH et autres.

et 6) d'établir, s'il aurait été possible de modifier la méthode des recherches et la rendre capable de faciliter l'obtention d'un titre considérablement plus élevé et, en conséquence, des résultats positifs dans les cas où le contenu de précipitine, resp. de l'agglutinine est insignifiant (dans le sérum des malades typhiques pendant la première période de la maladie, dans la tuberculose, et de suite).

Je renonce à décrire les procédés d'effectuer l'agglutination macroscopique dans les capillaires, dans de petites éprouvettes minces, rapportées à 1 cc., dans des éprouvettes plus grandes sur des plaques et de suite. Tous ces procédés sont basés sur cette supposition que le résultat de l'épreuve macroscopique dépend du degré de dilution du sérum et de la préparation convenable de l'émulsion bactérienne, sans égard à la grandeur des récipients, resp. au volume des liquides mêlés — c. à d. du sé-

rum dilué et de l'émulsion. Suivant l'opinion admise les titres égaux sont à obtenir dans 0,5, 1,0, 5 ou 10 cc. de mélange; il ne s'agit que du degré exact de dilution du sérum.

Les expériences suivantes démontrent, si la supposition ci-dessus répond aux faits réels. Les sérums divers — après le titrage (rapporté à 1 cc.) furent mêlés avec un tel volume d'émulsion, que leur relation en resta invariable: on effectua ce mélange par l'augmentation simultanée de la quantité de deux substances dans chaque éprouvette suivante, tout en maintenant le degré de dilution de la première éprouvette; ainsi par exemple: 1) 1 cc. d'émulsion bactérienne 1 goutte de précipitine diluée à 1/100; 2) 2 cc. d'émulsion+2 gouttes de précipitine; 3) 3 cc. 3 gouttes et de suite.

Inductions de ces recherches: sur le résultat de la précipitation réagit non seulement le degré de dilution du sérum spécifique, mais aussi la quantité absolue des substances employées. Si le titre, rapporté à 1 cc. du mélange général, égale 1:200, dans les doses 5 fois plus fortes il va s'évaluer à 1:200; le sérum de haute agglutination augmente le titre de 1:2500 jusqu'à 1:2000; dans les doses augmentant progressivement le titre des sérums s'élève toujours, sans limites. De là la conclusion ultérieure: lorsque le sérum du malade dans les premières périodes du typhus abdomin. n'agglutine pas, la dilution étant usuelle (1:25—50—100—200) et la quantité du mélange employée montant à 1 cc. — alors l'agglutination est à renouveler en doses plus fortes (de 5 à 10 fois), la dilution du sérum maintenue invariable. Cela se rapporte également aux autres processus infectieux, par exemple, à la dysentérie, la tuberculose etc. Les précipités dépendent de la quantité absolue des éléments, laquelle de son côté n'est subordonnée à la dilution des précipitines, resp. des agglutinines, que de manière suivante: lorsque la dilution des agglutinines est immense, il est nécessaire

TABLE I.

		50	100	200	250	500	1000	2000	4000	8000	10.000	con- trôls
Titre rapporté a 1 cc.	De sérum typhique de haute agglutination .	+	++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-
	De sérum d'un malade du typhus abd. (10-me jour de maladie) . .	z h	++	+++	+++	-	-	-				-
	De sérum de choléra de haute agglutination .	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-

Agglutination au-dessus de titre.

Les doses de sérum et d'émulsion augmentent progressivement, mais leur relation et le degré de dilution dans chacune des six éprouvettes restent invariables.

	Les émulsions rapportées— 1 à 6 cc.						K émulsion sans sérum	Rémarques
	1	2	3	4	5	6		
Sérum typhique de haute agglutination, dilué de 1:4000 + émulsion ty- phique	-	-	±	+	++	+++	-	Le précipité dans la cinquième et sixième éprouvette reste le même (quoique la dilution de sérum = 1:4000) comme ci-dessus, étant dilué de 1:100 — 1000
Sérum typhique de haute aggl. dilué de 1:8000 + émulsion typhique .	-	-	±	±	++	+++	-	Précipité dans la 5-ème et 6-ème éprouvette dilué de 1:8000 = précip. dilué 1:100 — 1000
Sérum d'un malade typhique dilué de 1:1000 + émulsion typhique	-	-	±	++	+++	+++	-	Préc. dans la 4-ème, 5-ème et 6-ème éprouvette, le sérum étant dilué de 1:1000 = précip. dilué de 1:100 — 200
Sérum du même malade dilué de 1:10000 + émulsion typhique	-	-	±	++	+++	+++	-	Comme ci-dessus quand même le sérum est dilué de 1:2000
Sérum cholérique de haute aggl. dilué de 1:10000 + émulsion de vibr. chol.	-	±	+	++	+++	+++	-	Precipité dans la 4-ème, 5-ème et 6-ème éprouvette, le sérum étant dilué de 1:10000 = précip. 1:50 — 1:4000
Sérum cholérique de haute aggl. dilué de 1:20000 + émulsion de vibr. chol.	-	-	±	++	+++	+++	-	Comme ci-dessus quand même le sérum est dilué de 1:20000
Sérum cholérique de haute aggl. dilué 1:20000 + émulsion typhique .	-	-	-	-	-	-	-	Contrôle 2-ème: sérum sans émulsion négative

Les expériences pareilles furent exécutées quatre fois, le résultat en restait toujours le même: positif dans les éprouvettes 4, 5 et 6. On a remarqué les différences insignifiantes dans des éprouvettes 2 et 3.

d'augmenter la quantité absolue des éléments 8 — 10 fois, au lieu de 3—5; cette dépendance est démontrée par les expériences comparées dans la table II.

Nombre d'auteurs ont observé sporadiquement l'élévation du titre agglutinatif sous l'action des modifications dans le sérum même, amenées par des causes diverses. Ainsi par exemple

TABLE II.

Titre de sérum reste invariable. La quantité de deux substances augmente simultanément et relativement au contenu de cette éprouvette ainsi que la 2-e épr. contient $2 \times$ contenu de la 1-ère; la 3-ème = 3×1 etc.

	L'expérience pour 1 — 8 cc.								Dans 8 K (contrôle) sérum sans émulsion.		
	1	2	3	4	5	6	7	8			
Sérum d'un malade typhique (1-er jour de maladie) dilué de $\frac{1}{2000} +$ émulsion typh.	—	—	+	+	+	+	+	+	—		
Sérum d'un cobaye, dilué de $\frac{1}{1000} +$ émulsion typh.	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Sérum typhique de haute agglut. $\frac{1}{4000} +$ émulsion cholérique	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Sérum typhique de haute agglut. $\frac{1}{4000} +$ émulsion typhique.	—	—	+	+	+	+	+	+	—		
Sérum typhique de haute agglut. $\frac{1}{40000} +$ émulsion typh.	—	—	—	+	+	+	+	+	—		
Sérum typhique agglut. dilué de $\frac{1}{10000} +$ émulsion typh.	—	—	+	+	+	+	+	+	—		
Sérum cholér. de basse agglut. (3 gouttes d'injection) dilué de $\frac{1}{20000} +$ émulsion chol.	—	—	—	+	+	+	+	+	—		
Sérum cholér. de basse agglut. (5 gouttes d'injection) dilué $\frac{1}{20000} +$ émulsion cholér.	—	—	+	+	+	+	+	+	—		
Sérum d'un homme inoculé avant 11 mois 3 fois de vaccin cholérique	—	—	—	+	+	+	+	+	—		} sérum dilué de 1:1000.
Sérum d'un homme inoculé avant 3 mois 2 fois de vaccin typhique	—	—	—	+	+	+	+	+	—		

R. Scheller ¹⁾, Glässner ²⁾ et F. Eisenberg ³⁾ ont constaté une élévation du titre dans les sérums plus anciens en comparaison aux sérums venant d'être prélevés.

Tâchant de trouver dans la théorie des colloïdes une explication des phénomènes mentionnés (tables I et II) qui consistent plutôt dans le rôle du volume des deux éléments, que dans celui du degré de la dilution du sérum spécifique, je n'y trouve point d'analogie précise. Le dépendance de la pression osmotique de la quantité des particules dans le volume envisagé ⁴⁾ fut constatée à maintes reprises. Toutefois, il est possible que la quantité est également de quelque importance dans le phénomène en question. Les solutions colloïdales souvent varient progressivement en accord avec modifications dans les particules mêmes; les amicrones deviennent des submicrones; en fin de compte s'effectue la coagulation au cours de laquelle on peut remarquer un baissement de la pression osmotique. L'action des électrolytes sur la pression osmotique de l'albumen est constatée: donc, conformément, dans notre cas la solution du sel en agissant sur une quantité supérieure d'albumen, abaisse sa pression osmotique: des modifications ont lieu dans les micrones mêmes et sont suivies par la coagulation. Cette exoliation ne nous éclaire point ni l'action et la participation du sérum spécifique, ni le rôle des doses plus fortes de précipitogène.

Dans la base fondamentale de la formation des précipités spécifiques l'on distingue le phénomène de précipitation de celui d'agglutination: la première comprend l'amas des corps bactériens, formant dépôt; la seconde—la coagulation des composés dissolus dans les extraits et les filtrats abactériens. Et l'un et l'autre phénomène exigent la coopération simultanée de trois

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriol. 1904, t. 36, p. 427, 694 et 1905, v. 38, p. 100

²⁾ Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 1905, v. 1, p. 640.

³⁾ C. f. Bakter. 1906, v. 41, p. 96 et suiv.

⁴⁾ v. R. Zsigmondy, Kolloidchemie 1912, p. 42.

agents: de l'antigène (agglutinogène resp. précipitinogène), de l'anticorps (l'agglutinine resp. la précipitine) et de la solution physiologique de NaCl.

Nombre d'ouvrages essayent tantôt d'identifier ou à tirer l'analogie des deux phénomènes, tantôt de mettre en évidence la différence essentielle entre eux. En me basant sur mes observations de la pratique, je désire exprimer l'opinion que les deux phénomènes ont lieu simultanément dans les mêmes éprouvettes, aussi bien sous l'action du sérum des malades, que sous celle du sérum des animaux immunisés, en combinaison avec l'émulsion bactérienne convenable: l'agglutination est presque toujours accompagnée de précipitation. Cette dernière dans les dilutions plus faibles est tellement supérieure à la première, que l'on parle de l'agglutination positive dans les cas où il aurait fallu constater la présence de la précipitation.

J'ai constaté non seulement à l'examen macroscopique usuel, mais aussi au moyen du pèsage, que le précipité fut 10 à 20 fois plus grand que la masse employée des corps bactériens. A l'examen microscopique j'ai eu également occasion d'observer à maintes reprises que les conglomerats bactériens dans les agglutinats spécifiques font la minorité infime, tandis que la majorité de précipités est formée par des masses et des flocons amorphes, abactériens: donc, le précipité a l'avantage sur l'agglutinat.

En additionnant l'émulsion bactérienne du sérum spécifique convenable, dans des éprouvettes sériées, en des doses progressivement diminuantes (donc, dans une concentration graduellement plus faible), on observe invariablement une agglutination nette dans les solutions plus faibles, et l'agglutination partielle dans les solutions plus fortes.

Ce phénomène généralement connu s'explique — d'après mon opinion — par ce fait que l'agglutination dite „nette“ est la combinaison de la précipitation avec l'agglomération, tandis

que les précipités partiels ne renferment que des agglutinats: autrement dit, le titre du sérum agglutinatif est toujours supérieur à celui du précipitatif. Même lorsque les précipités partiels font défaut à la réaction effectuée qui arrive parfois, quand la différence des degrés de dilution est très considérable (par ex. 250 — 500 — 1000 etc.) — les précipités se forment quand même, lorsqu'on aura eu recours à une graduation plus forte, comme de différences plus petites entre les dilutions progressives.

Il m'est souvent arrivé d'obtenir la réaction partielle de Widal (ou l'agglutination proprement dite), le sérum étant dilué de 1:250, et l'agglutination nette à la dilution de 1:200; ce n'est que dans la dilution dernière que j'ai pu constater des précipités, évidemment conjointement aux agglutinats.

Pour déterminer les propriétés chimiques des précipités formés, j'ai fait les expériences suivantes: à l'aide d'une pipette capillaire je prélevais le liquide au-dessus du précipité; ensuite je lavais le précipité deux fois dans la solution physiologique de NaCl: le liquide épuré se montra insoluble dans l'eau stérilisée et dissoluble dans les solutions faibles de NaCl et de lessive; après avoir isolé la solution de NaCl, je dissolvais le dépôt dans une faible solution de natrium causticum (1%). Le liquide obtenu, renfermant des quantités minimales de flocons indissolus, fut passé deux fois par un cornet de papier non-collé, propre chimiquement; avec le filtrat éclairci j'ai exécuté les réactions suivantes:

1. Une partie de ce filtrat fut additionnée du volume égal de solution de sulfate d'ammonium saturé qui provoqua une opacité distincte, tombante successivement. Le sulfate de magnésium provoque également un dépôt dans le liquide saturé.

2. A la seconde partie du filtrat on ajoute une goutte de l'acide acétique dilué qui provoque également un brouillement, suivi bientôt d'un faible dépôt floconneux.

3. A la troisième partie du filtrat on ajoute de l'acide

phosphorique wolframé; dans la région de contact des deux liquides il eut formation d'un cercle blanc.

4. La quatrième partie sélée de l'alcool se brouilla et forma après quelque temps un dépôt.

Toutes ces expériences, et surtout la première, montrent que les précipités sont dus aux composés appartenant au groupe des globulines. Il n'y eut qu'une petite partie des précipités sous forme des flocons insolubles, renfermant des bactéries et un peu de globuline, puisque la dissolubilité incomplète dans la lessive put être amenée par le séjour prolongé des dépôts dans la solution de NaCl; certaines espèces de globuline deviennent indissolubles après un séjour plus long dans les solutions aqueuses ou acides.

Dans la suite de mes expériences j'ai tâché d'établir si la réaction précipitative annulaire d'Uhlenhuth (employé par Krause pour les filtrats abactériens) serait applicable aux émulsions bactériennes au moyen de stratification avec un sérum spécifique convenable. Je me suis également servi de la modification de ce réactif proposée pour les saignements occultes et préparée par mon collaborateur B. Kretkowski (St. Petersburger Mediz. Wochenschr. 1909). Le procédé de sa préparation est suivant: le sérum spécifique dilué et non-dilué — dans des éprouvettes très minces fut additionné d'une émulsion épaisse des bactéries convenables; cette émulsion fut préparée non point avec la solution physiologique de NaCl, mais en concentration double; à l'aide d'une pipette l'émulsion fut coulée avec précaution le long de la paroi, afin de former deux couches. Le sérum étant concentré, l'émulsion forme la couche inférieure; lorsque le sérum était dilué elle vint se poser dessus et forma ainsi la couche supérieure.

J'ai aperçu que sitôt la stratification effectuée, un large anneau blanc se forme au point de contact des liquides dans les cas où la précipitine et le précipitinogène employés furent homologues; par ex. le sérum d'un malade typhique et l'emul-

sion épaisse de b. typhique dans la solution de NaCl à 1.7 p. 100. D'ordinaire cet anneau se forme tout de suite, en tous cas point plus tard que dans 20—40 minutes, à la t° de chambre. Cette réaction fut parfois tellement nette, qu'il fut possible, dans une longue série d'éprouvettes, décélérer et déterminer à l'instant celle dont les deux substances mises en contact furent mutuellement spécifiques.

Les expériences pareilles furent exécutées par centaines et je m'abstiens à en décrire les détails, puisqu'au fin de compte leurs résultats se sont montrés inapplicables à l'emploi pratique. Notamment, la même réaction faite avec les mêmes réactifs, répétée dans plusieurs éprouvettes donne des résultats qui ne s'accordent pas complètement; ils sont positifs dans les unes, négatifs dans les autres. Dans les négatifs se forment des précipités au lieu des anneaux. L'épaisseur de l'émulsion, la stratification plus ou moins soignée et bien souvent le phénomène des précipités non-spécifiques, occasionné par la saturation excessive du sérum et par l'épaisseur de l'émulsion—exercent une action sur le résultat.

Pour obtenir des précipités on peut employer les préparations bactériennes desséchées, au lieu des émulsions bactériennes, ou des filtrats. J'en ai acquis la certitude, en plongeant des capillaires très fins dans le sérum des malades typhiques dilué de 1:1 à 1:1000 fois. La surface des capillaires fut couverte d'une mince couche d'émulsion typhique; celle-ci fut desséchée ensuite et lavée minutieusement dans l'eau, avant d'être plongée dans le sérum, afin que les cellules bactériennes vinsent en contact avec le sérum, sans former d'émulsion. Le précipité net obtenu dans plusieurs éprouvettes sous l'action catalytique des bactéries, à l'intérieur ou à l'extérieur des capillaires, prouve que les précipités spécifiques peuvent être obtenus dans les cas de l'absence d'émulsion ou du filtrat. En appliquant une plus grande quantité de sérum (jusqu'à 3—5 cc., parfois même à 1 cc.) on obtient des précipités nets, mais le résultat dépend

d'une condition difficile à remplir et à contrôler, et notamment: la couche des bactéries desséchées doit être assez épaisse; elle doit adhérer étroitement à la surface et ne pas être emportée par le courant d'eau. Grand nombre d'expériences relatives furent exécutées, que je ne décrirai pourtant pas à cette place, vu les causes sus-indiquées qui rendent impossible l'application pratique autant de ces épreuves, que des expériences annulaires.

Depuis la découverte de la réaction de Widal, de nombreux auteurs ont établi le fait, que la réaction positive ne peut pas être obtenue plus tôt en moyenne, que le 7—11 jour de la maladie. La réaction positive a quelquefois lieu au 3—5 jour, bien que très rarement, mais on observe des cas bien plus nombreux, où la réaction de Widal n'eut lieu qu'au 18, 22, 25, 32 et même au 40 jour de la maladie. Donc, dans la première période du typhus abdomin., lorsqu'une diagnose au juste temps aurait été de grande importance, la réaction sérodiagnostique fait défaut.

L'agglutination dans la tuberculose est décevante de même. Il est connu (Arloing et Carmont, 1898), que le sérum des tuberculeux n'agglutine point, ou bien qu'il donne des précipités dans une dilution peu supérieure à la norme physiologique 1:5 à 20; d'après Jessen—le titre le plus bas est 1:25. C'est pourquoi l'on a eu jusqu'à 30% des résultats positifs chez des personnes absolument bien portantes (25% chez Paltauf, 22—55% chez Carrières); tandis que le sérum des malades tuberculeux, quelquefois même des atteints de phtisie granuleuse donna une réaction positive dans 15—88% des cas chez le premier, et dans 51—58% chez le second de ces auteurs.

Il existe donc de nombreuses données confirmant qu'autant dans la première période du typhus abdom., qu'au cours de la tuberculose, le sérum des malades renferme trop peu d'anticorps par rapport à la quantité indispensable pour rendre

manifestes les réactions sérodiagnostiques — l'agglutination et la précipitation. Nous sommes donc obligés à exalter la concentration des anticorps, ainsi que la sensibilisation de la réaction même, resp, l'élévation du titre.

De nombreux procédés concernant la concentration des anticorps dans les sérums antitoxiques ont été proposés ¹⁾; des plus connus je mentionne le procédé de Gibson—précipitation avec le sulfate d'ammonium (concentration triple), de Gibson-Banzhaft (concentration quintuple); puis les procédés plus récents de Brieger-Krause—à l'aide de chlorure de natrium; de Brunner-Pinkus—de sulfate de natrium, et ainsi de suite. Ces données sont inapplicables à la concentration des précipitines.

La question, sur laquelle on n'est pas fixé jusqu'à présent—et notamment, avec quelle fraction globulineuse se combinent les précipitines et les agglutinines spécifiques est en rapport étroit avec le sujet de mes expériences exécutées et à faire. Les inductions des auteurs ne sont point concordantes, et il n'est pas connu exactement si la précipitine et l'agglutinine se composent avec l'euglobuline, ou bien avec la pseudoglobuline ²⁾. On sait seulement qu'aucun des anticorps ne se compose pas avec l'albumine. C'est pourquoi, dans le plan de mes expériences

¹⁾ Sur la concentration des anticorps par la congélation (procédé de Bujwid) et par l'isolement de globuline des sérums—v.: Samuely, dans le manuel d'Abderhalden. Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, 1900, v. 2, p. 360; dans le manuel de Hoppe-Seyler: Handbuch d. phys. u. path. chem. Analyse, 1909, ed. 8, p. 406; en partie dans le man. de chimie physiolog. de Hammarsten, dans la biochimie d'Oppenheimer et dans les „Methoden d. Antikörperdarstellung de M. Ficker (II v. Kollé-Wassermann, p. 210) et suiv.

²⁾ Ainsi par ex. les précipitines se combinent avec l'euglobuline (Pick, Bang) ou bien seulement en partie avec celle-ci (Franceschetti); les agglutinines typhiques—de préférence avec la pseudoglobuline (Pribram); les agglutinants immunisants et les autotoxines dans le sérum des chèvres, des chevaux et des lapins — avec la fraction euglobulineuse (Gibson et Collins); de même les hémolysines dans les deux fractions (Fuhrmann), les antitoxines dans l'euglobuline et dans la pseudoglobuline. Voir les détails chez Franceschetti: Arch. f. Hygiene 1909, v. 69, p. 207; Pribram dans le man. de Levaditi, v. 2, p. 87 et Ficker dans le man. de Kollé - Wassermann v. 2, p. 230.

Sprawozdania Tow. Nauk. Warsz. Rok VIII, 1915. Zeszyt 9.

ultérieures je n'ai pas pu prendre en considération les fractions isolées, mais j'ai tâché de trouver par voie empirique une explication plausible du processus. Ainsi, pour la préparation des émulsions j'ai employé les concentrations décroissantes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ depuis 76 jusqu'à 0.5%, ou bien les concentrations de NaCl augmentant depuis 0.8 à 8.5%, toutes seules, ou bien additionnées d'un peu de CH_3COOH .

Je vais décrire plusieurs de mes expériences faites dans une quantité immense; voir les tables III, IV et V.

TABLE III-a.

Précipitation - agglutination de l'émulsion typhique exécutée dans divers % de NaCl de 0,85 jusqu'à 8,5% sous l'influence du sérum typhique d'un lapin qui fut inoculé de 9 gouttes de vaccin typhique. Pour écarter les précipités spontanés toutes les émulsions furent mises préalablement pour 2 heures dans l'étuve. De chaque concentration NaCl on a exécuté 9 expériences: dilution du sérum = 1:50 à 1:20000. On a appliqué pour chaque épreuve 1 cc. de l'émulsion. Contrôle N° 1 contient l'émulsion sans sérum; K₂ l'émulsion avec sérum dilué de 1:20000 avec l'addition d'une goutte de 10% d'acide acétique.

	Dilutions du sérum									Contrôle	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2
I. 0.85% NaCl	+	+	+	+	+	□	-	-	-	-	+
I. 0.85% NaCl + 1 goutte 10% CH_3COOH	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
II. 1.70 NaCl	++	++	++	++	++	±	±	±	-	-	+
III. 2.55 NaCl	++	++	++	++	++	±	±	-	-	-	+
IV. 3.40 NaCl	++	++	++	++	+	±	±	±	-	-	+
V. 4.25 NaCl	+	+	+	-	-	□	-	-	-	-	□
VI. 6.80 NaCl	+	+	+	±	-	□	-	-	-	-	□
VIII. 8.5 NaCl	+	+	+	±	-	□	-	-	-	-	□
IX. 8.5 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
X. 8.5 NaCl + 1 goutte 10% CH_3COOH	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

Les résultats en furent vérifiés trois fois: après 8, 16 et 24 heures. Après 8 heures le plus nettement parut la précipitation dans des éprouvettes contenant l'addition de CH_3COOH ; de même après 16 et 24 h. L'élévation du titre occasionnée par l'acide acétique ne se montra que dans les plus petites concentrations NaCl (0,85 et 1,70). On n'a pas pu obtenir des précipités non spécifiques qu'en additionnant 8,5% NaCl sans acide. Les concentrations NaCl: 1.70 et 2,55% ont donné le titre le plus haut dans des agglutinations sans acide.

TABLE III-b.

Culture de choléra №№ 26 et 37.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Contr.	
										10	11
I—0.85	1:500	100	200	500	1000	2000	5000	10000	20000		
II—1.70	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+
III—2.25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+
IV—3.40	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V—4.25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VI—5.10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VIII—6.80											
X—8.50											

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Contr.	
										10	11
I—0.85											
II—1.70	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	avec l'acide acétique
III—2.55	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
IV—3.40	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
V—4.25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VI—5.10	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
VIII—6.80											
X—8.50											

1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/20000	1/2000
------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	---------	---------	--------

La présence de l'acide acétique élève invariablement le titre, en tant, que la saturation du sel n'est pas supérieure à 2.55%; dans les saturations plus fortes son action est directement opposée: l'acide acétique abaisse le titre. D'ailleurs, dans les saturations près de 8.5% des précipités spontanés ont lieu dans les contrôles, sans que le sérum y participe.

Ainsi par ex., le sérum d'un malade typhique (14-me jour

TABLE IV.

Titre précipitatif-agglutinatif après 15 minutes, 4 heures et 24 heures. Le sérum du cobaye inoculé 5 fois du vaccin cholérique mêlé. Le sang fut prélevé du coeur avec la seringue; les expériences exécutées quelques heures après le détachement du sérum; l'émulsion faite de culture de choléra № 36, c'est à dire d'une du quelques dizaines de cultures composant les vaccins. On ne prend en considération que +.

Titre pour 1 cc.

	après 15 min.	après 4 heures	après 24 heures
I. 0.85 NaCl . .	1:50	1:50	1:100
II. 1.70 NaCl . .	1:100	1:100	1:200
III. 2.55 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
IV. 3.40 NaCl . .	1:200	1:200	1:200
V. 4.25 NaCl . .	1:200	1:500	1:2000!
VI. 5.10 NaCl . .	1:200	1:200	1:500
VII. 5.95 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
VIII. 6.80 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
IX. 7.65 NaCl . .	1:200	1:200	1:1000
X. 8.5 NaCl . .	1:200	1:200	1:5000

Dans 9-ème et 10-ème des éprouvettes contrôleurs on a obtenu les précipités spontanés: dans la 9-ème moins, dans la 10-ème plus abondamment; sans sérum.

Le lendemain on a répété la même expérience et de même, on a obtenu le plus haut titre avec la culture de v. de choléra № 36 dans 5-ème épreuve, cèdà. 4.25% NaCl. Dans des contrôles ce n'eut que la 10-ème épreuve (8.5% NaCl) qui a donné les précipités non spécifiques En modifiant les susdites épreuves avec l'émulsion à peine opalisante, on a obtenu dans la V-ème éprouvette le titre encore plus haut: **1 p. 2500**.

Les résultats obtenus des expériences avec des autres cultures de choléra ne furent pas tout à fait identiques.

de la maladie) forma des précipités spécifiques dans les solutions suivantes, additionnées d'émulsion spécifique (rapportée à 1 cc.):

dans NaCl à 0.85 p. 100	sans acide 1:200	avec l'acide 1:2000
solution triple (2.55%)	1:200	1:2000
sulfate d'ammonium à 5 p. 100	1:500	(manque de sérum).

TABLE V.

Chaque épreuve fut exécutée dans 9 éprouvettes, (1 cc de l'emulsion dans chacune) avec les doses diminuantes du sérum et 2 contrôles.

Culture cholér. № 26 avec sérum spec.: titre „pa“	= 1 : 2000 (émuls. dans NaCl phys.).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 2000 („ „ 2.25% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 5000 („ „ „ + 1 goutte de 10% CH ₃ COOH). (dans 1% NH ₄ SO ₄)
Culture de choléra № 18 avec sérum spec.: „pa“	= 1 : 2000 (ém. dans NaCl phys.).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 5000 („ „ + 1 goutt. 10% CH ₃ COOH).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 500 („ „ 5% Na ₂ SO ₄).
Culture du b. typhi abdom. avec sér. spec. „pa“	= 1 : 2000 (ém. dans NaCl phys.).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 5000 („ „ „ + 1 goutte de 10% CH ₃ COOH).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 20000 („ „ 5% Na ₂ SO ₄).
(dans 5% Na ₂ SO ₄ emulsion v. cholerae donne la diminution, b. typhi—l'élévation du titre).	
Culture cholerae asiat. „pa“	= 1 : 1000 (en présence des emulsion de 1 : 70 à 3.40% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 2000 (émulsion 1.70% NaCl + 1 goutte 10% CH ₃ COOH).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 500 (emulsion > 3.40 à 5.10% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 200 (émul. 5 10% NaCl + 1 goutte 10% CH ₃ COOH).
Culture v. cholerae as. № 19 „pa“	= 1 : 1000 (ém. 1.70 et 2.55% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 2000 („ „ „ „ „ „ + 1 goutt. 10% CH ₃ COOH)
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 200 (ém. > 3 40 à 5.10% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 200 (le même avec l'addition 10% CH ₃ COOH).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 0 („ „ „ superflu de l'acide acétique).
Vibrio berolinensis avec émulsion spécif. cholér. „pa“	= 1 : 50 ± (ém. physiol. NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 50 ± (le même avec ém. à 3.10% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 0 (ém. > 4.25% NaCl).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 0 (toute les concen. NaCl + acide acét.).

Le doses plus grandes de l'acide acétique et 3—4 gouttes de la même solution ont donné les pseudo-précipités même dans la dilution 1 p. 1000 dans l'emulsion v. berolinensis. On a obtenu les mêmes résultats avec v. non phosphorescens.

Émulsion typh. 1 cc. + sér. d'un malade (9 jour de mal.): „pa“	= 1 : 200 (ém. dans NaCl physiol.).
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 1000 (on a ajouté au précédent après 24 heures le sér. du mal. dilué $\frac{1}{100}$).
Émulsion typh. 1 cc. + sér. d'un lapin: „pa“	= 1 : 200
„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	= 1 : 2000

} Aux eprouvettes positives et négatives on a ajouté après 24 heures, nombre de même sérum convenablement dilué $\frac{1}{100}$.

Sérum d'un lapin immunisé (agglutination typhique) avec l'émulsion typhique convenable (rapporté à 1 cc.):

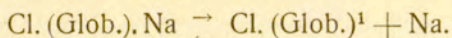
dans NaCl à 0.85 p. 100	sans acide 1:2000	avec acide 1:5000
solution triple de NaCl (2.55%)	1:2000	1:5000
sulfate d'ammonium à 5 p. 100	1:1000	1:2000

Sérum de lapin immunisé (paratyphique 8 agglut.) avec la convenable émulsion paratyphique (rapportée à 1 cc.):

avec la solution physiol. de NaCl	sans acide 1:1200	avec acide 1:1200
solution triple (2.55%)	1:2000	1:4000
sulfate d'ammonium à 5 p. 100	1:500	1:500

En activant pendant 1 heure à 60°, je n'ai réussi qu'à exalter le précipité dans les concentrations plus fortes — c. à d. à faire disparaître la „zone“ dite „arrêtante“, sans en élever le titre général.

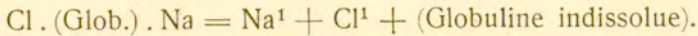
Des expériences très nombreuses, comparées dans les tables de la note présente, s'ensuit le fait incontestable que parmi les substances réagissant sur l'émulsion, l'acide acétique additionné en petite quantité élève le titre précipitatif, supposé que le contenu du sel ne soit pas trop considérable. Dans la théorie de la chimie des colloïdes nous trouvons un fondement de ce fait. La propriété des globulines est d'être dissolubles dans les solutions diluées neutres du sel, et indissolubles dans l'eau pure. L'excès du sel précipite les globulines; le liquide étant dilué—elles se dissolvent de nouveau: d'après Hardy ²⁾, la globuline est indissoluble dans l'eau, et sa dissolubilité dans les sels alcalins doit être considérée comme due à la formation des composés doubles. La globuline forme avec NaCl le composé Na. (Glob). Cl. de même que ceci a lieu dans les composés anorganiques; ce composé se dissocie de la manière suivante:



1) Richard Zsigmondy. Kolloidchemie. Leipsic. 1912, chap. Eiweißkörper p. 246.

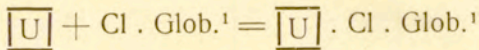
2) Hardy. Journal of Physiology, 1905. 33 p. 251—337

La présence de NaCl arrête la dissociation jusqu'à un certain degré. La dilution étant très forte, ce composé se dissocie, en formant la globuline indissoluble, selon la formule suivante:



et le brouillement s'exalte simultanément. La saturation de NaCl étant moyenne, la plus grande partie de la globuline demeure dans la solution en qualité d'électrolyte; la seconde partie y reste sous forme des sousmicrones. Dans les solutions de NaCl plus concentrées, la dissociation des composés de la globuline avec NaCl s'arrête, suivie de la formation d'un dépôt.

Les résultats des expériences de Michaelis¹⁾ s'accordent avec les opinions ci-dessus. Cet auteur a constaté que les solutions de globuline diluées dans l'eau renfermaient une quantité bien plus grande des ultramicrones, qu'il ne s'en trouvait dans les solutions diluées de la solution physiologique de NaCl. Les solutions colloïdales sont plus stationnaires et ne laissent point tomber des particules de globuline ce qui peut être expliqué le plus plausiblement par l'électrisation des ultramicrones globulineux. Ces données schématiques peuvent être exprimées d'après le schème suivant:



Quant à la combinaison des globulines avec les acides et les alcalis, Hardy y suppose la formation des ions albumineux véritables, contre lesquels — réagit la hydrolyse.

Les combinaisons de la globuline avec les acides plus faibles subissent la hydrolyse, tout en produisant les ultramicrones en quantité bien plus considérable que dans la combinaison avec les acides plus forts. Comme il fut indiqué ci-dessus, les ultramicrones, produits par les composés de NaCl et de globuline sont électrisés. Les ultramicrones électrisés se distinguent

¹⁾ Virchow. Arch. f. path. Anat. u. Phys. 1905, 179, p. 195—208.

par une agilité bien plus grande que celle des ions albumineux proprement dits, en vertu de quoi Hardy distingue les ions véritables des apparents, c. à d. des ultramicrones électrisés.

La dépendance des précipités de la plus ou moins grande addition de l'acide acétique peut être expliquée par les propriétés des électrolytes. Il est connu que l'addition plus forte des sels alcalins et du magnésium précipitent d'albumen séreux; la précipitation de l'albumen est provoquée par les anions. Considérons par ex. les sels de natrium de différents acides: l'action précipitante ne dépend que de l'acide et progresse dans l'ordre suivant:

L'action la plus forte est exercée par:

le citrate > le tartrate > le sulfate > l'acétate > le chlorate >
le nitrate > le iodure > et le sulfocyanure.

L'acétate agit plus fort que le chlorate; donc, en introduisant les ions de l'acide acétique dans un milieu ne renfermant que des ions de chlore, nous en exaltons le pouvoir précipitatif. Ces données nous expliquent le fait, que l'acide acétique n'augmente pas le précipité que dans certaines concentrations de NaCl; tandis que l'action de $\text{CH}_3\text{.COOH}$ est paralysée par l'excès des ions de chlore: la saturation étant excessive (v. table III).

La littérature présente des données nombreuses¹⁾ sur l'action des acides, surtout de l'acide acétique sur le procès de l'agglutination.

Il fut constaté, que les vibrions cholériques — sous l'action de solution de kali caustique à 1 p. 100 perdaient leur faculté agglutinogène à l'égard des sérum spécifiques (Neufeld); Neisser et Friedemann ont observé le pouvoir de précipiter les bacilles typhiques par des doses minimales de l'acide. Lorsque la réaction est acide, les précipités se forment plus ra-

¹⁾ Les détails v. chez Paltauf et Krause dans le II v. et chez Fernet dans le III v. du manuel de Kolle-Wassermann, 2-me édition.

pidement et plus tôt (Kraus). La réaction acide facilite la formation des précipités, en tant, qu'elle est due aux acides organiques — à l'acide acétique, ou bien aux sels acides (phosphate de sodium) (Rostowski).

Le bassement du pouvoir précipitatif de bacilles typhiques fut observé par Wassermann à l'application des milieux fortement alcalins; par Lentz et Tietz qui ont employé l'agar avec le vert de malachite, et enfin par Kirstein — en cultivant les bacilles typhiques dans l'agar analbumineux avec l'urine. Le dernier de ces auteurs observa l'élévation du titre, en cultivant les bacilles typhiques sur la pomme de terre additionnée de l'acide acétique à 1 p. 100. De milieux usuels ayant été appliqués — le bassement ainsi que l'élévation du titre revinrent à leurs normes dans tous les cas ci-dessus. Eisenberg¹⁾ effectua l'inactivation, en mêlant une partie de sérum à 1 partie de HCl $\frac{1}{2}$ N; le même résultat fut obtenu par l'addition de H₂SO₄ qui peut être activé en partie par une rapide neutralisation le l'acide. Les travaux de Winterberg montrent également que l'excès de l'acide acétique est nuisible aux agglutinines.

La plupart des auteurs ont reconnu le caractère rapproché de l'agglutination bactérienne et des précipités des émulsions colloïdales, dûs aux électrolytes et parfois à des non-électrolytes, on n'a pas constaté de différence que dans l'action des sels et des terres alcalines. Au cours des années dernières on s'intéressa surtout à l'agglutination bactérienne, dite acide et particulièrement à celle des bacilles typhiques. D'après Michaelis²⁾, l'optimum de coagulation de l'albumen dénaturé coïncide avec le point isoélectrique résultant de la réaction faiblement acide des solutions albumineuses. Quant aux bactéries — elles ne subissent la précipitation qu'à un certain degré d'acidité qui est dif-

1) Centrabl. f. Bakteriologie. 1906, v. 41, p. 760 et suivantes.

2) Deutsche Medic. Wochenschr. 1911, p. 969 et Centr. f. Bakter.

férent pour les diverses espèces bactériennes, en vertu de quoi on peut utiliser l'agglutination pour la différenciation des bactéries. D'après Beniasch¹⁾ l'agglutination acide ne dépend ni de l'acide, ni des anions, mais exclusivement des ions hydriques et n'a lieu qu'à une concentration déterminée de H-ions (H); l'optimum pour les bacilles typhiques égale 4×10^{-5} . Le groupe de bac. enteritidis se trouve dans les limites de la même concentration; le paratyphus B. et le paratyphus A. sont placés dans les mêmes bornes de concentration de H-ions; pareillement, il est possible de distinguer à l'aide de ce procédé le b. diphtérique du pseudodiphtérique, et, en général, les bactéries spécifiques des analogues. Les sels arrêtent l'agglutination.

Afin d'obtenir un titre précipitatif-agglutinatif aussi haut que possible („pa“), j'ai procédé encore à la série suivante de recherches sur l'action des milieux acides et alcalins sur les propriétés bactériennes. J'ai employé des milieux exactement titrés d'après l'échelle de Madsen, et notamment: de faiblement acides (+20°), de faiblement alcalins (-20°), alcalins (-60°) et (-105°). Ces milieux d'agar furent inoculés des bacilles typhiques et du v. cholérique (race N° 36). La durée de cette culture fut de 20 heures, à 37°; ensuite, les cultures furent tamisées sur un milieu neutre 0° de Madsen, émulsionnées, mises en but de contrôle dans l'étuve pendant 3 heures, et enfin — agglutinées avec les sérums cholérique et typhiques de haute agglutination dilués de 1:50 à 1:20,000, c. à d. bien plus au-dessus du titre de ces sérums (v. table VI).

Puisqu'il s'est montré que l'élévation du titre jusqu'à 1:20,000 n'eut lieu, qu'en utilisant les émulsions bactériennes du milieu acide (20° M.) une émulsion supplémentaire fut faite de culture de 2 jours, afin de pouvoir déterminer le titre le plus haut. On a établi alors, que „pa“ est nettement positif:

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforschungen. 1912, v. 12, p. 268.

pour l'émulsion typhique, le sérum étant dilué jusqu'à 1 : 200,000
 „ „ cholérique il ne s'est pas élevé au-dessus de 1 : 20,000

L'élévation, ainsi que le baissement du titre des milieux alcalins furent plus nets pour les bacilles typhiques.

Des cultures transplantées sur les milieux neutres (0° de M.) on prépara après 0 heures des émulsions afin d'établir la reversibilité du phénomène, c. à d. de constater, si les phénomènes de baissement et de l'élévation sont stationnaires ou bien reversibles. Les détails et les résultats de cette série de recherches sont comparées dans la table VI.

TABLE VIa.

„Pa“ typhique. L'émulsion bactérienne des cultures d'un jour sur des milieux titrés d'après M a d s e n : de +20 à -105. Sérum spécifique des animaux inoculés.

Titre „Pa“	Degrés de Madsen				Reversibilité du phénomène dumilieu 0° M; les passages			
	+20	-20	-60	-105	de +20 à 0°	de -20 à 0°	de -60 à 0°	de -105 à 0° M.
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
1/1000	+	+	+	-	+	+	+	+
1/2000	+	+	+	-	+	+	+	+
1/5000	+	+	-	-	+	+	+	+
1/10000	+	+	-	-	+	+	+	+
1/20000	+	-	-	-	+	+	+	+

p 1 cc.

Dans des 4 rubriques à droite: „pa“ dans des émulsions typhiques des milieux 0° M, sur lesquelles les cultures furent transplantées de milieux acides +20° et alcalins jusqu'à -105° M. Résultat des émulsions de 0° = +20° M.

Contrôles dans 9 éprouvettes negatives.

Ayant obtenu le plus haut titre dans des émulsions faiblement acides +20 M. (1/20000) on a executé „pa“ (des mêmes milieux de 2 jours) qui a donné le titre jusqu'à **1 : 200,000.**

B. typhi abdom. | + 20 M.

1/5000	+
1/10000	+
1/20000	+
1/50000	+
1/100000	+
1/200000	+

TABLE VI b.

„Pa“ cholérique (aussi p. 1 cc.). Émulsion des vibrions de choléra (N^o 36) des cultures d'un jour sur les milieux titrés de +20^o à -105^o de Madsen. Sérum spécifique des animaux inoculés. A droite de la table les reversibilités: on a transplanté l'étoffe des milieux précédant sur les milieux neutres (0^o M) et de ceux-ci on a exécuté les émulsions.

Titre „Pa“	Degrès de Madsen				Reversibilité du phénomène				p. 1 cc.
	+20	-20	-60	-105	de +20 à 0 ^o	de -20 à 0 ^o	de -60 à 0 ^o	de -105 à 0 ^o M.	
1/50	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/200	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/2000	+	+	+	+	+	+	+	+	
1/10000	+	+	-	-	+	+	-	-	
1/20000	+	+	-	-	-	-	-	-	
1/50000	-	-	-	-	-	-	-	-	
1/100000	-	-	-	-	-	-	-	-	

L'élévation du titre cholér. des milieux acides est sans doute considérable, mais moins précise que dans les émulsions typhiques; le même concerne le phénomène de la reversibilité.

Les expériences ci-dessus, autant que les précédentes ont établi que la sensibilisation des bactéries à l'aide de l'acide acétique agit plus fort sur les bacilles typhiques, que sur les vibrions du choléra, à l'égard des précipités et d'élévation du titre de précipitation.

Les recherches sur la substitution de NaCl par le sulfate d'ammonium (tables VII et VIII) montrent que les émulsions eussent pu être préparées avec (NH₄)₂SO₄ à 5 p. 100, mais qu'une substitution pareille n'aurait eu aucune influence ni sur le cours de la réaction, ni sur la hauteur du titre.

Des désignations méiostagmiques sériees furent exécutées afin d'établir la différence de la tension superficielle des précipitinogènes et de celle des mélanges, les précipitinogènes et la

TABLE VII.

Précipités sans sérums spécifiques. On a préparé les émulsions :

dans le sulfate d'ammonium saturé de	b. typhi abd.	v. cholerae asiat.
76 %	+	+
38 „	+	+
19 „	+	+
9.5 „	—	—
4.75 „	—	—
2.38 „	—	—
1.19 „	—	—
0.59 „	—	—

„Pa“ d'émulsion des bacilles typhiques et des vibriens cholériques (culture N° 21) dans sulfate d'ammonium (saturation 19% et 9.5%). Sérums spécifiques de haute agglutination, dilués de 1:50 à 1:20000. Chaque épreuve fut exécutée dans 10 éprouv. et 2 contr.

Conc. 19% (NH₄)₂ SO₄ émulsion rapportée à 1 cc.
 b. typhi + sérum typh. „pa“ = 1 : 1000
 v. cholerae 21 + ser. chol. „ = 1 : 2000

Dans les contrôles il n'y a pas de précipités.

Conc. 9.5% (NH₄)₂ SO₄ 1 cc d'émulsion
 b. typhi + sérum typh. „pa“ = 1 : 1000
 v. cholerae 21 + sér. chol. „ = 1 : 2000

(Le même titre obtenu dans la solution physiologique de NaCl).

Sérum d'un malade typhique (4-ème semaine) + émulsion dans 20% sulfate d'ammonium :

	b. typhi abd.	b. paratyphi B.
1/50	+	+
1/100	+	+
1/200	+	+
cont. sans sérum	—	+

} le même résultat comme dans la solution physiologique NaCl.

(sans sérum!)

précipitine ayant été combinés avec un tel calcul de temps, que la réaction fut renouvelée toutes les 2 heures, c. à d. elle fut faite entre la première „période d'impression de Bordet“ et la seconde „d'agglutination proprement dite“ de la précipitation.

Les antigènes pour plusieurs de ces expériences furent préparés d'après le procédé d'Ascoli. Les différences entre deux désignations furent tellement petites et inconstantes, parfois même absolument opposées qu'il fut impossible d'en tirer des conclusions plus importantes et de confirmer l'opinion de Pauli, d'après lequel le phénomène de la précipitation-colloïdale, ainsi que celui de l'agglutination bactérienne, dépendent des modifications de la tension superficielle. Il faut mentionner que nombre des théories, appelées à expliquer le phénomène de la précipitation, portaient attention à la dépendance des colloïdes du sel,

TABLE VIII.

Les changements physiques dans les émulsions bactériennes sans sérum et avec l'addition du sérum dans les limites de „pa“. *Vibrio cholerae* asiat. + sérum cholér. (dilué de 1 : 1000).

Réaction méiostagmique Asc o l i
exécutée avec stalagmomètre
(pour cc. de liquide).

Détermination de conduction électrique de l'é-
mulsion des bact. typh. dans la solution 5%
(NH₄)₂ SO₄

Saturation de la solut. (NH ₄) ₂ SO ₄	Sol. du sulfate d'ammonium (sans sérum)	Émulsion bactérienne dans sol. d'amm. + sérum (2 heures dans l'étuve)	Accroissement (dans le stalagm.)
5 %	17,0	18,2	1,2
10 %	17,1	18,3	1,2
15 %	17,5	18,2	0,7
20 %	18,5	19,1	0,6
25 %	17,5	19,0	1,5
30 %	17,6	19,6	2,0
35 %	18,0	19,6	1,6
40 %	17,7	21,2	3,6

(en présence de résistance comparative 80 Ohm.)

- | | | |
|---------------------------------|-----------|------------------------|
| 1) Solution 5% | 79.4 Ohm. | } conduc. moy. 0.00107 |
| 2) émuls. typh. dans la sol. 5% | 79.9 " | |
| 3) " + sér. aggl. 1 : 500 | 79.5 " | |
| 4) " + sér. des mal. 1 : 60 | 79.5 " | |
| 5) " + sér. des mal. 1 : 500 | 79.7 " | |

dans la solution 0.85% NaCl

(en présence de résistance comparative 70 Ohm.)

- | | | |
|--------------------------------|-----------|----------------------|
| 1) solut. 0.85% sans bactéries | 76.5 Ohm. | } conduction 0.00174 |
| 2) émuls. typh. | 77.3 " | |
| 3) " + sér. aggl. 1 : 500 | 77.5 " | |
| 4) " + sér. d'un m. 1 : 60 | 77.7 " | |
| 5) " + sér. d'un m. 1 : 500 | 7.77 " | |

dans la solution 2.55% NaCl

(en présence de résistance comparative 80 Ohm.)

- | | | |
|-----------------------------------|-----------|----------------------|
| 1) solution 2.55% | 79.4 Ohm. | } conduction 0.00126 |
| 2) émuls. bact. dans la sur. sol. | 79.7 " | |
| 3) " + ser. aggl. 1 : 500 | 79.6 " | |
| 4) " + ser. chol. 1 : 60 | 79.8 " | |
| 5) " + ser. aggl. 1 : 500 | 79.5 " | |

aux phénomènes d'absorption, provoqués par les acides et les alcalis, de même que par les métaux, aux modifications de la tension superficielle, ou de la viscosité (Pauli); pourtant ces données ne sont pas précisément analogues à la réaction réciproque de deux corps albumineux, mutuellement spécifiques, formant des précipités en présence des sels, et faisant défaut des précipités dans les cas où l'un de ces corps fut non-spécifique à l'égard de l'autre. D'après les recherches récentes de Pribram¹⁾ (1912), les émulsions bactériennes sont de la nature d'émulsion

¹⁾ A compar. C. Moreschi, Beschleunigung u. Verstärkung d. Bakterienagglutination durch Antieiwisssera, Centr. f. Bakteriologie, 1907, v. 46, p. 456.

TABLE IX-a.

Réaction méiostagmique Asc o l i . L'influence de conjonction des agglutinines avec les agglutinogènes (avec ou sans le complément), sur la tension superficielle.

Sérum typhique de haute agglutination.

Sérum typhique dilué de 1:20	Sérum typhique + antig. 24 g. typh. (Asc o l i).	Sérum typh. + antig. de 24 h. typh. + compl.	Sér. typh. chauff. + ant. 2-h typh. + complément	Sérum typh. + antig. chol.	Sérum typh. + ant. chol. + complément.
- 0.5	+ 0.6	+ 0.9	+ 1.0	+ 1.4	+ 0.6
- 0.5	+ 0.5	+ 0.6	- 0.2	+ 0.5	+ 0.5
- 0.2	+ 0.5	- 1.0		- 0.4	+ 1.5
+ 0.3	- 0.5	+ 0.3			

Sérum cholérique de haute agglutination.

Sérum Cholérique dilué de 1:20	Sér. chol. + 24 h. ant. chol. (Asc o l i)	Sér. cholér. + an. de 24 h. chol. + com.	Sérum chol. Chauff. + ant. chol. de 24 h.	Sér. cholér. + ant. de 24 heures.	Sér. cholér. + ant. typh.	Sér. chol. + ant. typh. + compl.	Sérum chol. chauff. + ant. typh. + com.
+ 0.3	+ 2.1	+ 1.6	+ 1.4	+ 0.4	+ 0.3	+ 0.3	+ 0.1
	- 0.7	+ 1.5		0	- 1.0	0	0
	0	+ 0.4			- 0.4		

TABLICA IXb.

Changements de la tension superficielle.

	Avant le chauff- lage	Après 2 heures 37° C.		Avant le chauff- lage	Après 2 heures 37° C.
Sérum humain normal A	41	40	Sérum typh. animale B dilué de 1:20	18	17.5
Complément du cobaye № 1.	39	39.2	„ „ + antig. specif. (de 24 h.)	17.4	18.0
„ „ „ „ „ „ № 2.	39.2	39.2	„ „ + ant. spec. (de 4 heures)	17.3	17.8
L'eau déstil.	39.4	39.4	„ „ + ant. des organes norm.	18.0	18.5
Sér. animale normal 1:20.	17.2	17.2	„ „ + antig. norm. + compl.	18.0	18.0
Sér. „ „ + comp. 1 ^{aa}	17.0	17.2	„ „ + complément (aa) + ant. specif. (24 heures.)	17.5	18.4
„ „ „ „ „ „ 4:2	17.2	17.0	„ „ + compl. (2:7) + „ „ „	17.5	1.8
Sérum humain norm. B 1:20.	17.5	17.5	„ „ + compl. (3:6) + „ „ „	17.3	17.5
Sérum typh. anim. 1:20	17.2	17.5	„ „ + comp. (aa) + ant. spec. de 4 heures	17.7	18.8
Sérum hum. norm. C 1:20	17.0	17.3	Le complément	17.5	17.8
Sérum du cobaye TBc 1:20	41.0	—		17.2	17.4
Sér. TBc + antig. TBc	43.0	43.6	Sérum typh. animale C 1:20	17.5	17.3
Sér. TBc + organes normaaux	42.1	42.2	„ „ + ant. typh. (1:5) de 24 ^h	17.5	17.8
Sér. TBc + ant. TBc + compl.	42.3	42.0	„ „ + ant. typh. (aa) de 24 ^h	18.5	19.0
Sér. TBc + org. norm. + compl.	41.8	41.0	„ „ + ant. typh. con. (aa) 24 ^h	20.2	20.2
Sér. norm. A + org. norm.	41.5	41.7	„ „ + compl. aa + ant. typh. aa de 24 h	17.9	18.5
Sér. norm. A + antig. TBc.	42.1	42.2	„ „ + compl. aa + ant. norm. de 24 h	18.0	18.8
Sér. norm. A + org. norm. + com.	41.1	41.1	„ „ + com. aa + ant. norm. C	19.0	19.5
Sér. norm. A + antig. TBc + com.	42.4	43.2	Sérum typh. animale B (agglutinè)		
Sér. TBc 1:20 (humain)	38.8	39.5	„ „ + ant. typh. de 24 ^h aa	19.5	18.0
„ „ + antig. norm. (org.)	40.5	40.5	„ „ + ant. de 24 h + compl.	18.1	18.0
„ „ + org. norm. + compl.	40.5	40.7	„ „ + „ „ cholérique	17.2	18.6
„ „ + ant. TBc + compl.	40.8	40.8	„ „ + „ „ chol. + compl.	18.2	18.8
Sérum typh. anim. A			Sérum cholér. animale (agglutin.)		
Sér typh. + sér. norm. hum. aa	17.4	17.3	„ „ + ant. chol. de 24 ^h aa	20.5	22.6
„ „ + „ 2:1.5	17.5	17.5	„ „ + „ „ „ + compl.	19.0	20.6
„ „ + „ 2.5:1	17.5	17.5	„ „ + ant. typh. aa de 24 ^h	21.2	21.5
„ „ + „ 3:0.5	17.5	17.5	„ „ + „ „ „ + compl.	18.8	19.1
„ „ + „ aa + ant. norm.	18.3	18.5	Sér. typh. agglut. dilué de 1p. 20	17.6	17.9
„ „ + „ + ant. typh	17.5	17.2	„ „ + ant. typh. aa de 24h.	18.7	19.0
„ „ + „ + ant. typh	17.2	18.0	„ „ + ant. typh. + compl.	18.2	18.5
„ „ + „ „ (4 heures)			„ „ + ant. chol. aa de 24h	19.5	21.0
„ „ + „ ant. typh. alcool.	17.5	17.5	„ „ + „ „ „ + compl.	18.5	18.5
„ „ + „ „ „ (4 heures)	17.2	17.5			

qui acquiert les qualités suspensoïdes des colloïdes sous l'action du sérum spécifique agglutinatif. Je n'amène point toute la série de théories tendant à confirmer le fait que l'agglutination est une réaction colloïdale nette et que la formation des précipités spécifiques dépend autant de la tension superficielle que des modifications dans la relation des solutions (les émulsions bactéro-albumineuses appartiennent aux colloïdes hydrophiles ou hyophiles).

Enfin, dans la dernière série des expériences j'ai acquis la certitude que l'inactivation des émulsions pendant 1 heure à 56°—64° réagit de manière positive sur la hauteur du titre „pa“, que l'addition du complément réagit faiblement sur celle-ci, et que le chauffage du sérum n'exerce aucune action.

1. Les efforts pour obtenir l'élévation du titre agglutinatif et précipitatif ont pour but de modifier la méthode des recherches pour la rendre capable de décèler les précipitines et les agglutinines spécifiques dans les sérums du sang (périodes initiales du typhus abdom., de la tuberculose) et dans les sécrétions des malades, en général, dans tous ces états morbides dans lesquels les résultats négatifs de l'agglutination et de la précipitation s'expliquent par le contenu faible des anticorps et correspondent — dans le sens quantitatif — aux dilutions plus fortes des sérums spécifiques au-dessus de leur titre.

2. L'élévation du titre agglutinatif des bacilles typhiques et des vibrions cholériques peut être provoquée par l'augmentation égale du sérum et de l'émulsion de 3 — 5 à 10 fois, tout en maintenant invariable de degré de dilution du sérum et la relation mutuelle des éléments. Ainsi, par exemple, en cas de réaction négative de *Widal*, le sérum peut être dilué à volonté: 1 : 100 et 1 : 1000; avec n'importe quelle de ces dilutions on peut faire l'agglutination, rapportée à 3 — 5 cc. ou davantage.

3. En déterminant le titre, il faut prendre en considération la quantité des substances employées, autrement dit, il faut

TABLE X

Complémentation des agglutinines et précipitines
avec sérum normal.

1 h. therm. 37°	2 h. sans therm.	nuit sans therm.	36 heures dans le therm.		
Culture chol. № 36 1 : 4000			Réac. de Widal (13-ème jour de maladie) 1 : 200		
agglut. - préc. sans compl.	1 : 5000	1 : 10000	" " + compl. 1 : 500	} les dépôt imperceptibles sans précipités	
+ complém. 1 : 10000	1 : 10000	—	" " + chauffée à 58° 1 h. 1 : 500		
Culture chol. № 37 1 : 4000			" " + " ; sér. chauff. à 58° 1 : 500		
agglut. - préc. sans compl.	1 : 10000	—	" " + sér. aggl. $\frac{1}{10000}$ 1 : 1000		
+ avec compl. 1 : 10000	1 : 10000	—			
B. typhi abd. 14 heures dans l'étuve			R. de Widal (16 jours) 16 h. 1 : 200		36 h. therm. 1 : 500
aggl. préc. sans compl. (sér. de haute aggl.)		1 : 5000	" + compl. 1 : 500	1 : 1000	
" + complément		1 : 20000	" + sér. aggl. typh. $\frac{1}{10000}$ 24 h. 1 : 100!	1 : 100!	
Avec de l'émulsion typh.	16 heures	30 h. therm.	R. de Widal (19 jours de mal.) 24 h. 1 : 100	36 h. 1 : 100	
sér. d'un malade typh.	1 : 200	1 : 500	" + compl. 1 : 200	1 : 200	
" + complément.	1 : 500	1 : 500	" + sér. aggl. typh. $\frac{1}{10000}$ 24 h. 1 : 100!	1 : 100!	
l'émulsion chauffée 1 h. 56° + compl.	1 : 20000	d-tto			
l'émulsion chauffée sans complément.	1 : 200	1 : 500			
Sérum d'un malade typhique	16 h.	24 h.	R. de Widal (41 jour)	24 h. —	
Sér. d'un malade + compl. 1 : 200	1 : 100	—	" " + compl.	1 : 100	
Sérum d'un malade inoc. 1 h. 56°	1 : 200	—	" " émulsion typh.		
Sérum d'un malade inoc. + compl.	1 : 200	—	" " inact. 1 h. 56°—64°	1 : 200	
Émuls. chauffée 1 h. 56—64		1 : 500	" " + compl. inact.	1 : 100	
" " + compl.		1 : 1000			
" " + sér. chauff.		1 : 500	R. de Widal (31 jour)	16 h. 1 : 50	
Ém. in. + Sér. in. + compl.		1 : 1000	" " + compl.	24 h. therm. 1 : 100	
			" " + sér. inact.	—	
			" " + compl. inact.	1 : 50	
Réac. de Widal (23 jours de [mal.])		1 : 50			
" + compl.		1 : 100			
" + compl. in. 58°		1 : 100			
" + sér. chauff.		1 : 50			
" + sér. aggl. $\frac{1}{10000}$		1 : 50			

connaître non seulement le degré de dilution du sérum, mais aussi le volume du mélange (1, 3 5 cc. et de suite).

4. En examinant la précipitation et l'agglutination dans un volume plus considérable des liquides, il faut porter attention aux expériences de contrôle: par exemple, l'émulsion seule dans une éprouvette, le sérum du malade + émulsion des bactéries hétérogènes dans l'autre (v. notre table: mélange du sérum cholérique avec le typhique et vice versa).

5. On gagne une élévation très nette du titre „pa“, en cultivant les bacilles, surtout les typhiques — sur de milieux de 20°, 0° et 20° degrés de Madsen; il est indispensable à ces expériences de déterminer exactement le degré de l'acidité ou bien de l'alcalinité du milieu: il ne suffit point de désigner par „acide“, „alcalin“ etc.

6. On obtient également une élévation du titre, en additionnant des quantités minimales de l'acide acétique, par ex. 1 goutte par 1 cc. d'émulsion supposé, que la concentration de NaCl correspond à la solution physiologique (0.85), ou bien au double et au triple (2.55‰); pourtant, l'addition minimale de NaCl aux concentrations plus fortes arrête le phénomène de „pa“ et abaisse le titre.

7. Il faut éviter d'ajouter de concentrations plus fortes de $\text{CH}_3 \cdot \text{COOH}$ par crainte d'arrêter totalement la réaction. De même il ne faut pas appliquer deux procédés conjointement dans le but d'obtenir des titres les plus élevés, puisque cette mesure peut provoquer des précipités spontanés sans le concours du sérum; ainsi par ex., on n'ajoute pas de $\text{CH}_3 \cdot \text{OOH}$ à l'émulsion typhique des milieux de 20° M., vu que la formation des précipités non-spécifiques y a lieu.

8. Il n'est point recommandable — en qualité de procédé générale — d'exalter la concentration de NaCl au-dessus de 1.7‰, ou bien de substituer NaCl, $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ et autres sels; bien que ce moyen, utilisé pour les espèces bactériennes isolées puisse

provoquer l'élévation du titre de „pa“ (p. ex. à l'une des races du choléra).

9. L'épreuve annulaire — bien que ses résultats soient positifs — ne peut pas être recommandée pour les buts de pratique agglutinative, vu les difficultés méthodiques; le même se rapporte aux épreuves avec les préparations bactériennes desséchées.

10. Le chauffage des émulsions bactériennes depuis 56° et point au-dessus de 64°, provoque également une élévation du titre „pa“; pourtant ni le chauffage de sérums, ni le complément avec du sérum frais n'agit pas plus nettement dans cette direction.

11. La concentration appliquée des anticorps aux sérums antitoxiques ne peut pas être utilisée pour exalter la puissance des agglutinines et des précipitines.

12. Sous l'action du sérum des malades, ainsi que des animaux immunisés en combinaison avec l'émulsion bactérienne convenable (non seulement avec le filtrat de celle-ci) les deux phénomènes ont lieu — l'agglutination et la précipitation — simultanément dans les mêmes éprouvettes; le dépôt précipitatif y est 10 — 20 fois plus volumineux que le bactérien. Vu que le titre agglutinatif est plus élevé que le titre précipitatif, nous n'obtenons des dépôts bactériens que dans les dilutions plus faibles.

13. En utilisant les procédés qui viennent d'être exposés, on peut faire élever le titre précipitatif-agglutinatif des espèces différentes, bien que dans de degrés inégaux: de toutes les espèces examinées, l'élévation du titre agglutinatif et précipitatif est la plus nette chez les bacilles typhiques, et bien plus faible chez les v. cholériques (le colibacille négatif).

Le but de la note présente fut avant tout d'élaborer des procédés appelés à obtenir „l'élévation du titre“, toutefois sans résoudre le problème quelle sera l'étendue de l'application pratique de ces procédés dans la clinique médicale.

3. Antoni Sachnowski:

„Gnilne miano“, wskaźnik zanieczyszczenia i zakażenia wód.

(Z Laboratorium D-ra St. Serkowskiego w Warszawie).

Komunikat zgłoszony dnia 7 listopada 1915 r.

Przedstawił St. Serkowski.

Tak zwane „coli miano“ czyli próba Eijkman'a, opiera się na założeniu, że tylko laseczniki okrężnicy (*b. coli commune*), w przeciwstawieniu do innych bakteryj, posiadają własności gazotwórcze jeszcze w 46° C. Tymczasem niejednokrotnie przekonaliśmy się, że inne bakterje wytwarzają gaz w tejże temperaturze.

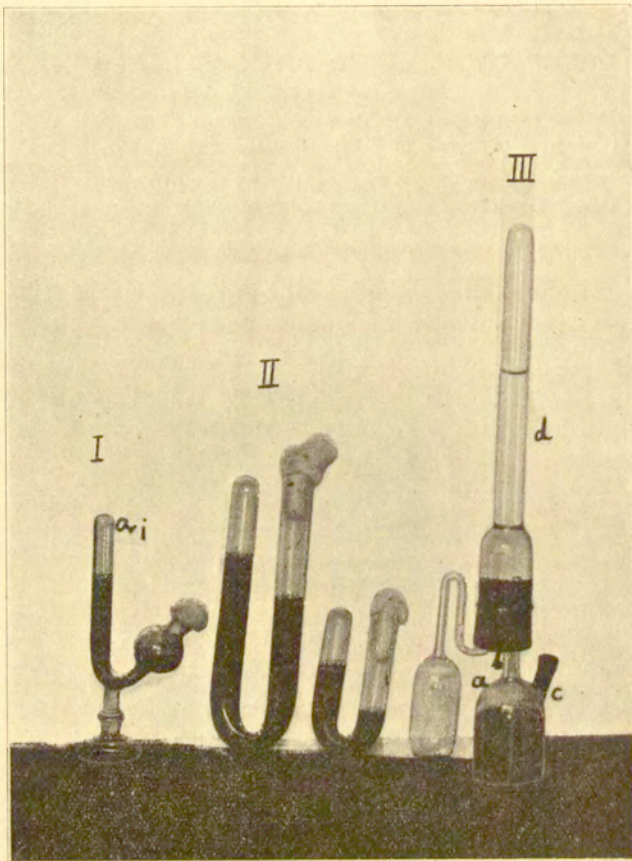
Z drugiej strony, w czasie wykonywania sanitarnych analiz wody, nieraz mieliśmy możność spostrzeżenia, że „coli miano“ nie było wskaźnikiem zanieczyszczenia, wykrytego następnie na drodze ściśle bakteryologicznej. Przeto okazała się konieczność wykonania doświadczeń nad „coli mianem“, a cel ich: czy i w jakim stopniu „coli miano“ może być wskaźnikiem zanieczyszczenia i zakażenia wód.

Metodyka badania przedstawia się jak następuje: do pewnej ilości wody dodaję 1/6—1/8 objętości stężonego peptonu, zawierającego cukier gronowy i wlewam do kolbki fermentacyjnej Eijkman'a.

Zmętnienie i wytwarzanie się gazu ma wskazywać obecność laseczników okrężnicy.

Jeżeli chodziłoby jedynie o dane orientacyjne, czy gaz jest wytwarzany lub nie, to kolbka Eijkman'a lub też zwykła U rurka wystarczyłaby nam w zupełności. Jednak z chwilą, gdy wchodzi w grę, jako wskaźnik ilość wytwarzanego gazu, który może być całkowicie zebrany do odczytania, kolbka ta nie może podobać zadaniu, a używając jej, odczytujemy tylko tę ilość gazu, która wytworzyła się w zamkniętej części (a_1 , rys. I).

Przytem w miarę wytwarzania się gazu, płyn zostaje przez niego wypierany, a w ten sposób ciągle maleje ilość „czynnej“ dla nas cieczy.



- I. Kolbka Eijkman'a.
- II. Zwykłe U — rurki.
- III. Przyrząd do ścisłych pomiarów.

Wobec tego uważam, że przy niejednakowych zdolnościach gazotwórczych, różnych lub nawet jednego gatunku bakteryj, nie możemy porównywać z sobą wyników, jeżeli nam chodzi o ściśle dane.

Dla uzyskania przychylnych dla badań warunków, skonstruowałem kolbkę fermentacyjną, trochę innego typu (rys. 1, III).

Składa się ona ze zbiornika *a*, zakończonego grubościenną włoskowatą rurką *b*, i opatrzonego w otwór boczny *c* do napełniania. Nad tym zbiornikiem umieszcza się probówkę kalibrowaną *d*, napełnioną wodą. Przez korek gumowy, łączący obie części tego przyrządu, przechodzi druga rurka włoskowata grubościenna, zakończona zbiornikiem na wypieraną z próbówki przez gaz wodę.

Naturalnie zbiornik ten posiada otwór boczny, by wewnątrz panowało ciśnienie atmosferyczne.

Do badania napełnia się zbiornik *a* badanym materiałem i odpowiednią pożywką, zakorkowuje dokładnie i stawia do cieplarki.

Po upływie pewnego czasu odczytujemy ilość wytworzonego i zebranego gazu. Dokonawszy tej drobnej zmiany, przystąpiłem do sprawdzenia, czy rzeczywiście tylko laseczniki okrężnicy posiadają zdolność wytwarzania gazu przy temperaturze 46° C.

W tym celu wykonałem następujące doświadczenie: nastawiłem 3 kolbki fermentacyjne emulsią odmieńca pospolitego (*proteus vulgaris*) i bulionu cukrowego; równocześnie drugie 3 kolbki z zawiesiną laseczników okrężnicy (jako kontrola) i wszystkie wstawiłem do cieplarki, ustawionej na 46° C.

TABLICA I.

Laseczniki okrężnicy po upływie godzin	21	31
6 kropli emulsji + buljon cukrowy . . .	6,0 cm. ³	6,2 cm. ³
12 " " + " " . . .	6,9 cm. ³	7,5 cm. ³
18 " " + " " . . .	7,2 cm. ³	7,6 cm. ³
Laseczniki odmieńca pospolitego		
6 kropli emulsji + buljon cukrowy . . .	3,0 cm. ³	3,6 cm. ³
12 " " + " " . . .	3,5 cm. ³	3,8 cm. ³
18 " " + " " . . .	5,3 cm. ³	5,6 cm. ³

Doświadczenie to, wielokrotnie powtarzane, wypadło zawsze w sposób podobny t. zn., że przy posiewach na bulionie cukrowym (z glukozą) laseczników odmienia pospolitego w temp. 46° C. zawsze otrzymywałem gaz.

Wobec tego nastawiłem kolbki fermentacyjne z innymi gatunkami bakteryj, jak: *b. botulinus*, *tetanus*, *clostridium foetidum carnis*, *granulobacillus saccharobutyricus*, *oedematis maligni* i inne. Wyniki były dodatnie.

We wszystkich tu wymienionych przypadkach stosowałem bulion cukrowy (2% glukozy) i temp. 46° C.

Opierając się na wynikach moich doświadczeń, twierdzę, że próba Eijkman'a nie jest swoista dla laseczników okrężnicy, a z drugiej strony przytaczam dowody Hennigsson'a, że do wytwarzania gazu w 46° C. trzeba dużej ilości bakteryj: „W kolbce fermentacyjnej było 20—60000 laseczników okrężnicy (t. j. 1—3000 na 1 ctm.³) i w temp. 37° C. dawały 5—13.2 cm.³ gazu, podczas gdy ta sama ilość bakterji w kolbce w 46° C. gazu zupełnie nie wytworzyła“.

Doświadczenia w dużej ilości przezemnie wykonane stwierdzają, że w temp. 37° C. mamy o wiele lepsze warunki dla laseczników okrężnicy, jak i innych bakteryj gnilnych, co stwierdzają posiewy z kolbek fermentacyjnych na płytki, jak również ilości wytworzonego gazu.

Podczas gdy w 46° C. osiągałem wartości bardzo małe, np. po 34 godzinach dochodziły jako maximum do 7.6 cm.³ gazu, to w temp. 37° C. było przeciętnie:

po 6 godz.	po 10 godz.	po 14 godz.	po 27 godz.
0,8—1.4	3—5.6	5,1—8.4	7.4—17.4 i t. d.

Świadczy to na korzyść temperatury 37° C., jako bardziej sprzyjającej rozwojowi, a tem samem jako uczulającej próbę.

Wykonałem także próby mieszane np.

Mimo licznie wykonanych doświadczeń, ani razu nie spotkałem takiego przypadku, by temp. 46° C. dała lepsze wyniki, niż 37° C., wobec tego proponuję temp. 37° C., jako bardziej odpowiednią.

W temp. 37° C. zarówno jak i w 46° C., próba ta obejmuje i inne bakterye gazotwórcze, ale dla nas znaczenie sanitarne mają nie tylko laseczniki okrężnicy. Woda, o której nie możemy powiedzieć z całą pewnością, że posiada żywotne laseczni-

TABLICA II*)

Las. okrężnicy i las. odmieńca posp. przy temp.	46° C.	37° C.
Bulj. cukr. +1 kr. em. las. okrężnicy +1 kr. em. las. odmieńca posp.	1,2-3,1	3,8-4,5
„ „ +2 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,8-3,3	6,5-7,8
„ „ +3 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,2-3,4	8,3-8,9
„ „ +4 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,2-3,5	9,4-10,2
„ „ +5 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,6-3,1	10,8-11,4
„ „ +6 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,6-3,7	11,2-11,7
„ „ +7 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,8-3,6	12,3-13,5
„ „ +8 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	1,8-3,8	15,2-15,8
„ „ +9 „ „ „ +1 „ „ „ „ „	2,1-3,8	15,2-17,4

TABLICA III (37° C.).

Las. zapalenia płuc Friedländer'a ' po upływie godzin	16	40	64
Buljon cukr. + 6 kr. wody zakażonej	0,8-1,8	2,4-3,5	3,2-6,8
„ „ +12 „ „ „	2,1-3,4	2,9-6,1	4,3-6,4
„ „ +18 „ „ „	3,8-5,2	4,3-6,3	5,2-6,5
B. paratyphi B.			
Buljon cukr. + 6 kr. wody zakażonej	1,2-2,5	2,7-3,5	3,2-5,4
„ „ +12 „ „ „	2,1-3,1	3,2-3,9	3,4-5,8
„ „ +18 „ „ „	2,7-3,5	3,3-5,6	5,2-6,7

ki okrężnicy „zjadliwe“ (dużo gazu, silna kwasowość etc.) z kału pochodzące, może być zupełnie nieprzydatna do użytku dzięki innym bakteriom, jak odmieniec posp., lasecznik zapalenia płuc (pneumobacillus Friedlaenderi) i t. p.

Jak z powyżej przytoczonego widać, temp. 46° C. nie cechuje wyłącznie laseczników okrężnicy, lecz w równym stopniu odnosi się i do innych bakteryj, wobec tego zmieniając temperaturę

*) Podobne rezultaty otrzymywałem przy odwrotnych stosunkach, między lasecznikami okrężnicy, a lasecznikami odmieńca pospolitego.

z 46° C. na 37° C. proponuję nazwę „coli miana“ zastąpić bardziej prawidłową — „gnilne miano“, gdyż obejmuje ona prócz laseczników okrężnicy i inne bakterye gnilne.

Na poparcie swoich wniosków przytaczam niektóre wyniki z 253 analiz wody. Dla 187 analiz gnilne miano wykonano w 46° C., a dla 66 — w 37° C.

W 46° C. — 187 analiz

4.4% określono jako wodę ściekową, a gnilne miano wynosiło 0—0.5 cm.³

w 4.6% znaleziono odmieńce posp. i inne bakt. gnilne 0—1.5 cm.³

„ 9.6% „ lasecz. okrężnicy „ „ „ 0—1.1 cm.³

„ 6.3% „ bardzo dużo bakteryj gnilnych 0—2.3 cm.³

W 37° C. — 66 analiz

1 analiza t. j. 1.5% określono jako ściek, gnilne miano 5 cm.³ gazu

w 4.5% znaleziono odmieńce posp. „ 4—8 cm.³ „

w 3% „ laseczники okrężnicy „ 6—12.5 cm.³ „

Z powyższego widzimy, że stosując temp. 46° C., tak przy wodzie o składzie ściekowej, jak również w poszczególnych przypadkach w zwykłej, ale zawierającej laseczники okrężnicy lub odmieńca pospolitego, zdarzało się miano równe zeru, czego nie spotykamy w temp. 37° C.

Drugim punktem moich badań było sprawdzenie, czy ilość gazu wytworzonego, ewentualnie kwasowość lub czas, w ciągu którego gaz jest wytwarzany, nie mogą być wskaźnikami rodzaju i stopnia zanieczyszczenia wody.

Przedewszystkiem szukałem odpowiedniejszego podłoża, porównyując z sobą pożywki tak mineralne, jak i organiczne.

Jak z powyżej przytoczonego widać, najodpowiedniejszemi okazały się pożywki peptonowe z dodatkiem glukozy (c. gronowego), podczas gdy pożywki mineralne dają bardzo słabe warunki dla rozwoju bakteryj.

Pod wpływem rozwoju bakteryj na danem podłożu, zachodzą w niem pewne zmiany, przejawiające się między innymi w powstawaniu kwasów, wpływających na jego reakcję.

Tu nadają się najlepiej podłoża mineralne, gdyż łatwiej jest uchwycić punkt przejściowy wskaźnika, podczas gdy na podłożach organicznych stanowi to jedną z poważnych trudności w oznaczaniu.

TABLICA IV (37° C.).

Las. okrężnicy po upływie godzin	24	48	72
Podłoże Cohn'a + 1,5% cukru gronow. + 6 kr. emul.	3,1-3,8	4,8-5,6	5,8-6,2
„ „ + 1,5% „ „ + 12 „ „	3,2-3,8	5,8-7,3	6,1-9,1
„ „ + 1,5% „ „ + 18 „ „	3,7-4,2	5,6-7,8	6,7-9,3
Buljon + 1,5% cukru mlekowego + 6 kr. emulsji	11,4-12,6	13,5-15,3	13,8-15,4
„ + 1,5% „ „ + 12 „ „	11,2-12,2	11,8-14,6	12,4-15,7
„ + 1,5% „ „ + 18 „ „	12,8-14,2	13,8-15,2	14,9-16,8
„ + 1,5% „ granowego + 6 „ „	10,2-11,8	12,1-13,4	13,8-15,1
„ + 1,5% „ „ + 12 „ „	14,6-15,2	14,9-15,8	15,2-15,9
„ + 1,5% „ „ + 18 „ „	14,1-17,4	14,5-17,8	15,2-18,3
Podłoże Barsiekowa + 6 kropli emulsji. . .	1,8-2,4	3,3-3,6	3,8-4,5
„ „ + 12 „ „ . . .	2,7-3,3	3,6-4,5	5,2-7,5
„ „ + 18 „ „ . . .	2,9-3,5	3,7-4,8	5,6-7,6

Mimo to hodując bakterye gnilne, jako laseczники okrężnicy lub odmieńca posp. na bulionie i peptonie cukrowym, starałem się stwierdzić zależność między ilością wydzielonego gazu a stopniem kwasowości wytworzonej. Wyniki zestawione są poniżej.

TABLICA V (37° C.).

Laseczники okrężnicy	Ilość cm ³ gazu	Kwasowość w stopniach
6 kr. em. + buljon cukr. względnie inne podłoże	6,2-15,1 cm ³	37,8 ⁰ -72 ⁰
12 kr. „ + „ „ „ „ „ „	9,1-15,8	48,1 ⁰ -57,5 ⁰
18 kr. „ + „ „ „ „ „ „	9,3-18,3	53,1-69,7

Podobne aczkolwiek mniejsze wyniki co do kwasowości dały las. odmieńca pospolitego.

Z tablicy V widocznem jest, że żadnej praktycznej zależności między temi obydwojma czynnikami nie da się uchwycić.

Wychodząc z założenia, że ustanie procesu fermentacyjnego wynika z powodu osiągnięcia pewnego stopnia kwasowości, starałem się ten okres przedłużyć przez stosowanie podłoży alkalicznych.

TABLICA VI (37° C) las. okrężnicy.

buljon cukrowy naturalny	6 kr. em.	10,0—11,2
"	"	"
"	12 kr. "	10,9—12,4
"	"	"
"	18 kr. "	12,1—14,5
"	"	"
"	40° Madsen'a 6 kr. "	7,5—12,8
"	"	"
"	12 kr. "	11,8—13,0
"	"	"
"	18 kr. "	8,3—12,0
"	"	"
"	80° " 6 kr. "	9,4—14,0
"	"	"
"	12 kr. "	11,4—15,2
"	"	"
"	18 kr. "	13,2—15,0
"	"	"
"	120° " 6 kr. "	9,3—10,0
"	"	"
"	12 kr. "	9,1—10,6
"	"	"
"	18 kr. "	9,2—11,0

Optimum alkaliczności jest różne zależnie od rodzaju bakteryj: i tak dla laseczników okrężnicy wynosi ca. — 80°, a dla odmienia ca. — 50°. Madsen'a.

Osiągnąwszy powyżej podane rezultaty, starałem się znaleźć najodpowiedniejszy stosunek wody badanej do pożywki. Zrozumiałą jest bowiem rzeczą, że o wiele przychylniejsze warunki będą przy stosunku wody do podłoża 1:100, aniżeli odwrotnie.

Stosunku tego oznaczyć nie mogłem, gdyż jest on zależnym od stopnia zanieczyszczenia. W każdym razie dla każdej wody zupełnie odpowiednim będzie 1:8—1:10.

Ilość wytworzonego gazu, czas, po upływie którego zaczyna się wywiązywanie gazu, a także kwasowość, mogą nam służyć jedynie jako wskaźnik większej lub mniejszej „zjadliwości“ szczepu (w myśl nomenklatury Hennigsson'a) z którym mamy do czynienia, ale nigdy jako stopień zanieczyszczenia.

Można to łatwo zrozumieć, jeżeli się weźmie pod uwagę dużą ilość bakteryj „osłabionych“, pozbawionych w znacznym stopniu siły żywotnej. Tych ostatnich może być w wodzie duża ilość, a dadzą mniej gazu, niż taka sama lub nawet mniejsza ilość bakteryj „zjadliwych“.

To samo da się powiedzieć o długości czasu, w ciągu którego zaczyna się wywiązywanie gazu, jak również i o stopniu kwasowości.

Do ilościowego oznaczenia stopnia zanieczyszczenia bardziej nadaje się metoda rozcieńczeń.

Do próbówki, zawierającej 9 cm³ wody wyjałowionej, dodają 1 cm.³ wody badanej i dokładnie mieszam. Z pierwszej próbówki przenoszę jałową pipetką 1 cm.³ do drugiej i t. d. W ten sposób uzyskuję najrozmaitsze rozcieńczenia. Z wody badanej, jak i z każdego rozcieńczenia z osobna nastawiam kolbkę fermentacyjną, ewentualnie zwykłą *U* rurkę i, stawiam do ciepłarki na 37° C. Po 24 godzinach obserwuję, które z rozcieńczeń gaz jeszcze wytworzyło i na tej zasadzie wnioskuje o ilości bakterij gazotwórczych w wodzie np.:

jeżeli gaz dało nam rozcieńczenie 1/10, to przyjmuję, że mamy bakt. gazotw. 10 w 1 cm.³,

jeżeli gaz dało nam rozcieńczenie 1/100, to przyjmuję, że mamy bakt. gazotw. 100 w 1 cm.³ i t. d.

Odwrotnie można skalę tę posunąć w drugim kierunku. Sposób ten wymaga trochę więcej pracy, za to jest bardziej ścisły i można przy nim stosować—zamiast złożonych przyrządów do ilościowego pomiaru—ilości wytworzonego gazu, zwykłe *U* rurki, jednostronnie zatopione.

Ponieważ w skład wydzielającego się gazu wchodzi, prócz bezwodnika kwasu węglowego, i wodór, przeto całkowite pochłonięcie gazu przez alkaliczne początkowo podłoże nie może mieć miejsca.

Częściowe pochłonięcie gazu, przez zaabsorbowanie chłodziwa i zupełne dwutlenku węgla nie wpływa na wynik, gdyż nie absolutna wielkość, ale sam fakt wytwarzania gazu, ma dla nas znaczenie.

Zresztą posiewy kontrolujące kolbek fermentacyjnych na płytki wykazały, że gdzie gaz nie powstaje w 37° C., tam niema laseczników okrężnicy.

Przystępując do realnej strony t. j. stosowania gnilnego miana w praktyce, pragnęłam rozwiązać zagadnienie, jakim zmianom ulega gnilne miano w ciągu paru dni od chwili zebrania wody.

Z tablicy VII widać, że gnilne miano co do bezwzględnej wartości maleje, jednak stosunek dla odpowiednich stopni zanieczyszczenia zostaje utrzymany. Te same wyniki daje metoda rozcieńczeń.

TABLICA VII.

Woda zakażona las. okrężnicy po upływie godzin		14	24	42	66
37 ^o C	buljon cukr. + 6 kr. wody	3,8	5,9	6,5	—
	" " +12 kr. "	5,4	6,2	7,8	—
	" " +18 kr. "	7,8	8,7	9,3	—
20 ^o C	" " + 6 kr. "	0	0,6	1,8	37 ^o C { 5,4 6,8 7,2
	" " +12 kr. "	0,2	1,6	3,3	
	" " +18 kr. "	0,2	1,2	3,8	
10 ^o C	" " + 6 kr. "	0	0	0	37 ^o C { 4,9 6,7 8,2
	" " +12 kr. "	0	0	0	
	" " +18 kr. "	0	0	0	

Stąd wniosek: że jest dla nas rzeczą obojętną, czy gnilne miano nastawiono na miejscu zbierania wody, czy też po 2—3 dniach w laboratorium.

Względ na jałowość, a także trudność przewozu nastawionych przyrządów, przemawiają na korzyść nastawiania gnilnego miana w pracowni.

Dur brzuszny, cholera i krwawa biegunka — szczególnie dwie ostatnie jako typowe choroby przewodu pokarmowego — mogą rozpowszechnić się dzięki wodzie, jeżeli ich bodźce dostaną się do niej, wraz z masami kałowymi chorych.

Z tego założenia wychodząc E i j k m a n ¹⁾, starał się w swej próbie orientacyjnej te zanieczyszczenia określić, przyczem jako indyktor użył laseczników okrężnicy, stałe w masach kałowych znajdujących się.

Laseczniki okrężnicy zaliczają do względnie chorobotwórczych (zdania w tym względzie są podzielone).

Przeciwno tej próbie podniosły się głosy protestujące, że laseczniki okrężnicy nie mogą być uważane za wskaźnik zanieczyszczeń kanałowych, gdyż znajdują się na powierzchni ziemi, szczególnie uprawnej, a stąd łatwo już dostać się mogą do wody i symulować zanieczyszczenie kałowe.

¹⁾ Zeit. f. bakt. XXXVII 1904 prof. dr. E i j k m a n „Die Gärungsprobe bei 46^o C., als Hilfsmittel beder Trinkwasseruntersuchung“.

W celu wyjaśnienia tej sprawy, prócz wielu innych, podjął badania Hennigsson. W pracy swej¹⁾ dowodzi, że w wodzie można spotkać żywotne laseczniki okrężnicy „osłabione“ bądź „zjadliwe“. Te ostatnie mogą służyć jako wskaźnik zanieczyszczenia wody na równi z „osłabionymi“, gdyż jak stwierdza swe mi doświadczeniami, w pewnych warunkach (stany obstrukcyjne) i w masach kałowych znajdują się szczepy „osłabione“ laseczników okrężnicy.

Szczepy „osłabione“ wywiązują mało gazu, dają słabą reakcję indolową i t. d., w przeciwstawieniu do szczepów „zjadliwych (wirulentnych), które są wybitnie gazotwórcze, dają wyraźną reakcję indolową, szybko ścinają mleko i t. d.

Hennigsson wprowadza nowy pierwiastek do badań nad „coli-mianem“ w postaci ilościowego oznaczania wytworzonego gazu, oraz uwzględnia czas, w którego ciągu zaczyna się wywiązywanie gazu.

Na tych zasadach odróżnia stopnie zanieczyszczenia:

„Jeżeli powstawanie gazu rozpoczyna się po 5—6 godzinach, to świadczy, że w wodzie jest obecna wielka ilość laseczników okrężnicy (100,000 i więcej w 1 cm.³). Im później zaczyna się wywiązywanie gazu, tem mniej woda jest zanieczyszczoną.

Jeżeli gaz zacznie się wywiązywać po 14—15 godzinach, to znaczy, że w wodzie obecne są tylko pojedyncze laseczniki okrężnicy. Późniejsze wywiązywanie gazu dowodzi zanieczyszczenia wody „nietypowymi“ lasecznikami okrężnicy „lub też osłabionymi“.

Ilość wytworzonego gazu po 24 godzinach, od chwili nastawienia dla „typowych“ laseczników okrężnicy z kału pochodzących, nie powinna być mniejsza niż 5 cm.³, w przeciwnym bowiem razie mamy do czynienia z „nietypowem“ lub starem zanieczyszczeniem wody.

Kwasowość powinna być od 17 do 23^o i wyżej dla „typowych“ laseczników okrężnicy, o ile są one pochodzenia kałowego.

Podział ten wprowadzany przez Hennigsson'a przytaczam tu dla porównania z metodą badania, proponowaną przezemnie

¹⁾ Zeit. f. Hygiene und Infektionskrankheiten LXXIV 1913 „Eine neue Methode zur Beurteilung der fäkalen Verunreinigung eines Wassers, gegründet auf die Veränderlichkeit der Gasbildungsvermögens von B. coli.

dla bakterij gnilnych i niektórych chorobotwórczych (gazotwórczych).

Wnioski Hennigsson'a co do czasu i sposobu określania stopnia zanieczyszczenia wód różnią się zasadniczo od moich.

Na zasadzie powyższego całokształtu badań i spostrzeżeń uważam się za upoważnionego do wyciągnięcia następujących wniosków:

- 1) Temperatura 46° C. w próbie Eijkman'a jeszcze jest możliwa do otrzymania wyników dodatnich zarówno dla laseczników okrężnicy, jak i innych bakterij gnilnych gazotwórczych. Nie jest jednak temperaturą najodpowiedniejszą dla tej próby, dla której optimum jest 37° C.
- 2) Prócz tlenowców, wytwarzają gaz w 46° C. beztlenowce jak: *b. botulinus*, tetani, *clostridium foetidum carnis*, *granulobacillus saccharobutyricus*, *b. oedematis maligni*.
- 3) Ponieważ próba ta nie zależy wyłącznie od laseczników okrężnicy, lecz w równym stopniu od innych bakterij gnilnych (oraz niektórych chorobotwórczych), należy termin „coli miano“ zastąpić przez „gnilne miano“.
- 4) Gnilne miano, jako próba orientacyjna i wskaźnik zanieczyszczenia wód daje możliwość oznaczania ilościowo stopnia zanieczyszczenia wód (przez stosowanie różnych rozcieńczeń).
- 5) Do oznaczania jakościowo i ilościowo gnilnego miana wystarczy najprostsza forma przyrządów w postaci *U* rurki jednostronnie zatopionej, ponieważ ściśle objętościowe pomiary są zbyteczne, a główną rolę odgrywa stopień rozcieńczenia wody.
- 6) Co do wyboru podłoż, to najsłabsze wytwarzanie gazu ma miejsce przy stosowaniu pożywek mineralnych, najwybitniejsze na podłożach peptonowych z dodatkiem cukru grochowego, wreszcie mlekowego.
- 7) Stopień zasadowości podłoża dla każdego rodzaju bakterij jest inny, np.: dla laseczników okrężnicy ca—80°, a laseczników odmieńca *posp.* ca—50° *Mad sen'a i t. p.*
- 8) Niezależnie od stopnia rozcieńczenia wody, stosunek jej do użytego podłoża wynosi 1:10, ponieważ przy większej ilości wody, a małej podłoża, jest znacznie mniej wyraźny.

9) Jakkolwiek „gnilne miano“ w 46° C. i lepiej w 37° C. może być wskaźnikiem zanieczyszczenia wód, to jednak nie daje podstawy do orzeczenia, czy dana woda jest zakażona wiryonami cholery, lasecznikami duru brzuszego, lub krwawej biegunki, ponieważ te właśnie gatunki gazu nie wytwarzają. W tym kierunku większe znaczenie od pozytywnego ma gnilne miano ujemne, jakkolwiek i ono nie wyklucza bezwzględnie możliwości zakażenia wody powyższymi gatunkami bakteryj.

Na zakończenie zaznaczę tylko, że gnilne miano w przypadku pozytywnym a w pewnych warunkach nawet wyniki dokładnej analizy wody, nie dają nam żadnych podstaw do sądzenia o wartości użytkowej wody na przyszłość, stwierdzając jedynie stan faktyczny chwili obecnej.

Innem bowiem będzie nasze zdanie, jeżeli oględziny na miejscu, lub dokładny opis warunków miejscowych dołączony do wody prawidłowo zebranej i dostarczonej do pracowni wykażą, że zanieczyszczenie było przypadkowe, ewentualnie krótkotrwałe, a inne, jeżeli źródło zanieczyszczenia w jakiejkolwiek postaci jest stałe.

Dlatego nie chcąc wyciągać błędnych wniosków, trzeba przy ocenie wartości wody wziąć pod uwagę oba wyżej wzmiankowane czynniki.

Co zaś do znaczenia „gnilnego miana“, to próba ta ma cel wyłącznie orientacyjny i nie może zastąpić oceny sanitarnej, polegającej na zbadaniu terenu i analizie chemiczno-bakteryologicznej.

RÉSUMÉ.

Antoni Sachnowski:

„Titre putréfactif“, en qualité d'indicateur de l'impureté et de l'infection des eaux.

(Du Laboratoire de Dr. St. Serkowski à Varsovie).

Communication annoncée le 7. X. 1915.

Présentée par St. Serkowski.

Le titre dit „de coli“, ou l'épreuve d'Eijkmann est fondé sur la supposition que le colibacille — contrairement aux autres

bactéries — soit le seul doué de la faculté de dégagement gazeux, même à 46°C. Cependant nous avons remarqué à maintes reprises que nombre d'autres bactéries ont également cette puissance fermentative à cette température.

D'autre part, en faisant des analyses sanitaires de l'eau, nous avons eu plusieurs fois occasion d'observer que le „titre de coli“ ne fut point l'indicateur d'impureté, constatée ensuite sur voie strictement bactériologique. C'est pourquoi la nécessité se présente d'exécuter des expériences avec le „titre de coli“; leur but est d'établir, si le titre de coli pourrait être l'indicateur d'impureté et d'infection des eaux, et notamment en quel degré.

Le procédé des recherches fut le suivant: à une certaine quantité d'eau on ajoute 1/6 — 1/8 du volume de peptone concentré, renfermant de la glucose; le tout fut ensuite versé dans la cornue fermentative d'Eijkmann. Le dégagement gazeux est censé d'indiquer la présence du colibacille.

S'il ne s'agissait que des données pour s'orienter sur le dégagement du gaz — la cornue d'Eijkmann, ou bien le tube en U ordinaire eut absolument suffi. Mais du moment, qu'il s'agit — en qualité d'indicateur — de la quantité produite du gaz qui doit être prélevé soigneusement pour être étudié — cette cornue cesse d'être utile, et en s'en servant nous ne lisons que la quantité du gaz produite dans la partie bouchée (v. a₁, fig. 1). En dehors de ceci, le gaz chasse le liquide à mesure de son dégagement, et de cette manière notre quantité de liquide „actif“ diminue toujours. En présence de ce fait, je suis d'avis que dans les cas où la puissance du dégagement gazeux des diverses espèces bactériennes, ou bien de la même, n'est pas égale — nous n'en pouvons pas comparer les résultats, lorsqu'il s'agit des données exactes.

Afin d'obtenir des conditions propices aux expériences, j'ai construit une cornue fermentative de type un peu différent

(fig. 1, III). Elle se compose d'un récipient *a*, terminé par le tube capillaire *b* à parois épaisses et muni de l'orifice latéral *a* qui sert à remplir le récipient. Au-dessus de ce récipient est placée l'éprouvette calibrée *d*, remplie d'eau. Le bouchon élastique unissant les deux parties de cet appareil est percé par une autre canule capillaire à parois épaisses, débouchant dans un récipient pour cueillir l'eau chassée de l'éprouvette par le gaz. Ce récipient est pareillement muni d'orifice latéral pour maintenir à l'intérieur la pression atmosphérique.

Avant l'expérience on remplit le récipient de la matière examinée et d'un milieu convenable, on le bouche hermétiquement et met dans l'étuve. Après quelque temps on lit la quantité du gaz dégagé et cueilli.

Après avoir accompli cette modification insignifiante, j'ai procédé à vérifier, si le colibacille est le seul doué de faculté de dégagement gazeux à la t° de 46°. A ce propos j'ai fait l'expérience suivante: j'ai rempli 3 cornues fermentatives de l'émulsion du proteus vulgaris additionnée du bouillon sucré, et simultanément 3 autres cornues—de l'émulsion de colibacille (en qualité de témoin); ensuite, j'ai mis le tout dans l'étuve chauffée à 46°C.

TABLE I.

B. coli commune	Après	21 ^h	31 ^h
6 gouttes em. bact. + bouillon sucré . .		6,0 cm. ³	6,2 cm. ³
12 " " " + " " . .		6,9 cm. ³	7,5 cm. ³
18 " " " + " " . .		7,2 cm. ³	7,6 cm. ³
B. proteus vulgaris			
6 gouttes em. bact. + bouillon sucré . .		3,0 cm. ³	3,6 cm. ³
12 " " " + " " . .		3,5 cm. ³	3,8 cm. ³
18 " " " + " " . .		5,3 cm. ³	5,6 cm. ³

L'expérience ci-dessus, répétée à maintes reprises, donna toujours des résultats pareils, c. à d., en ensemençant sur du bouillon sucré (avec glucose) des bacilles de proteus vulgaris, j'ai toujours obtenu le dégagement gazeux à 46°C. En considération de ceci, j'ai disposé des cornues fermentatives avec autres espèces bactériennes, telles que le b. botulinus, le bacille du tétanus, clostridium, foetidum carnis, le granulobacillus saccharobutyricus, oedematis maligni, et autres. Les résultats furent positifs.

Dans tous les cas décrits j'ai employé le bouillon sucré (glucose à 2 p. 100) à la t° de 46° C.

En me basant sur les résultats de mes expériences j'affirme que celle d'Eijkmann n'est pas spécifique pour le colibacille; d'autre côté, j'amène les preuves de Hennigsson, que le dégagement gazeux à 46°C. exige une grande quantité des bactéries: „la cornue fermentative renfermait 20 — 60,000 de colibacilles (c. à d. 1—3000 par 1 cc.) qui ont produit 5—13.2 cc. de gaz à la t° de 37° C., tandis que la même quantité de bactéries, dans la cornue portée à 46 à 46° C. n'a point produit de gaz.“

Mes nombreuses expériences confirment que la t° de 37° C. crée des conditions bien plus favorables pour le colibacille, de même que pour les autres bactéries putréfactives; l'ensemencement fait des cornues fermentatives sur les plaques, de même que les quantités du gaz produit, confirment le fait susdit.

Tandis qu'à la t° de 46° C. je n'ai obtenu que des titres bien insignifiants (ils ont atteints leur maxima de 7.6 cc. de gaz après 34 heures) — les résultats à 37° C. furent en moyenne les suivants:

après 6 heures	10 h.	14 h.	22 h.
0.8 — 1.4	3 — 5.6	5.1 — 8.4	7.4 — 17.4 etc.

Ceci témoigne en faveur de 37° C. qui est plus favorable au développement et devient ainsi sensibilisatrice pour l'expérience.

En dehors de ceci, j'ai fait des expériences mixtes, et notamment:

TABLE II *)

B. proteus vulgaris et coli commune à la temp.	46° C	37° C
bouillon sucré + 1 goutte em. coli com. + 1 goutte em. proteus vulg.	1,2-3,1	3,8- 4,5
” ” +2 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,8-3,3	6,5- 7,8
” ” +3 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,2-3,4	8,3- 8,9
” ” +4 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,2-3,5	9,4-10,2
” ” +5 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,6-3,1	10,8-11,4
” ” +6 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,6-3,7	11,2-11,7
” ” +7 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,8-3,6	12,3-13,5
” ” +8 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	1,8-3,8	15,2-15,8
” ” +9 ” ” ” ” +1 ” ” ” ”	2,1-3,8	15,2-17,4

Malgré mes nombreuses expériences, la t° de 46° C. ne m'a dans aucun cas donné des résultats meilleurs que ceux de 37° C.; en vue de cela, je propose à accepter la t° de 37° comme la plus propice.

L'expérience faite à 37°, de même que celle de 46° C. concernent, en dehors du colibacille — d'autres bactéries fermentatives; cependant le colibacille n'est pas le seul à avoir pour nous une valeur sanitaire. L'eau sur laquelle il est impossible de se prononcer avec assurance que le colibacille s'y trouve, vital, „virulent“ (beaucoup de gaz, forte acidité etc.), provenant des excreta — peut être néanmoins absolument inutilisable, grâce à d'autres microbes, tels que le proteus vulgaris, le pneumobacille de Friedländer etc.

Cela montre que la t° de 46° C. ne caractérise pas exclusivement le colibacille, mais qu'elle se rapporte de même aux autres bactéries; prenant en considération ce fait — je propose — tout en subsistant 37° C. à 46° C. — de remplacer la dé-

*) Les résultats pareil j'ai reçu avec les rapports contraires entre b. coli commune et b. proteus vulgaris.

TABLE III (37° C).

Pneumobacillus Friedländeri après:	16 h	40 h	64 h
bouillon sucré + 6 gouttes de l'eau infecte	0.8—1.8	2.4—3.5	3.2—6.8
" " + 12 " " " "	2.1—3.4	2.9—6.1	4.3—6.4
" " + 18 " " " "	3.8—5.2	4.3—6.3	5.2—6.5
b. paratyphi B			
bouillon sucré + 6 gouttes de l'eau infecte	1.2—2.5	2.7—3.5	3.2—5.4
" " + 12 " " " "	2.1—3.1	3.2—3.9	3.4—5.8
" " + 18 " " " "	2.7—3.5	3.3—5.6	5.2—6.7

signation „titre de coli“ par „titre putréfactif“, puisque celle-ci comprend — en dehors du colibacille, de même les autres bactéries putréfactives.

A l'appui de mes conclusions j'amène plusieurs résultats de 253 analyses de l'eau. Le titre putréfactif fut déterminé à 46° C. dans 187 analyses, et à 37° — dans 66.

A 46° C. — 157 analyses:

- 4.4% fut reconnu de l'eau d'égout; titre putréfactif — 0—0.5 cc. de gaz;
- dans 4.6% furent trouvés le prot. vulgar. et autres bactéries putréfactives; titre putréfactif 0—1.5 cc. de gaz;
- dans 9.3% furent constatés le colibacille et autres bactéries putréfactives; titre putréf. 0—1.1 cc. de gaz;
- dans 6.3% — grande quantité de bactéries putréfactives titre — 0—2,3 cc. de gaz.

A 37° C. — 66 analyses:

- 1 analyse c. à d. 1.5% fut désignée d'eau d'égout; titre de putréf. 5 cc) de gaz;
- dans 4.5% — le proteus vulgar.; titre putréfactif 4 — 8.4 cc. de gaz;
- dans 5% — le colibacille; titre de putréf. 6 — 12.5 cc. de gaz.

Le susdit montre qu'en appliquant 48° C. il y a eu des cas, où le titre fut 0, autant dans l'eau d'égout, que quelquefois dans l'eau ordinaire, mais renfermant le colibacille ou le proteus vulgaris; des cas pareils ne se sont jamais produits à la t° de 37° C.

Le second but que je me suis proposé fut d'établir, si la quantité du gaz produit, éventuellement l'acidité du milieu, ou la durée de dégagement gazeux ne peuvent pas être utilisés comme indicateurs de la forme et du degré de l'impureté de l'eau.

Avant tout, j'ai tâché de trouver le milieu le plus convenable, tout en comparant les milieux minéraux et organiques.

TABLE IV (37° C)

b. coli commune après:	24 h	48 h	72 h
Liquide de Cohn + 1,5 gluc. + 6 gout. d'em. bact.	3,1—3,8	4,8—5,6	5,8—6,2
" " " + 1,5 " + 12 " " "	3,2—3,8	5,8—7,3	6,1—9,1
" " " + 1,5 " + 18 " " "	3,7—4,2	5,6—7,8	6,7—9,3
bouillon + 1,5% lactose + 6 gouttes d'em. bact.	11,4—12,6	13,5—15,3	13,8—15,4
" + 1,5% " + 12 " " "	11,2—12,2	11,8—14,6	12,4—15,7
" + 1,5% " + 18 " " "	12,8—14,2	13,8—15,2	14,9—16,8
" + 1,5% glucose + 6 " " "	10,2—11,8	12,1—13,4	13,8—15,1
" + 1,5% " + 12 " " "	14,6—15,2	14,9—15,8	15,2—15,9
" + 1,5% " + 18 " " "	14,1—17,4	14,5—17,8	15,2—18,3
Milieu de Barsickon + 6 gouttes em. bact.	1,8—2,4	3,3—3,6	3,8—4,5
" " " + 12 " " "	2,7—3,3	3,6—4,5	5,2—7,5
" " " + 18 " " "	2,9—3,5	3,7—4,8	5,6—7,6

Les plus convenables se sont donc montrés les milieux de peptone additionné de glucose, tandis que les milieux minéraux créent des conditions très défavorables au développement bactérien.

Sous l'action du développement microbien s'effectuent dans le milieu envisagé certaines modifications qui se manifestent,

entre outre, par la production des acides, influant de leur côté sur la réaction du milieu.

Les milieux minéraux conviennent mieux ici, puisqu'il y est plus aisé de saisir le point de transition de l'indicateur, tandis que dans les milieux organiques ceci présente l'une des plus grandes difficultés au titrage.

Malgré cela, en cultivant dans le bouillon et dans le peptone sucré les bactéries putréfactives, telles que le colibacille ou le proteus vulgaris, j'ai tâché de saisir la relation entre la quantité du gaz dégagé et le degré de l'acidité. Les résultats en sont comparés plus loin.

TABLE V (37° C)

b. coli commune	Quantité en centimetres cubes du gaz	Acidité en degrés
6 goutes em. bact. + bouil. sucre ev. un autre mil.	6.2—15.1 cm. ³	37.8°—7.2°
12 " " " + " " " " " "	9.1—15.8	48.1°—57.5°
18 " " " + " " " " " "	9.3—18.3	53.1°—69.7°

Les résultats pareil, mais moins nets, concernant l'acidité ont donné b. proteus vulgaris.

On voit de la table V qu'une relation pratique entre ces deux facteurs est imperceptible.

Me basant sur la proposition que le procès de fermentation cesse lors du moment où l'acidité aura atteint un certain degré, j'ai tâché de prolonger cette période, en appliquant des milieux alcalins.

Les optima d'alcalinité n'ont pas pu être déterminés exactement: toutefois j'ai réussi à constater que ces optima varient selon l'espèce bactérienne; ainsi celui du colibacille égale ca. 80° et celui du proteus vulgaris — ca. 50° de Madsen.

Après avoir obtenu ces résultats, j'ai cherché à établir la relation la plus convenable entre l'eau examinée et le milieu, puisqu'il est aisé de concevoir que les conditions seront bien plus propices, la relation de l'eau et du milieu étant 1:100, qu'en sens inverse.

TABLE VI (37° C) b. coli commune.

bouillon sucré	reaction normale	6 gouttes d'em. bact.	10,0—11,2
"	"	12 " " "	10,9—12,4
"	"	18 " " "	12,1 - 14,5
"	" 40° de Madsen	6 " " "	7,5—12,8
"	"	12 " " "	11,8—13,0
"	"	18 " " "	8,3—12,0
"	" 80°	6 " " "	9,4—14,0
"	"	12 " " "	11,4—15,2
"	"	18 " " "	13,2—15,0
"	" 120°	6 " " "	9,3—10,0
"	"	12 " " "	9,1—10,6
"	"	18 " " "	9,2—11,0

Je n'ai pas pu déterminer cette relation, vu qu'elle dépend du degré d'impureté, en tout cas, pour chaque eau, la relation la plus convenable sera 1 : 8 — 1 : 10.

La quantité dégagée du gaz, le laps du temps jusqu'au début de son dégagement, de même que l'acidité du milieu ne nous peuvent servir qu'en qualité d'indicateurs de la plus grande ou bien de la moindre virulence de la race envisagée (conformément à la nomenclature de Hennigsson); mais ils n'indiquent le degré d'impureté.

Ceci deviendra facile à comprendre, lorsqu'on aura porté l'attention au grand nombre des bactéries „affaiblies“, dénuées considérablement de leur force vitale. L'eau en peut contenir une grande quantité même, mais elles produiront toujours moins de gaz, qu'une quantité inférieure ou même égale des bactéries virulentes.

Le même concerne aussi le laps du temps jusqu'au début du dégagement gazeux, ainsi que le degré de l'acidité.

Le procédé le mieux adapté à la détermination quantitative du degré de l'impureté est celui de dilution.

A une éprouvette remplie de 9 cc. d'eau stérilisée j'ajoute 1 cc. de l'eau examinée, tout en agitant soigneusement le mé-

lange. A l'aide d'une pipette stérilisée je transporte 1 cc. de la première éprouvette dans la seconde, et de suite. De cette manière, j'obtiens des degrés divers de dilution. De l'eau examinée, et de chaque dilution séparément je dispose une cornue à fermentation, éventuellement un tube en U, et j'emets ensuite le tout dans l'étuve à 37° C.

Après 24 heures j'observe laquelle des dilutions aura encore dégagé du gaz; me basant sur ces observations, j'apprécie la quantité des bactéries gazogènes dans l'eau examinée. Par exemple:

si la dilution $\frac{1}{10}$ aura produit du gaz, je suppose que l'eau renferme 10 bactéries fermentatives par 1 cc.;

si la dilution $\frac{1}{100}$ aura produit du gaz, l'eau renferme 100 bactéries ferment. p. 1 cc.

Inversement, on peut pousser cette échelle dans la direction opposée. Ce procédé-ci est plus compliqué, mais aussi plus exact; en dehors de cela — au lieu des appareils compliqués pour mesurer la quantité du gaz dégagé, on y peut utiliser les tubes en U ordinaires bouchés d'un côté.

Comme le gaz dégagé, outre l'anhydride de l'acide carbonique, renferme encore le hydrogène, il n'y peut pas avoir lieu l'absorption totale par le milieu alcalin au début.

L'absorption partielle du gaz, due à l'absorption même totale du peroxyde carbonique, n'a aucune importance, puisque ce n'est pas la quantité absolue qui nous intéresse, mais le fait même du dégagement gazeux.

D'ailleurs, l'ensemencement de contrôle, fait des cornues fermentatives sur des plaques, a démontré un manque absolu du colibacille dans les cas, où il n'y a pas de dégagement gazeux à 37° C.

En abordant le côté réel, c. à d., l'application pratique du titre de putréfaction, j'ai tâché d'établir les modifications subies par le titre putréfactif dans le laps de plusieurs jours depuis le moment du prélèvement de l'eau.

TABLE VII.

L'eau infectée par b. coli commune après:		14 h	24 h	42 h	66 h
37° C	bouillon sucré + 6 gouttes de l'eau	3,8	5,9	6,5	—
	" " + 12 " " "	5,4	6,2	7,8	—
	" " + 18 " " "	7,8	8,7	9,3	—
20° C	" " + 6 " " "	0	0,6	1,8	37° C { 5,4 6,8 7,2
	" " + 12 " " "	0,2	1,6	3,3	
	" " + 18 " " "	0,2	1,2	3,8	
10° C	" " + 6 " " "	0	0	0	37° C { 4,9 6,7 8,2
	" " + 12 " " "	0	0	0	
	" " + 18 " " "	0	0	0	

La table VII montre que la valeur absolue du titre de putréfaction diminue; mais néanmoins, la relation des degrés respectifs de l'impureté reste stationnaire. Le procédé de dilution donne les mêmes résultats.

De là nous sommes portés à conclure que le titre reste invariable, s'il est mis à l'endroit même du prélèvement ou bien 2 — 3 jours plus tard, au laboratoire.

Vu la stérilité, ainsi que la difficulté du transport des appareils disposés, on recommande à étudier le titre de putréfaction au laboratoire.

La fièvre typhoïde (typhus), le choléra et la dysentérie — surtout les deux dernières, en qualité des maladies typiques de l'appareil digestif — peuvent être véhiculées par l'eau, leur virus ayant pénétré dans celle-ci avec les excreta des malades. Se basant sur cette théorie, Eijkmann¹⁾ tâcha dans son expérience l'épreuve de déterminer cette impureté, tout en utilisant, en qualité d'indicateur, le colibacille, présent toujours dans les excreta.

¹⁾ Zentralbl. f. Bakt. XXXVII. 1904. Prof. Dr. C. Eijkmann. Die Gärungsprobe bei 46° C, als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung.

Le colibacille est placé au rang des bactéries relativement pathogènes (il existe une divergence des opinions sur ce point).

Il y eut des voix qui ont contesté cette expérience et démontré que le colibacille ne peut pas être considéré comme indicateur d'impureté, puisqu'il se trouve partout à la surface du sol labouré, d'où il peut aisément pénétrer dans l'eau et y simuler l'impureté fécale.

En dehors de nombre d'auteurs, Hennigsson entreprit des recherches afin d'éclairer cette question; il soutient dans son ouvrage ¹⁾ que l'eau renferme des bactéries vintaves du colibacille: tantôt „affaiblies“, tantôt „virulentes“. Les vitales, tout comme les affaiblies, peuvent être utilisées en qualité d'indicateur de l'impureté de l'eau, puisque, comme Hennigsson le montre par ses expériences, les races affaiblies du colibacille se trouvent aussi dans les excreta, en des conditions spéciales (obstipation).

Les races affaiblies dégagent peu de gaz, donnent une faible réaction d'indol, etc., opposément aux races „virulentes“ qui ont un fort pouvoir fermentatif, donnent une réaction bien prononcée, coagulent promptement le lait, etc.

Hennigsson introduit dans ses recherches sur le coli-titre un élément nouveau — la mesure quantitative du gaz dégagé; il prend de même en considération le laps du temps écoulé jusqu'au début du dégagement gazeux.

Appuyé sur ces bases, il distingue les suivants degrés d'impureté:

„Lorsque le début de dégagement gazeux aura lieu dans 5 — 6 heures — ceci prouve, que l'eau renferme une quantité très grande des colibacilles (100,000 et davantage par 1 cc.). Plus tard commence le dégagement gazeux — plus faible est l'impureté de l'eau.

¹⁾ Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. LXXIV. 1913. Eine neue Methode zur Beurteilung der fäkalen Verunreinigung eines Wassers, gegründet auf die Veränderlichkeit des Gasbildungsvermögens von B. coli.

„Lorsque le dégagement gazeux commence après 14 — 15 heures — l'eau ne renferme que des colibacilles isolés. Le dégagement gazeux encore plus retardé montre que l'eau fut infectée par des colibacilles „atypes“, ou bien „affaiblis“.

„La quantité du gaz produit dans 24 heures ne doit pas être inférieure à 5 cc. pour les colibacilles — „types“, de provenance fécale; dans le cas opposé il s'agit d'impureté de l'eau „atype“, ou ancienne.

„L'acidité doit être de 17° à 23°, et davantage pour les colibacilles „types“, en tant qu'ils sont de provenance fécale.

J'amène cette classification, appliquée par Hennigsson afin de la comparer à la méthode d'observation sur les bactéries putréfactives et plusieurs espèces pathogènes, que j'ai proposée.

Les conclusions de Hennigsson à l'égard de la durée et du mode de déterminer le degré d'impureté des eaux diffèrent essentiellement des miennes.

Appuyé sur le procédé d'examen et des observations susdits, je crois être autorisé à en tirer les conclusions suivantes:

1. A l'épreuve d'Eijkmann la t° de 46° C. permet encore d'obtenir des résultats positifs, autant pour le colibacille que pour les autres bactéries putréfactives, fermentatives. Pourtant, cette t° ne convient pas le mieux à cette épreuve, pour laquelle la meilleure est la t° de 37° C.

2. En dehors des aérobies, le gaz dégagé est aussi produit à la t° de 46° par des anaérobies, tels que le b. botulinus, le bacille du tétanus, le clostridium foetidum carnis, le granulo-bacillus saccharobutyricus, le b. oedematis maligni.

3. Cette épreuve, n'étant pas déterminée exclusivement par le colibacille, mais dépendant au même degré des autres bactéries putréfactives (et de plusieurs pathogènes) — il aurait fait remplacer la désignation „coli-titre“ par le „titre putréfactif“.

4. Le titre de putréfaction — en qualité d'essai d'orientation et d'indicateur de l'impureté des eaux — nous fournit le

moyen de déterminer quantitativement l'impureté des eaux (en appliquant des degrés divers de dilution).

5. Pour la détermination quantitative et qualitative du titre de putréfaction suffit la forme des appareils la plus simple, c. à d. le tube en U, fondu par un bout, puisque des mesures volumétriques exactes n'y sont pas nécessaires et le degré de dilution de l'eau joue le rôle prépondérant.

6. A l'égard des milieux — le plus faible dégagement gazeux a lieu dans les milieux minéraux, le plus fort — dans les milieux peptonés, additionnés de glucose, ou même de lactose.

7. Le degré d'alcalinité varie selon les espèces bactériennes; ainsi pour le colibacille il égale ca. 80°, le proteus vulgaris—ca. 50° de Madsen etc.

8. La relation de l'eau et du milieu employé doit être 1:10, indépendamment du degré de dilution de l'eau, puisque le résultat est bien moins précis là où il y a une plus grande quantité d'eau et une plus petite du milieu.

9. Bien que le „titre de putréfaction“ à 46° C., et mieux encore à 37° C., puisse servir d'indicateur de l'impureté des eaux, il ne donne point de fondement à établir, si l'eau envisagée est infectée par les vibrions cholériques, les bacilles typhiques, les bacilles dysentériques, puisque justement ces espèces microbiennes ne produisent point de gaz. Dans ce sens le titre de putréfaction négatif a une valeur supérieure au positif, bien que même ce dernier n'exclut point la possibilité d'infection de l'eau par les espèces bactériennes mentionnées.

Enfin je n'ai qu'ajouter que le „titre putréfactif“ dans le cas positif dans certaines conditions (même si nous obtenons les résultats d'une analyse précise de l'eau) ne nous autorise pas à juger sa valeur dans le temps à venir; nous ne devons qu'affirmer son état réel dans le moment présent.

D'autre part notre avis sera autre si inspection de l'endroit du prélèvement ou sa description précise jointe à l'eau

correctement prélevée démontre que l'impureté n'était qu'accidentelle et passagère — et l'autre quand la cause en est constante.

C'est pour cela qu'en voulant éviter les fausses conclusions en évaluant la valeur de l'eau, nous devons bien avoir en vue deux cas mentionnés ici.

Quant à ce qui concerne la valeur du „titre putréfactif“ cette épreuve ne sert qu'en qualité d'essai d'orientation et elle ne peut pas remplacer l'évaluation sanitaire qui est fondée sur l'inspection de l'endroit du prélèvement et sur l'analyse chimique et bactériologique.

4. Stefan Mazurkiewicz:

O wyznaczniku Fredholm'a II. Jądra różniczkowalne.

Komunikat zgłoszony dn. 2 Grudnia 1915 r.

Przedstawił S. Dickstein.

H. Weyl udowodnił¹⁾, że wartości właściwe (*Eigenwerte*) jądra symetrycznego, posiadającego ciągłą (względem obu zmiennych) pochodną, spełniają warunek:

$$(1) \quad \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n^{\frac{3}{2}}}{\lambda_n} = 0$$

Zadaniem noty niniejszej jest uogólnienie powyższego wyniku na jądra niesymetryczne. Będziemy przytem posługiwali się jedynie wzorami Fredholm'a, oraz teorią funkcji całkowitych, gdy tymczasem Weyl opiera się na specjalnych własnościach jąder symetrycznych.

Twierdzenie. Jeżeli jedna conajmniej z pochodnych:

$$\frac{dK(s, t)}{ds} ; \frac{dK(s, t)}{dt}$$

¹⁾ H. Weyl: *Göttinger Nachrichten* (math.-phys. Klasse 1911) oraz *Mathematische Annalen* 71, p. 441—479 (1912).

istnieje i jest w przedziale całkowania ciągła względem zmiennych s i t , wówczas wartości właściwe jądra $K(s, t)$ spełniają warunek (1).

Przypuśćmy, iż założenia nasze sprawdzają się w stosunku do pochodnej $\frac{dK(s, t)}{dt}$, którą oznaczmy przez $K'(s, t)$.

Niechaj będzie ε dowolnie daną liczbą; oznaczmy przez M i N — górne granice funkcji $|K(s, t)|$ i $|K'(s, t)|$. Co do przedziału całkowania, to założyć można, że jest nim przedział (0.1).

Wobec ciągłości funkcji $K'(s, t)$ możemy znaleźć taką liczbę $\delta > 0$, że nierówności:

$$(2) \quad |s - s_1| \leq \delta; |t - t_1| \leq \delta$$

pociągają będą nierówność:

$$(3) \quad |K'(s, t) - K'(s_1, t_1)| \leq \frac{\varepsilon}{2}$$

W szczególności jeżeli:

$$(4) \quad |t - t_1| \leq \delta$$

to, dla każdego s mieć będziemy:

$$(5) \quad |K'(s, t) - K'(s_1, t_1)| \leq \frac{\varepsilon}{2}$$

Oznaczając przez k_ε najmniejszą liczbę całkowitą, sprawdzającą nierówność:

$$(6) \quad k_\varepsilon \cdot \frac{\delta}{2} \geq 1$$

możemy wyznaczyć liczbę całkowitą n_ε tak, aby spełnioną była nierówność:

$$(7) \quad 2^{n_\varepsilon} \geq 2^{4k_\varepsilon} + 2^{\varepsilon^{-(2k_\varepsilon + 2)}} N^{2k_\varepsilon} + 1 M.$$

Nierówność ta będzie dla każdej liczby $n \geq n_\varepsilon$ a fortiori spełniona.

Wyznacznik Fredholm'a jądra $K(s_1, t)$ ma postać:¹⁾

$$(8) \quad D(\lambda) = 1 + \sum_1^\infty a_n \lambda^n$$

¹⁾ Lalesco: *Introduction à la theorie des equations intégrales* (1912), p. 25 s. s.

gdzie:

$$(9) \quad a_n = \frac{1}{n!} \int_0^1 \dots \int_0^1 K \begin{pmatrix} s_1 \dots s_p \\ s_1 \dots s_p \end{pmatrix} ds_1 \dots ds_p$$

oraz:

$$(10) \quad K \begin{pmatrix} s_1 \dots s_n \\ s_1 \dots s_n \end{pmatrix} = \begin{vmatrix} K(s_1, s_1) & K(s_1, s_2) & \dots & K(s_1, s_n) \\ K(s_2, s_1) & K(s_2, s_2) & \dots & K(s_2, s_n) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ K(s_n, s_1) & K(s_n, s_2) & \dots & K(s_n, s_n) \end{vmatrix}$$

Niechaj będzie dany dowolny układ wartości $s_1 \dots s_n$. Oznaczmy przez $t_1 \dots t_n$ taką permutację tych wartości, w której są one uporządkowane według malejących wielkości. Mamy tedy:

$$(11) \quad 1 \geq t_1 \geq t_2 \dots \geq t_n \geq 0$$

a zarazem:

$$(12) \quad K \begin{pmatrix} s_1 \dots s_n \\ s_1 \dots s_n \end{pmatrix} = K \begin{pmatrix} t_1 \dots t_n \\ t_1 \dots t_n \end{pmatrix}$$

W tym ostatnim wyznaczniku odejmujemy od k^{ej} kolumny $k + 1^{aj}$, dla $k = 1, 2 \dots n - 1$. Tak przekształcony wyznacznik nie zmieni wartości, w i^{m} zaś wierszu i k^{ej} kolumnie będzie miał

α) dla $k = n, i = 1, 2 \dots n$ — wyraz $K(t_i, t_n)$

β) dla $k = 1, 2 \dots n - 1; i = 1, 2 \dots n$ — wyraz:

$$(13) \quad K(t_i, t_k) - K(t_i, t_{k+1}) = (t_k - t_{k+1}) K'(t_i, t_{ik})$$

przyczem:

$$(14) \quad t_k > t_{ik} > t_{k+1}$$

co wynika z twierdzenia o wartościach średnich. Wartość t_{ik} zależy oczywiście od t_i .

Tym sposobem:

$$(15) \quad K \begin{pmatrix} t_1 \dots t_n \\ t_1 \dots t_n \end{pmatrix} = \frac{n-1}{1} (t_k - t_{k+1}) \begin{vmatrix} K'(t_1, t_{11}) & K'(t_1, t_{12}) & \dots & K'(t_1, t_{1n-1}) & K(t_1, t_n) \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ K'(t_n, t_{n1}) & K'(t_n, t_{n2}) & \dots & K'(t_n, t_{nn-1}) & K(t_n, t_n) \end{vmatrix}$$

Mamy dalej:¹⁾

$$(16) \quad \left| \begin{matrix} n \\ k \\ 1 \end{matrix} \right| (t_k - t_{k+1}) \leq \frac{1}{(n-1)^{n-1}}$$

co zaś do wyznacznika stojącego po prawej stronie równości (15), to przekształcamy go znowu, odejmując od k -ej kolumny $k+1$ (dla $k=1, 2, \dots, n-2$), przez co wartość jego zmianie nie ulegnie. Otrzymamy wyznacznik:

$$(17) \quad \begin{vmatrix} K'(t_1, t_{11}) - K'(t_1, t_{12}) & K'(t_1, t_{12}) - K'(t_1, t_{13}) \dots K'(t_1, t_{1, n-1}) & K(t_1, t_n) \\ K'(t_2, t_{21}) - K'(t_2, t_{22}) & K'(t_2, t_{22}) - K'(t_2, t_{23}) \dots K'(t_2, t_{2, n-1}) & K(t_2, t_n) \\ \dots & \dots & \dots \\ K'(t_n, t_{n1}) - K'(t_n, t_{n2}) & K'(t_n, t_{n2}) - K'(t_n, t_{n3}) \dots K'(t_n, t_{n, n-1}) & K(t_n, t_n) \end{vmatrix}$$

Wśród różnic:

$$(18) \quad t_k - t_{k+1} \quad k = 1, 2, \dots, n-1$$

istnieje wobec (6) co najmniej k_ϵ przekraczających $\frac{\delta}{2}$, a więc wśród różnic:

$$(19) \quad t_k - t_{k+2}$$

istnieje co najwyżej $2k_\epsilon$ przekraczających δ i tym sposobem co najmniej $(n - 2k_\epsilon - 2)$ — spełniających nierówność:

$$(20) \quad t_k - t_{k+2} < \delta$$

Dla wskaźnika k , dla których zachodzi (20), mamy wobec nierówności (14):

$$(21) \quad t_{ik} - t_{i, k+1} < \delta \quad i = 1, 2, \dots, n$$

a zatem wobec (4) — (5):

$$(22) \quad |K'(t_i, t_{ik}) - K'(t_i, t_{i, k+1})| \leq \frac{\epsilon}{2}$$

Widzimy tedy, że wyznacznik (17) posiada co najmniej $n - 2k_\epsilon - 2$ kolumn, w których wyrazy są absolutnie niewielkie

¹⁾ Lalesco: *ibid.* p. 87.

sze niż $\frac{\varepsilon}{2}$; wyrazy ostatniej kolumny są absolutnie niewiększe od M , — przedostatniej od N , wreszcie $2k_\varepsilon$ pozostałych — od $2N$.

Tym sposobem, wartość bezwzględna wyznacznika (17) będzie niewiększa niż:

$$(23) \quad \left(\frac{\varepsilon}{2}\right)^{n-2k_\varepsilon-2} \cdot 2^{2k_\varepsilon} N^{2k_\varepsilon+1} M \cdot n^{\frac{n}{2}}$$

co z łatwością wynika ze znanego twierdzenia Hadamarda¹⁾. Uwzględniając jeszcze (16) otrzymujemy:

$$(24) \quad \left| K \begin{pmatrix} s_1 \dots s_n \\ s_1 \dots s_n \end{pmatrix} \right| = \left| K \begin{pmatrix} t_1 \dots t_n \\ t_1 \dots t_n \end{pmatrix} \right| \leq \\ \leq \frac{n^{\frac{n}{2}}}{(n-1)^{n-1}} \cdot \varepsilon^{n-2k_\varepsilon-2} \cdot \frac{1}{2^n} \cdot 2^{4k_\varepsilon+2} N^{2k_\varepsilon+1} M$$

a więc wobec (7):

$$(25) \quad \left| K \begin{pmatrix} s_1 \dots s_n \\ s_1 \dots s_n \end{pmatrix} \right| \leq \frac{n^{\frac{n}{2}} \varepsilon^n}{(n-1)^{n-1}}$$

$$(26) \quad |a_n| \leq \frac{n^{\frac{n}{2}}}{n!(n-1)^{n-1}} \varepsilon^n$$

Stąd wynika:

$$(27) \quad \sqrt[n]{|a_n|} \leq \frac{\sqrt[n]{n}}{n-1} \cdot \frac{1}{\sqrt[n]{n!}} \cdot \sqrt[n]{n-1} \cdot \varepsilon = \frac{1}{\sqrt[n]{n}} \cdot \frac{1}{\sqrt[n]{n!}} \cdot \sqrt[n]{(n-1)} \cdot \frac{n}{n-1} \cdot \varepsilon$$

Uwzględniając:

$$(28) \quad \lim_{n \rightarrow \infty} \sqrt[n]{(n-1)} = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n}{n-1} = 1$$

oraz

$$(29) \quad \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\sqrt[n]{n!}}{n} = \frac{1}{e}$$

¹⁾ Lalesco: *ibid.* p. 28.

otrzymujemy ze związku (27):

$$(30) \quad \overline{\lim}_{n \rightarrow \infty} \left(n^{\frac{3}{2}} \sqrt[n]{|a_n|} \right) \leq \varepsilon e$$

ponieważ zaś ε jest dowolne, więc:

$$(31) \quad \lim_{n \rightarrow \infty} n^{\frac{3}{2}} |a_n|^{\frac{1}{n}} = 0$$

Wynika stąd ¹⁾, że do każdego $\varepsilon > 0$ można dobrać taką liczbę ρ_ε , że warunek:

$$(32) \quad |\lambda| \geq \rho(\varepsilon)$$

pociągać będzie za sobą związek:

$$(33) \quad |D(\lambda)| \leq e^\varepsilon |\lambda|^{\frac{2}{3}}$$

z którego wynika ²⁾ natychmiast (1) — c. b. d. o.

Warszawa 11/XI 1915.

RÉSUMÉ.

Stefan Mazurkiewicz:

Sur le déterminant de Fredholm II. Les noyaux dérivables.

Communication annoncée le 2.XII. 1915.

Présentée par S. Dickstein.

Je démontre dans cette note le théorème suivant:

Les valeurs caractéristiques d'un noyau borné qui admet, par rapport à l'une au moins des variables une dérivée continue dans le carré d'intégration, — sont assujéties à la condition

$$\lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n^{\frac{3}{2}}}{\lambda_n} = 0$$

Dans le cas particulier d'un noyau symétrique ce théorème a été démontrée déjà par M. Weyl.

¹⁾ Vivanti-Gutzmer: *Theorie der eindeutigen analytischen Funktionen* (1907), p. 266.

²⁾ Vivanti-Gutzmer: *ibid.* p. 252.

5. L. Wertenstein:

Uwagi o prawie fotochemicznym Einstein'a.

Z Pracowni Radyologicznej Tow. Nauk. Warsz.

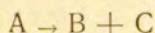
Komunikat zgłoszony dn. 23 listopada 1915.

Przedstawił p. S. Dickstein.

Od czasu, gdy Planck sformułował teorię elementów energii, t. zw. quantów, powstały liczne próby uwidocznienia roli quantów w różnych przemianach energii drgającej. Jedną z dziedzin, do których najwcześniej usiłowano zastosować nowe poglądy, była dziedzina zjawisk fotochemicznych. Wyrazem tych usiowań była sformułowana przez Stark'a ¹⁾ i Einstein'a ²⁾ t. zw. zasada równoważności fotochemicznej, zgodnie z zasadą ta quant $h\nu$ jest najmniejszą ilością energią promieniowania czynnego, o częstości ν , jaka w energię chemiczną przeobrazić się jest zdolna, podobnie jak rozkład φ wzgl. utworzenie *jednej cząsteczki* jest najmniejszym, jaki się daje pomyśleć, wynikiem reakcji fotochemicznej.

Między temi dwoma ostatecznymi elementami — energetycznym i materyalnym, zachodzić ma bardzo prosta zależność: reakcji fotochemicznej jednej cząsteczki towarzyszy zniknięcie jednego quantu. Zasada ta zdaje bezpośrednio sprawę z faktu, że sprawność fotochemiczna promieniowania wzrasta w miarę, jak przesuwamy się w widmie ku krótkim falom. Krótszym falom odpowiada bowiem większa wartość elementu energii, zrozumiałą zaś jest rzeczą, że im większy ów element, tem bardziej może być chemicznie skuteczny.

Zapomocą następującego, niezmiernie oryginalnego rozumowania, udało się Einstein'owi ²⁾ dowieść zasady równoważności fotochemicznej zupełnie niezależnie od hipotezy quantów. Wyobraźmy sobie gaz A, posiadający temperaturę T, rozkładający się pod wpływem promieniowania o częstości ν , na gazy B i C podług wzoru



Przypuśćmy naprzód, że zamknięta przestrzeń, w której gaz się znajduje, wypełniona jest promieniowaniem czarnem o tem-

¹⁾ Phys. Zeitschr. 9, 1908, 889.

²⁾ Annalen der Physik 37, 1912, 832.

peraturze T. Pod działaniem promieniowania gaz A rozkładać się będzie, aż do osiągnięcia stanu równowagi chemicznej, przy której koncentracje gazów A, B, C będą C_A, C_B, C_C . Stan równowagi w ten sposób otrzymany nie może być różny od stanu równowagi chemicznej gazów A, B, C w temperaturze T. Równanie równowagi otrzymamy więc zwykłą metodą termodynamiczną, pisząc, że rozkład jednej cząsteczki gramowej gazu A pociąga za sobą zmianę entropii systemu równą zeru. Jeżeli S_A, S_B, S_C oznaczają odpowiednią entropię cząsteczki gramowej gazów A, B i C w danej koncentracji i temperaturze, U zaś jest ilością ciepła, wyzwoloną przy powyższej reakcji, żądana zmiana entropii składa się: 1) ze zmiany entropii mieszaniny gazów ($-S_A + S_B + S_C$), 2) ze zmiany entropii otoczenia $\frac{U}{T}$.

Mamy więc

$$-S_A + S_B + S_C + \frac{U}{T} = 0$$

Wiadomo, że możemy napisać

$$S_A = -R \log_e C_A + f_A(T) \text{ i t. d.}$$

otrzymamy więc

$$R \log \frac{C_A}{C_B C_C} + \varphi(T) + \frac{U}{T} = 0 \quad \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{gdzie } \varphi(T) = -f_A(T) + f_B(T) + f_C(T)$$

Równanie (1) wyraża, jak wiadomo, prawo działania mas. Przypuśćmy teraz, że promieniowanie działające na gaz A jest w równowadze cieplnej z gazem, że mianowicie promieniowanie o częstości ν czynne fotochemicznie posiada gęstość ρ' , odpowiadającą temperaturze T' , różnej od temperatury T, w której gęstość promieniowania byłaby równa ρ . Założymy, że i wówczas możliwy jest stan równowagi między promieniowaniem i mieszaniną gazów, i że w stanie tym koncentracje gazów będą odpowiednio C'_A, C'_B, C'_C . Przy obliczeniu zmiany entropii będziemy teraz musieli uwzględnić okoliczność, że przy rozkładzie cząsteczki gramowej gazu A pobrana zostaje od promieniowania pewna ilość energii, którą oznaczymy przez ϵ , i o której przypuścimy, że jest niezależna od gęstości promieniowania. Pobranie owej ilości energii towarzyszy zmiana entropii promienio-

wania, równa $-\frac{\varepsilon}{T}$, zmiana entropii zbiornika, zawierającego gaz i promieniowanie, wynosić będzie $\frac{\varepsilon + U}{T}$, bo całkowita zmiana energii towarzysząca reakcyi będzie jak poprzednio U . Wreszcie zmiana entropii mieszaniny gazów wyrazi się jak poprzednio przez $-S_A + S_B + S_C$.

Pisząc, że całkowita zmiana entropii równa jest zeru, otrzymamy równanie równowagi fotochemicznej

$$R \log \frac{C'_A}{C'_B C'_C} + \varphi(T) - \frac{\varepsilon}{T'} + \frac{\varepsilon + U}{T} = \dots \quad (2)$$

Porównyując wzór (2) z wzorem (1) widzimy, że działanie światła polega na przesunięciu równowagi, przyczem prawo działania mas zostaje zachowane, zmienia się tylko stała równowagi. Jeżeli owe stałe w dwu uważanych przypadkach oznaczymy przez K i K' mieć będziemy

$$R \log K - R \log K' = \frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T}$$

Następny krok w rozumowaniu Einstein'a polega na założeniu, że przy małej gęstości promieniowania czynnego stała równowagi K jest odwrotnie proporcjonalna do tej gęstości ρ . Założenie to oznacza poprostu, że szybkość rozkładu gazu A jest proporcjonalna do ρ , zaś szybkość rekombinacji gazów B i C , od ρ niezależna, a więc opiera się na nader prostych i zgodnych z doświadczeniem wyobrażeniach o przebiegu reakcyi fotochemicznych.

$$\text{Mamy zatem } K = \frac{A}{\rho}, \quad K' = \frac{A}{\rho'}$$

gdzie A jest stałą, i otrzymujemy z (3)

$$R \log \frac{A}{\rho'} - R \log \frac{A}{\rho} = \frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T}$$

albo

$$R \log \rho - R \log \rho' = \frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T}$$

$$R \log \rho + \frac{\varepsilon}{T} = R \log \rho' + \frac{\varepsilon}{T'}$$

Wyraz $R \log \rho' + \frac{\varepsilon}{T}$ pozostaje więc przy zmianie temperatury promieniowania niezmienny. Położmy stałą jego wartość równą $R \log C$. Otrzymamy wtedy następującą zależność między gęstością promieniowania a temperaturą:

$$\log \rho = -\frac{\varepsilon}{RT} + \log C$$

$$\rho = C e^{-\frac{\varepsilon}{RT}} \dots \dots \dots (4)$$

Przypomnimy sobie teraz, że zależność między gęstością ρ promieniowania monochromatycznego a temperaturą wyraża się prawem Planck'a, które w uważanym przypadku (mała gęstość promieniowania) sprowadza się do formy podanej przez Wien'a

$$\rho = \frac{8\pi h\nu^3}{c^3} d\nu \cdot e^{-\frac{Nh\nu}{RT}} \dots \dots \dots (5)$$

gdzie N jest liczbą Avogadro.

Identyfikacja wzorów (4) i (5) jest możliwa, i prowadzi do równania $\varepsilon = Nh\nu$.

Czyli: energia ε pobrana przez mieszaninę gazów dla rozkładu cząsteczki grammowej t. j. N molekuł gazu A równa się $Nh\nu$. Wynik ten jest znanym już nam prawem równowagi fotochemicznej.

Wielkie znaczenie powyższego dowodzenia Einstein'a polega na powiązaniu, drogą nader prostych rozważań termodynamicznych, dwu napozór tak różnych dziedzin jak prawa równowagi fotochemicznej i prawa promieniowania czarnego. Dowodzi to, że zjawiska fotochemiczne należą, jak i zjawiska promieniowania czarnego, do owej kategorii zjawisk, które nie dają się ująć z punktu widzenia zasady ekwipartycyi energii. Sprawa ta nie jest poruszana w pracy Einstein'a, który usiłuje pozostawać w wywodach swych jak najbliższej gruntu doświadczalnego, a przez to wystrzega się stosowania metod statystycznych. Wydało mi się jednak rzeczą interesującą zanalizować sprawę równowagi fotochemicznej właśnie z punktu widzenia owych metod w nadziei, że uda mi się w ten sposób otrzymać obraz teoretyczny działań fotochemicznych. Szukając pomocy od statystyki, nie obejdziemy się bez hipotez. Hipotezy te jednak będą bardzo proste. Zakła-

dam, że w drobinie gazu A pod działaniem promieniowania o częstości ν , wzbudzone jest drganie o tej samej częstości ν . Dalej przypuszczam, że średnia energia tego drgania proporcjonalna jest do gęstości ρ promieniowania, wreszcie, że rozkładowi ulegać mogą te tylko drobiny, w których energia drgania przewyższa pewną krytyczną wartość równą E , i że ilość rozkładających się w jednostce czasu cząsteczek proporcjonalna jest do ilości cząsteczek posiadających energię drgania większą od E . W stosowaniu mechaniki statystycznej mamy teraz do wyboru dwie drogi: drogę statystyki klasycznej Boltzmann'a—Gibbs'a, albo drogę statystyki quantowej Planck'a. Łatwo przewidzieć, że pierwsza droga doprowadzić nas musi do wyników sprzecznych z doświadczeniem. Zbadamy jednak tę drogę, jeżeli bowiem rozumowania nasze są poprawne, zawieść nas musi ona tam, dokąd prowadzą wszystkie rozważania oparte na teorii ekwipartycyi energii, t. j. do prawa Rayleigh-Jeans'a. Pójdziemy potem drogą mechaniki Planck'owskiej, a wtedy otrzymać musimy zgodne z doświadczeniem prawo promieniowania czarnego Planck'a, a więc i zgodne z doświadczeniem prawo równowagi fotochemicznej. Zaznaczam tu, że Einstein dochodzi w ostatecznym wyniku do prawa Wien'a, będącego tylko szczególnym przypadkiem prawa Planck'a dla promieniowania o małej gęstości; jeżeli więc rozumowanie nasze wyda nam prawo Planck'a, uogólnimy tem samem prawo równowagi fotochemicznej do promieniowania o gęstości dowolnej.

W myśl powiedzianego wyżej, załóżmy naprzód, że mechanika statystyczna Boltzmann'a—Gibbs'a stosuje się do rozpatrywanych w naszym zagadnieniu układów drgających. Wówczas ilość drobin dN , w których energia drgania zawarta jest między u i $u + du$, dana będzie przez prawo rozdziału energii

Boltzmann'a-Gibbs'a $dN = N_0 \frac{1}{U_0} e^{-\frac{u}{U_0}} du$ de N_0 jest ilością cząsteczek gazu A, e_0 średnią wartością energii drgania. Ilość drobin, w których energia drgania przewyższa E dana jest przez całkę

$$N = N_0 \frac{1}{U_0} \int_E^{\infty} e^{-\frac{u}{U_0}} du = N_0 e^{-\frac{E}{U_0}}$$

Zaś ilość M drobin rozkładających się w jednostce czasu równać się będzie, w myśl poczynionych hipotez $M = a N = a N_0 e^{-\frac{E}{u_0}}$ gdzie a jest stałą. Ale u_0 jest, jak założyliśmy proporcjonalne do $\rho u_0 + m\rho$, zatem $M = a N_0 e^{-\frac{E}{m\rho}}$ gdzie m jest nową stałą. N_0 , ilość cząsteczek gazu A , proporcjonalną jest do koncentracji tego gazu, mamy więc

$$M = bc_A e^{-\frac{E}{m\rho}}$$

Przypomnijmy sobie teraz, że Einstein zakłada $M = b'c_A \rho$, t. j. szybkość reakcji fotochemicznej proporcjonalną do gęstości promieniowania. Widzimy więc, że mechanika statystyczna klasyczna przewiduje inną zależność między szybkością reakcji fotochemicznej a gęstością promieniowania, niż ta, która prowadzi do zgodnego z doświadczeniem prawa promieniowania czarnego.

W dalszej konsekwencji, przesunięcie równowagi fotochemicznej pod wpływem promieniowania inne będzie w naszym rozumowaniu, niż u Einstein'a. Stała K równowagi proporcjonalna będzie do $e^{\frac{E}{m\rho}}$, zamiast do $\frac{1}{\rho}$

$$\text{Zamiast } K' = \frac{A}{\rho}, \text{ mieć będziemy } K = A' e^{\frac{E}{m\rho}}$$

Równanie termodynamiczne równowagi

$$R \log K' - R \log K = \frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T} \text{ napisze się teraz}$$

$$R \log (A' e^{\frac{E}{m\rho'}}) - R \log (A e^{\frac{E}{m\rho}}) = \frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T}$$

$$\frac{RE}{m\rho'} - \frac{RE}{m\rho} = \frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T}$$

stąd

$$\frac{RE}{m\rho'} - \frac{\varepsilon}{T'} = \frac{RE}{m\rho} - \frac{\varepsilon}{T} = C$$

Łatwo dowieść, że stała C równać się musi zeru.

Znajdujemy wtedy

$$\frac{RE}{m\rho} = \frac{\varepsilon}{T} \quad \rho = \frac{RE}{m\varepsilon} \cdot T$$

Gęstość promieniowania monochromatycznego proporcjonalna jest do temperatury. Jest to właśnie prawo Rayleigh-Jeans'a, któregośmy od zasady ekwipartyty oczekiwali.

Do tego samego wyniku mogliśmy dojść o wiele łatwiej, zakładając poprostu, że średnia energia drgania w drobinie równa się kT , gdzie T jest temperaturą promieniowania. Założenie takie oznaczałoby, że w stanie równowagi stan drgania w cząsteczkach przybiera temperaturę promieniowania. Woląłem jednak iść naprzód drogą termodynamicznego rozumowania Einstein'a, aby uświadomić sobie jaśniej zależność między zasadą ekwipartyty a równowagą fotochemiczną. Obecnie porównać możemy obie metody. Poprzednio założyliśmy $u_0 = m\rho$, obecnie zakładamy $u_0 = kT$, mamy więc $m\rho = kT$ i $\rho = \frac{k}{m} T$, więc oczywiście znowu prawo Rayleigh-Jeans'a.

Porównyując wzór ten z wzorem otrzymanym poprzednio znajdujemy

$$\frac{k}{m} = \frac{RE}{m\varepsilon}; \varepsilon = \frac{RE}{k} = NE,$$

gdzie N jest ilością drobin w cząsteczce gramowej.

Znaczy to poprostu, że energia krytyczna E , równa jest energii $\frac{\varepsilon}{N}$ jaka pobrana zostaje od promieniowania na rozkład jednej cząsteczki.

Rozważmy teraz interesujący nas problemat z punktu widzenia teorii quantów. Niech znowu $u_0 = m\rho$ będzie średnią energią drgania. Dalej założymy znowu istnienie energii krytycznej E , energia ta jednak obecnie nie może mieć wartości dowolnej, lecz musi się równać $ph\nu$, gdzie p jest liczbą całkowitą. Teoria quantów uczy nas, że ilości cząsteczek, posiadających odpowiednio energię $0, h\nu, 2 h\nu$ itd. tworzą szereg geometryczny $\alpha + \alpha\nu + \alpha\nu^2 \dots$ i t. d. Całkowita ilość cząsteczek = $N_0 = \alpha + \alpha\nu + \alpha\nu^2 \dots = \frac{\alpha}{1-\nu}$; czyli $\alpha = N_0(1-\nu)$. Ilość cząsteczek

posiadających energię $ph\nu$ będzie $N_0 (1-\nu) \nu^p$, a ilość cząsteczek o energii większej niż $ph\nu$: $N_0 (1-\nu) [\nu^p + \nu^{p+1} + \dots] = N_0 \nu^p$.

Średnia energia wynosi jak łatwo wyliczyć $h\nu \cdot \frac{\nu}{1-\nu}$

Mamy więc

$$h\nu \frac{\nu}{1-\nu} = u_0 \frac{\nu}{1-\nu} = \frac{u_0}{h\nu}; \quad \nu = \frac{\frac{u_0}{h\nu}}{1 + \frac{u_0}{h\nu}} = \frac{u_0}{h\nu + u_0} = \frac{m\rho}{h\nu + m\rho}$$

Znając ν wyliczymy ilość cząsteczek zdolnych do reagowania t. j. posiadających energię $ph\nu$ lub większą)

$$N_0 \left(\frac{m\rho}{h\nu + m\rho} \right)^p \quad \text{i szybkość reakcji fotochemicznej}$$

$$N_0 \left(\frac{m\rho}{h\nu + m\rho} \right)^p \quad \text{lub} \quad b''c_A \left(\frac{m\rho}{h\nu + m\rho} \right)^p$$

Zestawmy teraz wyraz na szybkość reakcji fotochemicznej
1) w pracy Einstein'a, 1) szybkość wyliczoną na zasadzie statystyki Boltzman'a — Gibbs'a, 3) wyliczoną na zasadzie teorii quantów

$$\begin{array}{ll} \text{u Einstein'a. . . .} & bC_A \rho \\ \text{statystyka klasyczna} & b'C_A e^{-\frac{E}{m\rho}} \end{array}$$

$$\text{statystyka Planck'a} \quad b''C_A \left(\frac{m\rho}{h\nu + m\rho} \right)^p$$

Od szybkości reakcji przejdziemy jak poprzednio do stałej równowagi. Obecnie mieć będziemy $K = A \left(\frac{h\nu + m\rho}{m\rho} \right)^p$

$$\log K = \log A + p \log \frac{h\nu + m\rho}{m\rho}$$

Równanie równowagi fotochemicznej napisze się

$$\frac{\varepsilon}{T'} - \frac{\varepsilon}{T} = R \log K' - R \log K = Rp \log \frac{h\nu + m\rho'}{m\rho} - Rp \log \frac{h\nu + m\rho}{m\rho}$$

stąd znajdujemy

$$\frac{\varepsilon}{T'} - R\rho \log \frac{h\nu + m\rho'}{m\rho'} = \frac{\varepsilon}{T} - R\rho \log \frac{h\nu + m\rho}{m\rho} = \underline{\underline{C.}}$$

i dalej

$$\frac{h\nu + m\rho}{m\rho} = C e^{\frac{\varepsilon}{pRT}}; \quad m\rho = \frac{h\nu}{e \frac{\varepsilon}{pRT} - 1}, \quad \rho = \frac{1}{m} \cdot \frac{h\nu}{C_2 e^{\frac{\varepsilon}{pRT}} - 1}$$

I znowu jesteśmy u zamierzonego celu. Wzór bowiem (3) wyraża prawo Planck'a promieniowania czarnego.

$$\rho = \frac{8\pi h\nu^2}{c^3} \frac{h\nu}{e \frac{h\nu}{kT} - 1} d\nu$$

Dla zupełnej identyfikacji należy nadać odpowiednie wartości dowolnym stałym wzoru (3). Między innymi otrzymamy

$$\frac{\varepsilon}{pRT} = \frac{h\nu}{kT} = \frac{N h\nu}{RT}; \quad \text{skąd} \quad \frac{\varepsilon}{N} = p h\nu = E$$

A zatem

1) Rozkład jednej cząsteczki pociąga za sobą utratę przez promieniowanie całkowitej ilości quantów.

2) Energia utracona przez promieniowanie dla rozłożenia jednej cząsteczki, równa jest energii krytycznej, t. j. energii drgania, którą osiąść musi cząsteczka, aby stała się zdolną do reagowania. Ten ostatni wynik otrzymaliśmy już poprzednio, drogą mechaniki statystycznej klasycznej. Wynik nasz różni się tem od wyniku Einstein'a, że dopuszcza on możliwość użycia kilku quantów na rozkład jednej cząsteczki, podczas gdy u Einstein'a jeden tylko „quant“ wystarczyć musi na dokonanie reakcji. O słuszności tego czy innego wniosku rozstrzyga doświadczalne zbadanie szybkości reakcji fotochemicznej. Widzieliśmy, że szybkość ta jest proporcjonalna do $\left(\frac{m\rho}{h\nu + m\rho}\right)^p$ gdzie p jest ilością quantów w E.

Zauważmy, jak to zresztą łatwo przewidzieć a priori, że wzór ten staje się identyczny z wzorem Einstein'a, jeżeli przypuścimy, że p=1 (jak u Einstein'a), i że ρ jest małe wobec hν.

Wtedy bowiem szybkość staje się wprost proporcjonalna do ρ . Przypadek $\rho = 1$ odpowiada większości badanych doświadczalnie reakcyi fotochemicznych. Dla reakcyi takich szybkość jest proporcjonalna do $\frac{m_0}{h\nu + m\rho}$. Jest to uogólnienie podanych przez Einstein'a praw fotochemicznych do promieniowania o dowolnej gęstości. W większości przypadków uogólnienie to jest zbyt czyste, reakcyje fotochemiczne wywoływane są bowiem na ogół przez promienie o ν bardzo dużem, tak że można $m\rho$ odrzucić wobec $h\nu$ —i stosować prawo Wien'a, zamiast prawa Planck'a. Znaczenie jednak powyższego rozumowania polega na tem, że pozwala ono nawiązać prawo równoważności fotochemicznej do nader prostych wyobrażeń o mechanizmie reakcyi fotochemicznych.

RÉSUMÉ.

L. Wertenstein:

**Remarques sur la loi photochimique
d'Einstein.**

Communication annoncée le 23. XI. 1915.

Présentée par M. S. Dickstein.

Travail du laboratoire de Radiologie de la Société des Sciences de Varsovie.

Dans un ¹⁾ travail remarquable M. Einstein réussit à démontrer la proposition suivante, appelée: loi de l'équivalence photochimique.

Si un corps A obéissant aux lois des gaz se décompose sous l'influence du rayonnement de fréquence ν en corps B et C, obéissant également aux lois des gaz, la quantité d'énergie, empruntée au rayonnement pour décomposer une molécule du gaz A est égale à $h\nu$, où $h = 6,5 \cdot 10^{-27}$.

Cette même proposition peut être obtenue, comme une conséquence naturelle de la théorie des quanta d'énergie.

Mais le mode de raisonnement de M. Einstein est absolument indépendant de l'hypothèse des quantas; il n'utilise que les lois de la thermodynamique et quelques suppositions fort

¹⁾ Annalen der Physik, 37, 1912, 832.

plausibles sur les réactions photochimiques. Ce qui est peut-être encore plus remarquable, c'est que M. Einstein obtient dans son travail une formule, reliant la densité du rayonnement noir à la température; or cette formule qui se laisse identifier, par un choix convenable des constantes arbitraires, à la loi du rayonnement noir de Wien, se déduit des données purement thermodynamiques et expérimentales, sans considérations statistiques, d'aucune sorte.

La loi de Wien étant, comme on sait, en contradiction avec les conséquences de la théorie de l'équipartition, il m'a paru évident que cette même contradiction devait concerner l'un au moins des chaînons du raisonnement de M. Einstein. La thermodynamique étant en dehors de toute discussion j'ai pensé qu'il fallait chercher cette contradiction dans les lois de l'équilibre photochimique. Je me suis donc proposé de déduire la loi de l'équilibre photochimique, au moyen des méthodes statistiques en faisant usage de quelques hypothèses fort simples sur les conditions d'une réaction photochimique. Pour appliquer ces méthodes, on pouvait choisir entre la théorie de l'équipartition et la théorie des quanta. Il m'a semblé utile d'étudier successivement les conséquences de chacune de ces théories. La théorie de l'équipartition ne pouvait me conduire, bien entendu, qu'à une loi photochimique différente de celle admise par Einstein, mais il était intéressant de connaître cette loi, puisqu'elle devait aboutir, en dernière analyse, à la loi de Rayleigh-Jeans. L'application de la théorie des quanta montrait en perspective la loi de Planck, alors que le raisonnement d'Einstein conduisait à la loi de Wien. Il y avait donc là une possibilité de généraliser les résultats d'Einstein pour un rayonnement de densité quelconque.

Les hypothèses que je faisais sont les suivantes:

1. Chaque molécule du gaz dissociable A contient un système vibrant analogue à un résonateur linéaire de fréquence ν , égale à celle du rayonnement chimiquement actif. L'énergie moyenne de vibration que j'appellerai u_0 est proportionnelle à la densité ρ du rayonnement actif: $u = m\rho$.

2. Ces résonateurs ne sont pas susceptibles d'échanger de l'énergie avec les autres degrés de liberté des molécules. Cette hypothèse peut paraître artificielle, mais elle s'impose nécessairement si l'on admet la possibilité d'un équilibre entre le rayonnement et le mélange gazeux dans le cas où les températures du gaz et du rayonnement sont différentes.

3. La vitesse de décomposition du gaz A est proportionnelle au nombre de molécules dont l'énergie de vibration de fréquence ν est égale ou supérieure à une valeur critique E.

4. La quantité d'énergie empruntée au rayonnement pour la décomposition d'une molécule-gramme du gaz A est indépendante de la densité du rayonnement. Nous la posons égale à ε .

5. Les autres hypothèses sont identiques à celles faites par Einstein, en particulier en ce qui concerne la vitesse de recombinaison.

Les points ci-dessus étant admis, appliquons d'abord au cas considéré la théorie statistique classique. Si N est le nombre total de molécules, u_0 , l'énergie moyenne des résonateurs le nombre de celles-ci possédant l'énergie de vibration comprise en-

tre u et $u + du$ est égal à $\frac{Ne}{u_0} e^{-\frac{u}{u_0}} du$, et le nombre de résonateurs dont l'énergie dépasse E est égale à

$$\frac{N}{u_0} \int_E^{\infty} e^{-\frac{u}{u_0}} du = N e^{-\frac{E}{u_0}} = N e^{-\frac{E}{m\rho}}$$

Conformément aux hypothèses faites, le nombre de molécules décomposant par unité de temps est proportionnel au nombre ci-dessus. La vitesse de décomposition est donc donnée

par $kNe^{-\frac{E}{m\rho}}$, où k est une constante. Le nombre de recombinaisons étant indépendant de la densité du rayonnement, il en

résulte que le facteur $e^{-\frac{E}{m\rho}}$ devra se retrouver dans l'expression de la constante de l'équilibre photochimique. On aura pour cette constante

$$\text{Log } K = \text{Log } K_0 + \frac{E}{m\rho}, \text{ au lieu de } \text{Log } K = \text{Log } K_0 - \text{Log } \rho,$$

comme dans le raisonnement d'Einstein.

Nous sommes bien aboutis à une loi d'équilibre photochimique différente de celle d'Einstein. Vérifions que cette loi conduit à la loi du rayonnement de Rayleigh-Jeans. Pour cela, nous n'avons qu'à suivre fidèlement le raisonnement thermodynamique d'Einstein. Nous obtenons ainsi au lieu de la relation

$$\text{d'Einstein } \log \rho + \frac{E}{RT} = C, \text{ la relation } \frac{E}{m\rho} - \frac{\varepsilon}{RT} = C,$$

relation qui peut en effet être identifiée à la loi de Rayleigh-Jeans, à condition d'y poser la constante $C = 0$. On aura alors

$$m\rho = \frac{ETR}{\varepsilon} \dots (1) \quad \rho = \frac{1}{m} \frac{ET}{\varepsilon} \dots (2)$$

Remarquons maintenant que l'énergie moyenne d'un résonateur doit être égale, selon la statistique classique à kT , T étant la température du rayonnement. On a donc $m\rho = kT$ et par conséquent la relation... (1) s'écrira

$$kT = RT \frac{E}{\varepsilon}$$

On en tire

$$\frac{\varepsilon}{E} = \frac{R}{K} = N$$

où N est le nombre d'Avogadro.

Autrement dit: la valeur critique de l'énergie d'un résonateur est égale à la quantité d'énergie empruntée au rayonnement pour la décomposition d'une molécule.

Supposons maintenant que l'énergie d'un résonateur ne puisse être qu'un multiple d'un quantum. Il en sera de même de l'énergie critique et nous poserons $E = p h \nu$, p étant un nombre entier. Le nombre de résonateurs dont l'énergie est égale

respectivement à 0, $h\nu$, $2h\nu$ etc sera donné par les termes successifs de la progression géométrique a ar ar^2 etc. On aura pour déterminer a et r les relations:

$$N_0 = a + ar + ar^2 + \dots = \frac{a}{1-r}$$

$$N_0 m\rho = a + ar \cdot h\nu + ar^2 \cdot 2h\nu + \dots = \frac{h\nu \cdot a}{(1-r)^2} = N_0 h\nu \left(\frac{r}{1-r} \right),$$

d'où

$$\frac{r}{1-r} = \frac{m\rho}{k\nu}, \quad r = \frac{m\rho}{h\nu + m\rho}$$

Le nombre de résonateurs dont l'énergie est égale ou inférieure à $E = p h\nu$ est égal à

$$a \sum r^p = \frac{ar^p}{1-r} = N_0 r^p = N_0 \left(\frac{m\rho}{m\rho + h\nu} \right)^p$$

L'expression ci-dessus est proportionnelle à la vitesse de dissociation, exigée par la théorie des quanta. En raisonnant comme précédemment nous trouvons pour la constante de l'équilibre photochimique

$$\log K = \log K_0 - p \log \frac{m\rho}{m\rho + h\nu}$$

ce qui nous conduit, à travers les raisonnements thermodynamiques d'Einstein, à la relation suivante entre la densité du rayonnement et la température

$$\frac{\varepsilon}{RT} + p \log \frac{m\rho}{m\rho + h\nu} = C$$

$$\frac{m\rho}{m\rho + h\nu} = A e^{-\frac{\varepsilon}{pRT}}$$

$$\frac{m\rho + h\nu}{m\rho} = \frac{1}{A} e^{\frac{\varepsilon}{pRT}}$$

$$m\rho = \frac{1}{A} e^{\frac{\varepsilon}{pRT} - 1} ; \quad \rho = \frac{1}{m} \frac{1}{A} e^{\frac{\varepsilon}{pRT} - 1}$$

Cette relation peut être identifiée à la loi de Planck à condition d'y poser $\epsilon = pN h\nu$. Comme $E = p h\nu$, ceci signifie que l'énergie critique est encore égale comme dans le cas précédent à l'énergie perdue par le rayonnement lors de la décomposition d'une molécule.

Notre résultat généralise la loi de l'équivalence photochimique d'Einstein. La quantité d'énergie mise en jeu dans la réaction d'une molécule peut être égale à un multiple d'un quantum, au lieu d'un quantum comme dans le raisonnement primitif d'Einstein. Mais ce cas sera en réalité rare comme le montre l'expression de la vitesse photochimique. Dans la plupart des cas expérimentaux $p = 1$, et la vitesse de réaction est alors proportionnelle à $\frac{m\rho}{m\rho + h\nu}$, où plutôt simplement à ρ , car $m\rho$ sera négligeable par rapport à $h\nu$, pourvu que la densité du rayonnement soit faible, ce qui arrivera le plus souvent. Nous nous voyons retournés à l'hypothèse primitive d'Einstein, proportionnalité de la vitesse de réaction à la densité du rayonnement. Le chemin a été un peu long, mais je pense qu'il a l'avantage de jeter quelque clarté sur le mécanisme des réactions photochimiques.

6. Stanisław Sumiński:

Materyały do fauny ważek (Odonata) ziem polskich.

Z Pracowni Zoologicznej Tow. Nauk. Warsz.

Komunikat zgłoszony dnia 6 Września 1915 r.

Przedstawił Jan Tur.

Przystępując do opracowywania naszych ważek pod względem systematycznym i biologicznym, uważam za konieczne rozpatrzenie istniejącej literatury. Ziemie polskie pod względem odonatologicznym opracowane są dosyć skąpo, a przedewszystkiem bardzo niejednolicie. Tu odrazu muszę zaznaczyć, że przy oma-

wianiu literatury trzeba się stosować do granic politycznych — i tak ziemie polskie dzielić — na tych bowiem zasadach powstała odnośna literatura naukowa — z konieczności trzymając się tych granic.

Z ziem polskich zaboru austriackiego najlepiej, najgruntowniej opracowana jest Galicya Wschodnia, która, jedyna, oczekiwała się pięknej monografii ważek, będącej rezultatem wieloletnich badań J. Dziędziewicza [15]. Autor ten badał również i Galicyę Zachodnią, aczkolwiek w mniejszym stopniu i wyniki swoich badań ogłaszał w sprawozdaniach Komisji Fizyograficznej Ak. Um. w Krakowie [13.14. W jednej z prac tam ogłoszonych [11] zebrał on również dane o Neuropterach polskich, ogłaszane przez dawniejszych badaczy. Galicyę badali oprócz Dziędziewicza: Nowicki, Łomnicki i A. Wierzejski. Jednakże Galicya zachodnia jest mniej dokładnie zbadała. Wyjątek stanowią Tatry i okolice Krakowa.

Z ziem polskich zaboru pruskiego dokładniej opracowany jest Śląsk przez Scholz'a [18] i Prusy Wschodnie w połowie ubiegłego stulecia przez Hagen'a [2] i Stein'a, w nowszych czasach przez O. le Roi [22]. Niewątpliwie tych ziem dotyczą i inne prace, ale są one zazwyczaj publikowane w zupełnie niedostępnych czasopismach prowincjonalnych miejscowych, co uniemożliwia korzystanie z nich.

Ziemie polskie zaboru rosyjskiego posiadają bardzo nieliczną literaturę. Składają się na nią dwie prace Belkego [6.7], opisujące okolice Kamieńca Podolskiego i Radomyśla, dwa przyczynki Barteniewa [17], odnoszące się do Polesia i jeziora Trockiego (przyczynkami nazywam je dlatego, że zawierają spisy po kilkanaście gatunków, oznaczonych przez B. a zebranych przez wycieczkę przyrodniczą studentów Uniw. moskiewskiego) i prace Bruttan'a Kawall'a i Mierzejewskiego [25], odnoszące się do Liflandyi, Estlandyi i Kurlandyi. Co dotyczy Królestwa, to tu sprawa przedstawia się tak:

Wiadomości o ważkach z Królestwa zawdzięczamy E. de Selys Longchamps'owi i Hagen'owi [2], E. Majewskiemu [10], Ingenickiemu [12] i Dziędziewiczowi. To są obszerniejsze prace i aż do ostatnich lat jedyne. Niestety, prace te nie wyczerpują zagadnienia z następujących powodów: Dziędziewicz sam Królestwa Polskiego nie badał, zatem

w uwzględniającej i Królestwo swojej monografii ważek [15], dane dotyczące tegoż opiera na badaniach De Selys'a i Hagen'a. Ci zaś badacze pisząc „Pologne“, dają w podtytule „prusse orientale“, a w nawiasie „y compris les terres entre Oder et Duna“, i dane swoje opierają przedewszystkiem na pracach Fischera i Rathke'go, badaczy Kurlandyi i Liflandyi z końca XVIII i początku XIX stulecia. Jak widać zatem, dane takie właściwie Królestwa nie dotyczą. Co do Majewskiego, to celem jego pracy było ustalenie przedewszystkiem mianownictwa polskiego w tym dziale owadów, i dokładne dane co do znajdowania poszczególnych gatunków znajdujemy tylko w kilku przypadkach. Pozostaje do rozpatrzenia praca Ingenickiego. Autor ten, stwierdziwszy brak badań odonatologicznych w „kraju nadwiślańskim“, ogłosił spis 41 gatunków i 2 odmian, zebranych w 20 miejscowościach Królestwa. Praca ta nie jest wyczerpującą jednak dla następujących przyczyn. Jakkolwiek miejscowości badane tworzą liczbę pokaźną, jednak nie uwzględniają one najważniejszych i najbardziej zróżnicowanych terenów, jak Lubelskie, Góry Świętokrzyskie, Kujawy, Suwalszczyzna, a są przeważnie zgrupowane w okolicach Warszawy. Dalej, w większości przypadków, autor otrzymywał materiał zbierany nie przez specjalistów, wskutek czego, na powyższe 42 gat. i 2 odm. składają się spisy obejmujące po kilka, kilkanaście gatunków, trudno zatem wnioskować o istotnem bogactwie fauny badanych miejscowości. Wreszcie dane biologiczne, tyczące pojawu, niewiadomo na jakiej podstawie były ustalane i niewiadomo również, podług jakiego stylu były notowane.

W ostatnich latach zostało opublikowane kilka przyczynków do poznania fauny ważek. Są to: wzmianka Barteniewa [21] o znajdowaniu w Król. Polskiem *Agrion armatum* Charp. i *Pyrrosoma nymphula* Sulz. Spis 17 gatunków ważek i larw z jeziora chodeckiego na Kujawach, podany przez p. Słonimskiego i T. Wolskiego [27], i wreszcie spis 21 gat. i 2 odmian ważek z okolic Ciechanowa, podany przez autora i Wł. Mierzejewskiego [26]. (Spis 4 gatunków ważek znajdujemy w podróży naturalistów do Ojcowa w r. 1854 [5]. Są to: *Agrion lacteum* Charp, *Calopteryx virgo*, *Libellula vulgata*, *Aeschna hamata* Charp?)

Takby się zatem przedstawiał dorobek naukowy na tem

polu. Jak widać, w celu poznania fauny ważek pozostaje bardzo wiele do zrobienia, zwłaszcza w zakresie badań szczegółowych nad fauną odrębnych jednostek geograficznych, których kilka można wyróżnić nawet w granicach Królestwa. Dawniejsze bowiem prace takich szczegółowych już podziałów nie uwzględniały; pozatem, zupełnie otwarte pozostaje pole badań biologicznych.

Jednym z przyczynków do poznania naszej fauny ważek może być praca niniejsza, która jest opracowaniem materiału zebranego w ciągu maja, czerwca i lipca w Starej Wsi.

Teren, na którym ważki były zbierane, przedstawia się tak:

Stara Wieś (własność M. hr. Zamoyckiego), jest to miejscowość położona przy szosie t. zw. lubelskiej o 40 km. od Warszawy w kierunku południowo-wschodnim. Wyniesienie jej nad poziom Bałtyku = 137 m. (pomiar oparty na dacie rząd. rosyjskiej stacji dr. Nadwiślańskiej, Celestynów = 64.35 saż.). Stara Wieś — jest to płaszczyna bardzo lekko falista o spadku północnym. St. Wieś leży nad Świdrem, którego obecność nada je specjalny charakter całemu terenowi. Świder opuściwszy wyżynę łukowską, płynie tu w kierunku północnym, aby dalej po 10 km. zmienić bieg na zachodni i skierować się ku Wiśle. W obrębie St. Wsi wpada z lewej strony do Świdra mała rzeczka (bez nazwy), płynąca z pod Osiecka. Zupełną niemal płaskość terenu urozmaica kilka połodowcowych zwirowych wzgórków porośniętych sośniną i nadzwyczajnej wielkości (5 m. i więcej) jałowcami. Ale pod względem odonatologicznym najważniejsze są brzegi Świdra i owej rzeczki bezimiennej, bowiem po obu ich stronach, na długości mniej więcej 4 km. i szerokości około 1 km. ciągną się łąki, irygowane wodami Świdra. Tu, jak również nad samym Świdrem, którego brzegi są obrosłe miejscami olszą, wikliną i jeżynami, znajdowałem najwięcej ważek. Ponieważ poza wymienionymi łąkami, parkiem starowiejskim i wspomnianymi kilku pagórkami, wszędzie dalej leżały pola uprawne, jak wiadomo, w ważki zazwyczaj ubogie, przeto w tych tylko granicach, takiej oazy, ważki były zbierane przeważnie.

Obszar ten jest niewielki, obliczyć go można w przybliżeniu na 4—5 km.², ale wykazuje duże bogactwo fauny, jak to dalej ze spisu wynika.

Miejscowości wspomniane w szczegółowej części pracy należy rozumieć tak:

Park, duży 40 morgowy t. zw. angielski park otaczający pałac i szkołę w St. Wsi.

Staw, dwumorgowy przed pałacem o brzegach zarosłych trzciną (*Calamites vulgaris*).

Rzeczka w parku, wspomniany już lewy dopływ Świdra, który w obrębie parku jest jednym z najbogatszych miejsc pod względem ważek, na obszarze badanym (jedyne prawie stanowisko *Pyrrhosoma nymphula* Sulz.)

Gadka, wieś nad Świdrem, na lewym brzegu, o 1 km. od parku w górę rzeki. Kruszwica, to samo, o 1 $\frac{1}{2}$ km.

Bażantarnia, sadzony sosnowo-świerkowy lasek na lewym brzegu Świdra o 2 km. w dół rzeki od parku.

Łąki — wspomniane wyżej.

Łąki chłopskie po prawym brzegu Świdra.

Lasek miejski, piaskowy wzgórek obrosły sośniną i jałowcem, na prawym brzegu Świdra, naprzeciwko parku, koło miasteczka Kołbieli.

Żwirowa góra, porośła sośniną, wspomnianymi już jałowcami i paprocią, prawy brzeg Świdra, o $\frac{1}{2}$ km. od rzeki, o 2 km. od parku.

Cmentarz, między laskiem miejskim a Kołbielą.

Zalawy Świdrowe tworzą się wśród łąk chłopskich, wskutek sztucznego zatrzymywania wód Świdra dla celów irygacji, utwory niestałe, w czasie suszy tworzące szereg maleńkich stawków.

Las celestynowski, jedyny punkt dalszych wycieczek i jedyne stanowisko *Leucorrhinia rub. i pect.* las Zamoyskiego, badany na przestrzeni między St. Wsią i plantem kolei Nadw.

Przywiązując wielką wagę do wszelkich danych biologicznych, przytaczam w części szczegółowej te, jakie udało mi się zaobserwować, między innymi porę pojawu każdego gatunku.

Ponieważ niektóre dane dość znacznie się różnią od danych Dziędzielewicza i Ingenickiego (np. *Agrion lunulatum* Charp. podany przez Ing. z drugiej połowy czerwca, u mnie ostatnio 2.VI; *Gomphus vulgatissimus* L. podawany przez tegoż autora dopiero od ostatnich dni maja, u mnie już z 13.V. i t. d.) przeto załączam ogólny, przybliżony przebieg temperatury w okresie badanym, uważając warunki klimatyczne za jeden z ważniejszych może czynników, wpływających na życie ważek. Marzec, między 1—10 spadły śniegi, temperatura wynosiła średnio:

T. śr. o 7 r. — 9° C; 1 pp. + 3° C; 9 w. — 7° C;
10—20 „ „ ± 0° C; „ + 2—4° C; „ ± 0° C;
20—31 „ „ ± 0° C; „ + — + 10° C; „ + 2° C;

Kwiecień był miesiącem normalnym pod względem temperatury, posiadał bardzo mało opadów.

Maj 1—10 T. śr 7 r. + 6° C; 1 pp. + 18° C; 9 w. + 8° C.
10—20 „ „ + 8° C; „ + 18° C; „ + 11° C;
20—31 „ „ + 13° C; „ + 20° C; „ + 14° C;

temperatura średnia ostatniej dekady jest niska z powodu zimnych dni 29, 30, 31 maja.

Czerwiec 1—10 T. śr 7 r. + 10° C; 1 pp. + 20° C; 9 w. + 15° C;
10—20 „ „ + 9° C; „ + 17° C; „ + 12° C;
20—30 „ „ + 15—+18° C; „ 22°—+28° C; „ + 20° C;

między 10—20 deszcze, dni o całkowitem zachmurzeniu, wiatry ZPnZ.

Lipiec 1—10 T. śr. 7 r. + 20° C 1 pp. + 28° C 9 w. + 20° C
10—20 ciągle deszcze, wiatr PnZ, temperatura opadła w południe od + 12° C — + 15° C.

Obserwacje moje i zbiory mogłem robić tylko do 23 lipca. Sytuacja wojenna zmusiła mnie wówczas do opuszczenia St. Wsi.

W części szczegółowej nie rozpatruję poszczególnych gatunków ze stanowiska ich „rzadkości“ czy „pospolitości“, to jest wogóle wzajemnego stosunku liczbowego, bowiem wydaje mi się być rzeczą pewną, że w miarę rozwoju naszych wiadomości o ważkach, dzisiejsze oceny musiałyby ulec gruntownym zmianom. Jedyne gatunki dla fauny Królestwa nowe oznaczyłem gwiazdką, traktując Królestwo jako nie geograficzną wprawdzie jednostkę, ale jako pewną terytoryalną i pod względem badań faunistycznych zamkniętą dotychczas całość.

W pracy niniejszej jest używane pojęcie „varietas“ w starym znaczeniu, bowiem mimo słuszności żądań nowszych niektórych badaczy jak np. Semenowa Tianszańskiego¹⁾, dokładniejsze pod względem wartości taksonomicznej i geograficznej pojęcia subspecies, morphy i aberracyi, dla braku odpowiednich danych nie dały się tu jeszcze zastosować.

¹⁾ A. Semenow Tianszańskij. Taksonomiczeskija granicy wida i jego podrazdielenij. Mém. de l'Acad. Imp. des Sciences de St. Pétersbourg. Vol. XXV. № 1. 1910.

Ważki, zebrane w St. Wsi, zostały opracowane w pracowni Zoologicznej Tow. Nauk. Warsz. Kierownikowi tejże, Drowi J. Turowi, serdecznie dziękuję za uprzejmą troskliwość, jaką pracę moją otaczał, oraz za łaskawą pomoc, okazaną mi przez wykonanie załączonych zdjęć mikrofotograficznych.

* * *

Szczegółowy spis przedstawia się tak:
(Układ i mianownictwo według Ris'a).

Zygoptera.

Calopterygidae.

Calopteryx (Leach 1815. Burmeister 1839).

1. *C. virgo* (L. 1758).

Formy typowej w Starej Wsi nie znalazłem. Natomiast do tego gatunku należą 1 ♂ 2 ♀♀, które się różnią ubarwieniem skrzydeł. Mianowicie skrzydła u obu płci są jednakowo od nasady aż do końca wierzchołków jednolicie ciemno zadymione.

Wymiary ♂ i ♀♀, jak również kształt i cechy charakterystyczne głowy, przedtułowia, tułowia, skrzydeł, forma przysadek i ubarwienie ciała mieszczą się najzupełniej w granicach wahań *C. v. virgo*. W dostępnej mi literaturze opisu takiej formy nie znalazłem.

Jednakże dla braku dostatecznego materiału nie opisuję moich egzemplarzy jako nowej odmiany, wszakże brak — względnie rzadkość na badanym terenie formy typowej — nie pozwala odmiennych postaci uważać za aberrację czy anomalię. Narazie zatem poprzestaję na zasegregowaniu faktu, podając fotografię skrzydeł ♂ jako postaci najbardziej charakterystycznej.

Egzemplarze zbioru:

1 ♂ — Bażantarnia 31.V,

1 ♀ — Lasek miejski 21.VI,

1 ♀ — Żwirowa góra 22.VI.

2. *C. splendens* (Harris 1782).

Pierwsze egzemplarze są z dnia 17 maja, maximum pojawu między 20 maja a 10 czerwca, pojedyncze osobniki zauważone w lipcu. Sporadyczna kopulacja notowana w końcu maja.

Gatunek ten występuje w dużej ilości na całym badanym obszarze, jednakże najliczniej nad brzegami Świdra, zwłaszcza w obrębie Bażantarni.

W zbiorze 20 ♂♂ i 14 ♀♀.

3. * *C. ancilla* (De Selys).

Między egzemplarzami *C. splendens* znalazłem 5 ♀♀, które należą do powyższego gatunku.

Gatunek ten charakteryzuje się przedewszystkiem i odróżnia od *C. splendens* jednakowem zabarwieniem skrzydeł u obu płci — i wstęgą dochodzącą aż do końca skrzydeł.

Ta druga cecha, istniejąca u moich egzemplarzy, odróżnia według Barteniewa [23] *C. ancilla* od *C. splendens* rasse de Prusse, opisywaną przez De Selys, względnie od możliwych postaci przejściowych.

Gatunek powyższy podany dotąd z ziem polskich przez Barteniewa (17) z 2 stanowisk z pow. Bobrujskiego i Mozyrskiego gub. Mińskiej, pozatem znikąd podawany nie był.

Oprócz powyższych stanowisk, znany z ujścia Dunaju, Czarnogórza, Dalmacyi i Korfu.

Stara Wieś jest zatem na szerokości 52^o najbardziej na zachód wysuniętem stanowiskiem.

Jako materyał dowodowy podaję fotografię skrzydeł ♀. Egzemplarze moje pochodzą z takich miejsc:

1 ♀ — nad Świdrem 17.V.

1 ♀ „ „ za Gadką 7.VI.

1 ♀ „ „ 8.VI.

1 ♀ „ „ koło Kruszwicy 5.VII.

Agrioninae.

Platycnemis (Charp. 1840).

4. *P. pennipes* (Pall. 1841).

Pierwszy egzemplarz ♀ *var. lactea* de Selys złowiony 17.V, między 20 — 31.V 3 ♂♂ i 5 ♀♀, między 1 — 10 lipca, 8 ♂♂ i 2 ♀♀; maximum pojawu przypada na pierwszą dekadę czerwcową: między 1—10 czerwca złowione 27 ♂♂ i 13 ♀♀; od 10—20 czerwca znaczny ilościowy spadek wywołany warunkami klimatycznymi (por. tabelkę), między 20—30 czerwca znów zwiększenie się osobników latających.

Wśród osobników niebiesko ubarwionych zauważono znaczne wahanie w rysunku czarnym na górnej powierzchni odwłoka (których jednak nie można traktować — w pewnych przypadkach skrajnych — jako *var. bilineata* De Selys). Wahania te są w granicach od dwu przecinków na tylnej krawędzi pierścieni aż do linii czarnej, biegnącej po wierzchu pierścienia widełkowato rozszczeplającej się w części tylnej.

4a. *Var. lactea* de Selys stanowi wśród złowionych ♀♀ 42%, wśród ♂♂ ca 3%. Odmiana ta stanowi w maju prawie 100% ♀♀, w czerwcu ca 50%, w lipcu znika zupełnie; ilość ♀♀ *var. lact.* w drugiej dekadzie czerwcowej przeważnie zimnej i dżdżystej spadła do 25%.

Kopulacja obserwowana poraz pierwszy 5.VI; kopulacja masowa i składanie jajek 7.VI; potem już coraz mniej liczna notowana 17.VI, 22.VI, 25.VI, 26.VI, oraz 2.VI i 5.VII.

Gatunek ten łowiony był wszędzie nad wodą i na łąkach, między drzewami, zarówno w parku jak w laskach nie spotykany, z nad stawu w parku również tylko 1 ♀ z 4.VI.

W zbiorze przeszło 100 egzemplarzy, w tem około 60 ♂♂.

Ischnura (Charp. 1840).

5. *I. elegans* (Vanderl 1823).

1 ♂ 1 ♀ — park, staw 4.VI.

1 ♂ — łąki chłopskie nad zalewem Świdra 5.VII.

6. * *I. pumilio* (Charp. 1825).

1 ♂ — park, rzeczka 30.V.

6a. 1 ♀ *var. aurantiaca* De Selys, tamże 5.VI.

Enallagma (De Selys 1876).

7. *E. cyathigerum* (Charp. 1840).

Z czerwca (właściwej pory pojawu) notowane dwa egzemplarze. Dnia 5.VII gatunek ten pojawił się odrazu w znacznie większej ilości. W miejscu gdzie był łowiony wystąpił liczniej, niż inne pokrewne gatunki.

Dosyć częste są przypadki u ♂♂ ubarwienia odwłoka, począwszy od 3 pierścienia do 9 włącznie zupełnie podobne jak u *Agrion hastulatum* Charp. Maximum pojawu przypadło między 1–10 lipca. Kopulacja nie notowana. W zbiorach:

2 ♂♂ nad Świdrem, w Bażantarni 2.VI.

1 ♂ „ „ naprzeciwko parku 1.VII.

18 ♂♂ nad zalewem Świdra, na łąkach chłopskich 5.VII.

Agrion (Fab. 1775. De Selys 1876).

8. *A. pulchellum* (Vand. 1823).

Pierwszy egzemplarz złowiony 14.V (♀ staw, park); potem ilość pojawiających się osobników odrazu znacznie wzrosła, między 20 maja a 10 czerwca będąc w przybliżeniu równą, między 10 — 20 czerwca ilość ta zmalała, między 20 — 30 czerwca gatunek ten osiągnął swoje maximum; w 1 dekadzie lipcowej złowione już tylko 4 ♂♂.

Kopulacja poraz pierwszy 27 maja, potem w ostatnich dniach maja nieliczna. Masowa kopulacja obserwowana 3 czerwca; między 10.VI — 20.VI nie notowana zupełnie, później notowana liczniejsza 25.VI i 26.VI i nieliczna 5.VII.

Gatunek ten był znajdowany wszędzie nad Świdrem, na łąkach, w parku nad stawem i rzeczką. W zbiorach przeszło 70 ♂♂ i 14 ♀♀.

Wśród złowionych ♀♀ są 4, posiadające ubarwienie odwłoka odmienne, począwszy od trzeciego pierścienia. Ubarwienie to jest podobne do tegoż u ♂♂. De Selys twierdzi, że: „cette variété... est aussi commune que la femelle ordinaire“ (1, p. 163). Czy to zjawisko jest i u nas równie powszechne, trudno wiedzieć (w tym przypadku tak ubarwione ♀♀ stanowią 28%), bowiem tak skrupulatny i sumienny badacz, jak Dzieńdzielewicz, nic o niem nie wspomina. Ponieważ i u innych badaczy ważek polskich opisu występowania tej formy ♀♀ nie znalazłem, przeto podaję rysunek pierwszych pierścieni odwłoka: ♀♀ te zostały złowione:

1 ♀ — park 26.V.

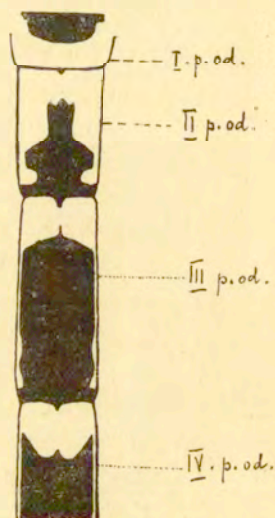
1 ♀ — nad rzeczką w parku 30.V.

1 ♀ — łąki nad Świdrem 7.VI.

1 ♀ — park 27.VI.

9. *A. hastulatum* (Charp. 1825).

Pojawił się w drugiej dekadzie majowej (2 egz. z 14.V,



1, 2, 3 i początek 4 pierścienia odwłoka, widziane od strony grzbietowej u *Agrion pulchellum* Vand. ♀ (Pow. 6 razy).

park, staw), maximum osiągnął między 1 — 10 czerwca, ale po zmianach klimatycznych w czerwcu znikł prawie zupełnie.

Między 20 — 30 czerwca złowione tylko 2 egzemplarze; między 1—10 lipca 1 [1 ♂ 5.VII] kopulacja była obserwowana w ostatnich dniach maja.

W zbiorze 31 ♂♂ i 2 ♀♀.

W ubarwieniu odwłoka u ♂♂, po stronie grzbietowej zauważono dość wybitne wahania, dotyczące wielkości i kształtu czarnych plamek.

10. *A. lunulatum* (Charp. 1840).

1 ♂ nad Świdrem, między Gadką i Kruszwicą 17.V.

1 ♂ nad rzeczką, na łąkach przed Bażantarnią 2.VI.

11. *A. puella* (L. 1758).

Pierwsze egzemplarze z 14 maja (park, staw), potem odrazu zauważane pojawianie się liczniejsze, maximum pojawu przypadło między 20 — 30 maja, w czerwcu ilość latających osobników zmniejszyła się znacznie, między 10—20 znikły prawie zupełnie (gatunek ten w porównaniu z innymi pokrewnymi robi wrażenie najbardziej wrażliwego na zmiany klimatyczne), po 20 czerwca latały nieliczne egzemplarze.

Kopulacja, początkowo nieznaczna, była poraz pierwszy obserwowana po 20 maja. Masowa kopulacja przypada na 5.VI, potem coraz mniej liczna, notowana: 6.VI, 9.VI, 25.VI, 5.VII; mniej liczna była ona nie tylko bezwzględnie, ale i względnie do ilości latających osobników. Osobniki młode były spotykane aż do końca czerwca, aczkolwiek dość rzadko.

W zbiorze 80 ♂♂ i 60 ♀♀.

Gatunek ten był znajdowany na wszystkich badanych terenach, wśród lasu — w pojedynczych egzemplarzach.

Gatunek powyższy był wylęgany z larw w akwariach, trzymany na dworze. Zostało zauważone, że od wyjścia z larwy do zupełnej dojrzałości barwnej upłynęło 24 — 48 godzin.

Erythromma (Charp. 1840).

12. *E. najas* (Hansem. 1823).

Pierwszy pojaw notowany 14.V (1 ♂ juv., park, staw), maximum pojawu między 20 — 31 maja, po 10 czerwca ilość osobników latających znacznie zmalała.

Kopulacja i składanie jajek notowane 27.V, 7.VI (1 para) i 5.VII. Gatunek powyższy był ograniczony tylko do niektórych

miejsc, mianowicie najliczniej występował nad stawem w parku, gdzie pojawił się najwcześniej (stąd pochodzą wszystkie egzemplarze majowe), pozatem był znajdowany nad stawem wśród łąk chłopskich i nad Świdrem, w jednym miejscu, za Gadką.

W zbiorach 16 ♂♂ i 2 ♀♀.

Pyrrhosoma (Charp. 1840).

13. *P. nymphula* (Sulz. 1776).

Pierwszy egzemplarz złowiony 22 maja (1 ♀, park, rzeczka); ostatnie obserwowane 9.VI: maximum pojawu między 25—31 maja; parka in copula złowiona 7.VI, pozatem kopolacja nie obserwowana. W zbiorze 6 ♂♂ i 5 ♀♀ i z tej ilości 5 ♂♂ i 3 ♀♀ złowione nad rzeczką w parku, 1 ♀ poza rzeczką, ale w obrębie parku, o 100 metrów najwyżej od rzeczki, a tylko parka kopulująca, znaleziona po za parkiem nad stawkiem, na łąkach chłopskich. Nie łowione 2 ♂♂ i 1 ♀ obserwowane 9.VI, oraz szereg egzemplarzy nie łowionych, obserwowanych w ostatnich dnia maja, odnoszą się również do rzeczki, w obrębie parku.

Fakt takiego wybitnego zlokalizowania tego gatunku uważam za bardzo ważny, zwłaszcza w związku z faktem bardzo krótkiego okresu latania (w tym roku w Starej Wsi *Pyrrhosoma* była obserwowana przez dni 19), jaki zdaje się być właściwy temu gatunkowi. Sądzę, że te dwa fakty objaśniają dlaczego gatunek powyższy uważany był za bardzo rzadki na ziemiach polskich, i z Galicyi i ziem polskich zaboru rosyjskiego notowany zaledwie z 6 stanowisk, wszędzie w pojedynczych egzemplarzach niemal.

Dopiero Barteniew [21] zakwestyonował tę rzadkość, na podstawie 2 egz. ♂ i ♀, otrzymanych z okolic Warszawy (♂ z zbiorów T. Wolskiego).

Dotychczasowe moje poszukiwania wykryły 3 stanowiska w Królestwie Polskim, również bardzo zlokalizowane, ale obfitujące w ilość latających osobników.

Stara Wieś — już omówiona.

Suchedniów — o 20 km. na pn. od Kielc — mały laszek sosnowy nad bezimiennym prawym dopływem Kamiennej, kilkanaście egzemplarzy w zbiorach (obserwowana copula) złowionych w Zielone Świątki 1914 r.

Bolesław, pod Olkuszem — staw w dużym, angielskim parku, kilka egzemplarzy w zbiorach, złowionych 28.VI 1914.

We wszystkich wymienionych miejscowościach poszukiwania robione w kilkukilometrowym promieniu innych stanowisk tego gatunku nie wykryły.

[*Pyrrosoma nymph.* jest gatunkiem, rozsiedlonym przeważnie w Europie środkowej i zachodniej, i tam żyje na większych przestrzeniach (De Selys)].

II Anisoptera.

Aeschnidae — Gomphinae.

Gomphus (Leach 1815).

14. *G. vulgatissimus* (L. 1758).

Pierwszy egzemplarz obserwowany koło 10 maja, złowione pierwsze 2 ♂♂ 13.V. (park, Żwirowa góra), maximum pojawu między 26 maja a 2 czerwca, ostatni egzemplarz złowiony 28-go czerwca (1 ♀ nad Świdrem). Kopulacja nie obserwowana.

Gatunek ten zawsze występował w pojedynczych osobnikach. Spotykany na wszystkich terenach.

W zbiorze 5 ♂♂ i 8 ♀♀; wśród nich zasługuje na uwagę 1 ♀ (park, rzeczka 26.V) z powodu wybitnej przewagi żółtego barwika na tułowiu odwłoku i odnóżach, przy zachowaniu rysunku właściwego gatunkowi.

Aeschninae.

Brachytron (Evans 1845).

15. *B. hafniense* (Müll. 1764).

Pojawił się koło 10 — 11 maja. W zbiorach egzemplarze:

1 ♂ — park 13.V.

1 ♂ — park, wytrącony siatką z copuli, w powietrzu, 25.V.

1 ♂ — park, nad kanałem, 26.V.

1 ♂ — " " " 5.V.

Po 5.VI nie obserwowany, kopulacja prócz powyższego przypadku nie notowana, po za obrębem parku nigdzie tego gatunku nie widziałem.

Aeschna (Fabr. 1775).

16. *Ae. grandis* (L. 1758).

1 egzemplarz zauważony w lasku miejskim 5.VII.

17. *Ae. isosceles* (Müll. 1764).

1 ♀ nad zalewem świdrowym na łąkach chłopskich 17.VI; jeszcze jeden egzemplarz zauważony tamże 26.VI.

Anax (Leach 1815).

18. *A. imperator* (Leach 1815).

Pierwszy egzemplarz obserwowany nad stawem w parku 5.VI i potem tamże obserwowany przez czas dłuższy.

Kilka egzemplarzy obserwowane nad zalewem świdrowym, na łąkach chłopskich, w czerwcu i w pierwszych dniach lipca (do 5.VII); złowiona w zbiorze 1 ♂ nad zalewem świdrowym pod laskiem miejskim 5.VII, w chwili składania jajek na liściu *Calamites*.

Libellulidae — Cordulinae.

Somatochlora (De Selys 1871).

19. *S. metallica* (Vanderl. 1825).

1 ♀ — park, nad stawem 25.V.

1 ♂ — nad Świdrem koło Kruszwicy 8.VI.

Kilka egzemplarzy widziałem na Żwirowej górze i w zaroślach leszczynowych koło Kruszwicy, ostatnio 2 i 5 lipca.

Cordulia (Leach 1815, De Selys 1871).

20. *C. aenea* (L. 1758).

Pierwszy egzemplarz zauważony 6 maja, b. młody (pierwsza ważka!); złowiony 1 ♂ w parku 6.V, maximum pojawu między 10 — 20 maja; ostatnio złowiona 1 ♀ nad stawem, w parku 26.V.

W zbiorze 3 ♂♂ i 3 ♀♀, z wyjątkiem 1 ♂ z nad Świdra za Gadką; wszystkie egzemplarze złowione w parku.

Libellulinae.

Orthetrum (Newman 1833).

21. * *O. brunneum* (Fons 1837).

1 ♀ semiad. Droga ze St. Wsi do Kołbieli 22.VII. [Wobec tego, że 1) egzemplarz niniejszy nie jest dorosły, 2) brak zbiorów w Warszawie uniemożliwił porównanie, 3) okoliczności wojenne nie pozwoliły przesłać tego egzemplarza do któregoś z zagranicznych badaczy specjalistów dla sprawdzenia dyagnozy — nie mogę brać odpowiedzialności za ścisłość określenia].

22. *O. cancellatum* (L. 1758).

1 ♀ — droga za parkiem do Gadki 8.VI.

1 ♀ — Księżę pole nad Świdrem 21.VI.

Libellula (L. 1758).]

23. *L. quadrimaculata* (L. 1758).

Pierwsze egzemplarze pojawiły się między 10 — 13 maja; najliczniejszy pojaw w okresie badanym przypada na ostatnie dni maja i pierwsze dni czerwca. Czy było to absolutne maximum, trudno stwierdzić wobec latania tego gatunku mniej więcej do połowy sierpnia (uwaga ta stosuje się i do następnego gatunku).

Kopulacja liczniejsza obserwowana 26.V i 26.VI.

Spotykana licznie na wszystkich terenach, wszakże nad wodami i nad łąkami rzadziej, niż na terenach zalesionych.

W zbiorze 1 ♂ i 4 ♀ ♀.

23a. *L. q. var. prenubila* New m.

1 ♂ — Księża łąka koło cmentarza 5.VII.

24. *L. depressa* (L. 1758).

Pierwsza ♀ zauważona 20.V, złowiona 22.V (w parku).

Pierwszy ♂ zauważony koło 25.V.

Najliczniejszy pojaw między 20 maja a 10 czerwca. Ostatni egzemplarz zauważony 30.VI. Kopulacja nie obserwowana.

W zbiorze 4 ♂♂ i 4 ♀♀, pochodzące ze wszystkich terenów.

Sympetrum (New m. 1833).

25. *S. flaveolum* (L. 1758).

1 ♂ juv. nad stawem w parku 20.VI.

1 ♂ juv. nad Świdrem koło Kruszewicy 27.VI.

Oprócz powyższych zauważyłem 5.VII, 2 egzemplarze młode *Sympetrum* sp. na łąkach chłopskich.

Leucorrhinia (Brittinger 1850).

26. *L. rubicunda* (L. 1758).

1 ♂ złowiony w towarzystwie następnego gatunku w lesie celestynowskim 16.V.

27. *L. pectoralis* (Charp 1825).

5 ♂♂ i 3 ♀♀ w lesie celestynowskim 16.V.

W dużej ilości zauważona w lesie między Otwockiem a szosą lubelską 13.V w towarzystwie *Lib. quadrimaculata*.

Kopulacja obserwowana 13 i 16 maja.

Uwagi ogólne.

Materyał przedstawiony powyżej, oraz możliwie staranne obserwacje skrupulatnie notowane — pozwalają, jak sędzę — na szereg uwag ogólniejszej natury—oczywiście z zastrzeżeniem, że uwagi te stosują się tylko do badanego okresu czasu—i do wazek starowiejskich. Okres badany przemnie, stanowi dla wazek pewną zamkniętą całość. Już w połowie lipca zaczęły się pojawiać gatunki jesienne, ale od pierwszej połowy maja do lipca trwała fauna wiosenna i wczesna letnia, w połowie lipca ustępuje ona innej, później letniej i jesiennej, zatem mając wazki zbierane w tym czasie można mówić o całości fauny z pierwszego okresu roku.

Zebrane 27 gatunków (i 3 odmiany które w obliczeniu nie są uwzględnione) przedstawiają ilościowo 45% fauny ziem polskich, jeśli wziąć za podstawę obliczenie *Dziędzielewicz* a dające dla całej fauny ilość 59 gatunków i dodać nowy jeden *Calopteryx ancilla*. Jeśli jednak z powyżej podanego spisu usunąć 2 gatunki nie należące już do fauny wiosennej i wczesnoletniej (*Sympetrum* i *Ae. grandis*) i z 59 gatunków *Dziędz.* usunąć 19 gatunków późnych letnich i jesiennych: rodzaju *Lestes* 6 gatunków: rodz. *Sympetrum* 7 gat. i 6 gatunków rodz. *Aeschna* to otrzymamy 25 gatunków na 41, czyli 62.5%. Ale jeśli wziąć pod uwagę tylko Królestwo Polskie, z tego względu, że obliczenia *Dz.* odnoszą się również do południowo-wschodniej Galicyi i Tatr, zatem zawierają gatunki, tylko górom, ewentualnie tamtym terenom geograficznym właściwe, to tu będą takie stosunki. Do r. 1893 (praca *Ingenickiego*) było odzuchanych w Królestwie 43 gat. (*Ingenicki, Majewski*) w r. 1910. *Bartniew* dodał gatunek nowy (*Agrion armatum* *Charp.*), obecnie przybywają jeszcze 3 gatunki (*Calopteryx ancilla* *De Selys*, *Ischnura pumilio* *Charp.*, *Orthetrum brunneum* *Fons.*). Zatem razem gatunków 47, a więc w stosunku do fauny Królestwa, ilość zebrana w Starej Wsi wyraża się liczbą 57.4%, a po odliczeniu form później w lecie się pojawiających (*Lestes*, *Aeschna*, *Sympetrum*) w ilości 15 gat. otrzymujemy liczbę 78.0% form wiosennych znanych z Królestwa.

Jeśli się jeszcze weźmie pod uwagę, że z brakujących 22%, pokażną ilość (13%) stanowią gatunki wogóle bardzo rzadkie

we wschodniej części Europy środkowej (*Agrion armatum* Charp., *Ophiogomphus serpentinus* Charp., *Epithea bimaculata* Charp. i *Leucorrhinia dubia* Vand.), to w rezultacie dochodzi się do wniosku, że St. Wieś jest miejscowością pod względem ważek bardzo bogatą, co znaczy, że na odpowiednich tu terenach, niemal wszystkie krajowe ważki dają się odszukać, przyczem gospodarka człowieka odgrywa tu pewną rolę. Wprawdzie ważki jako zwierzęta owadożerne (pożywienie stanowią głównie *Diptera* i *Hymenoptera*) mniej są od podłoża uzależnione, ale na ilość latających osobników niewątpliwie wpływają wspomniane na wstępie łąki irygowane o bogatej roślinności.

Dziwnem jest bardzo, że nie zostały w St. Wsi odszukane gatunki *Calopteryx virgo virgo* L. i *Somatochlora flavomaculata* Vand. Oba te gatunki zwykłe są na takich terenach i z okolic Warszawy były podawane, brak ich zatem zupełny wśród gatunków złowionych przypisuję przeoczeniu, jakkolwiek przypuścić mogę również, że do pospolitych nie należą. Rozpatrując faunę miejscowych ważek, stwierdzić można, że z podanych 27 gatunków i 3 odmian, tylko nieliczne są „pospolite“, t. j. tworzą masę fauny, podczas gdy inne są tylko nieznacznym dodatkiem, ewentualnie czasowym dodatkiem, nie wpływającym na ogólny jej charakter, takimi gatunkami „pospolitymi“ są:

Calopteryx splendens,
Platycnemis pennipes,
Agrion pulchellum,
A. puella,
Libellula quadrimaculata.

Te gatunki na odpowiednich terenach spotykały się wszędzie w dużych ilościach i gęszczyły inne gatunki, przyczem *Calopteryx* i *Libellula* występowały w stosunkowo mniejszej ilości egzemplarzy.

Tu jeszcze można zauważyć, że na badanym terenie można wprowadzić pewne rozgraniczenie, mianowicie: nad Świdrem, nad jego zalewami, nad łąkami dominowały tylko *Agriionidae*, podczas gdy po obrosłych górkach i wogóle w miejscach zadrzewionych spotyka się przeważnie *Libellula*.

Wyszczególnione powyżej gatunki i dlatego jeszcze stanowią podstawę miejscowej fauny ważek, że, pojawiwszy się latają stosunkowo dość długo i jakkolwiek już w okresie badanym

można było ustalić maximum pojawu, to jednak latały jeszcze, w 3 dekadzie lipcowej i niewątpliwie jeszcze później. Co do maximum to zaznaczyłem je nawet dla takich gatunków jak *Libellula quadrimaculata* i *L. depressa*, jakkolwiek świadom jestem faktu, że gatunki te latają aż do jesieni (mniej więcej do września), że zatem maximum powinno być przesunięte, ale wobec zachodzącego tu związku liczebności występowania gatunku z klimatem, wskutek wyjątkowo zimnej i dżdżystej drugiej dekady lipcowej, krzywa liczebności tych gatunków dla danego roku okazałaby się dwuwierzchołkową.

Inne gatunki nawet dość licznie ilościowo występujące, na faunie miejscowej swego piętna nie wycisnęły, bowiem okres ich latania był znacznie krótszy. Dotyczy to mianowicie gatunków:

<i>Pyrrhosoma nymphula</i>	około dni	20
<i>Brachytron hafniense</i>	" "	20
<i>Cordulia aenea</i>	" "	20
<i>Leucorrhinia pectoralis</i>	" "	20

Jest wreszcie trzecia kategoria, do której należą pozostałe gatunki, z wyjątkiem rzadkich zupełnie na danym terenie, (jak np. *Ischnura*, *Ac. isosceles*, *A. lunulatum*), które wprawdzie latają przez całą wiosnę i część lata (np. *Gomphus*, *L. depressa*), lecz są zbyt nieliczne, aby się ich obecność na składzie fauny odbić mogła.

Gdyby zatem chcieć przedstawić faunę ważek staromiejskich, w jej rozwijaniu się w okresie badanym, to uzyskaloby się obraz następujący:

Maj 1—10 pojaw najpierwszych ważek (*Cordulia aenea*), tylko w dni słoneczne widzieć można pojedyncze osobniki.

10—20 w niewielkiej ilości egzemplarzy pojawiły się *Calopteryx splendens*, *Platycnemis* (1 egz.), *Agrion puella*, *A. hastulatum*, *Gomphus*, *Brachytron*, *L. quadrimaculata*, *Erythromma* (1 egz.) i *Leucorrhinia*.

20—31 pojawiają się pozostałe gatunki z wyjątkiem *Enallagma* i *Aeschna*, *Pyrrhosoma* i *Brachytron* osiągnęły swoje maximum, jak również *A. puella* i *Gomphus*. *Brachytron*, *Leucorrhinia* i *Cordulia* znikają.

Czerwiec 1—10 maximum rozwoju innych *Agrionid'ów*, z wyjątkiem *Enallagma*. Wogóle okres między 20 maja a 10

czerwca był dla wszystkich ważek starowiejskich punktem kulminacyjnym.

10—20 z przyczyn klimatycznych gwałtowny opad pojawów, redukujący całe życie ważek niemal do zera.

20 czerwiec—10 lipiec: tylko niektóre z gatunków, które w maju miały swoje maximum: pojawiają się w większej ilości (*A. puella*, *A. pulchellum* (max.), *Platycnemis*), inne zamierają (*Gomphus* i w. i.).

10—20 lipca, deszcze i zimna.

Po 20 lipca fauna przybrała jesienny charakter przez całkowity prawie zanik *Agrionid'ów* a pojawienie się *Sympetrum*.

I tu właśnie łatwo zauważyć wpływ na ilościowy skład fauny rocznych wahań klimatycznych, jak np. w tym przypadku wpływ minimów opadów czerwcowych i lipcowych. Zwłaszcza po spadku temperatury i deszczach lipcowych, charakter fauny zmienił się odrazu, przez prawie zupełny zanik form, które suchy i pogodny lipiec przeżywają w dużej ilości. Zarazem można tu stwierdzić, że pojaw ważek waha się niewątpliwie w b. szerokich granicach.

W tym roku ważki w St. Wsi pojawiły się nie „normalnie“, bo naprawdę za pierwszy dzień pojawu trzeba przyjąć 13 maja, opóźnienie zaszło, i to nie mniejsze, niż 8—10 dni ¹⁾ (dla najwcześniejszych gatunków *L. quadrimaculata*, *C. aenea*, *Leucorrhinia*, dla późniejszych *Agrion*, *Calopteryx* byłoby mniejsze). Jakkolwiek kwiecień i maj miały normalną ciepłotę. Czy to nie jest w związku z wyjątkowo niską temperaturą marca (por. tabelkę), wskutek której temperatura wody była niewątpliwie przez dłuższy czas nienormalnie niska?

Tyle co do pojawu. Co zaś do czasu jego trwania, to tu nasunęły mi się takie obserwacje: W czasie największego rozkwitu gatunków na jakie specjalnie zwracałem uwagę (*Platycnemis*, *Agr. puella* i *pulchellum*), jednodniowe opady atmosferyczne i niższa temperatury nie wywierają większego wpływu, t. j. na drugi dzień po zimnie i deszczu ważki latają normalnie, gdy tymczasem w czasie pojawiania trzeba dłuższego czasu:

¹⁾ Przy porównywaniu, brałem pod uwagę normy ustalone przez Dzieńdzielewicza i Ingenickego dla ziem polskich, a przede wszystkim dla okolic Warszawy.

2—3 dni aby ważki latały intensywnie. Również można było zauważyć, że ważki, które pojawiły się w pierwszej połowie maja, latały tylko w godzinach od przepołudniowych do popołudniowych, przestając już nad wieczorem latać, gdy temperatura opadała poniżej 12°C. Chcąc sobie zdać sprawę, choćby w przybliżeniu, jak się przedstawia liczbowo wzajemny stosunek najobficiej i równorzędnie występujących gatunków na terenie badanym zrobiłem tak: Wykonałem kilkanaście połowów, starając się schwytać wszystkie latające osobniki. Oczywiście, próba taka mogła dotyczyć tylko gatunków łatwych do złowienia, a więc *Pl. pennipes*, *Agr. pulchellum* i *A. puella*, próby były wykonane w ostatnich dniach maja i pierwszych dniach czerwca i dały następujące liczby:

<i>Platycnemis pennipes</i>	około 25%
<i>Agrion pulchellum</i>	„ 30%
<i>Agr. puella</i>	„ 45% ¹⁾

Obserwacje nad kopulacją gatunków *Pl. pennipes*, *Agr. pulchel.* i *A. puella* pozwoliły stwierdzić, że kopulacja zaczęła się najwcześniej u *A. pulch.* i *A. puella*, to jest w kilka dni po pojawieniu się pierwszych osobników; u *Pl. pennipes* zaczęła się później. Natomiast ten ostatni gatunek kopulował znacznie energiczniej. Wogóle zaś w całym okresie kopulacyjnym można było zauważyć, że pojedyncze parki kopulujące zdarzały się ciągle, ale liczniejsza kopulacja zachodziła w pewnych odstępach czasu i u tych gatunków przypadła na dni: 5.VI, 7.VI, 25.VI, 26.VI, 2.VII. Z przyczyn, jakie to zjawisko mogły ewentualnie wywołać, wymieniam zaobserwowaną: dni te były poprzedzane przez obniżenie się temperatury, połączone przeważnie z zachmurzeniem, ewentualnie z opadami.

Wobec braku dostatecznych materiałów i danych, nader ważnej i ciekawej sprawy rozpatrzenia ważek starowiejskich pod względem zoogeograficznym uwzględnić na tem miejscu nie mogę, odkładając tę sprawę do dalszych studyów.

¹⁾ Obliczenie to jest wzięte w formie przykładu, gdyż stosunek ten w ciągu całej wiosny musi podlegać pewnym wahaniom, powstającym wskutek niewspółczesności maximum pojawu tych gatunków.

OBJAŚNIENIE TABLICY MIKROFOTOGRAMÓW.

Fig. 1. Skrzydła ♂ *Calopteryx virgo* L. różniącego się od formy typowej, która posiada u tej płci skrzydła ciemno-granatowe, na samym końcu przezroczyste.

Fig. 2. Skrzydła ♀ *Calopteryx ancilla* De Selys.

Oba mikrofotogramy zostały wykonane za pomocą aparatu poziomego Leitz'a — i mikrosommaru 80 mm. — w powiększeniu 6-krotnym.

SPIS PRAC UWZGLĘDNIONYCH.

1. De Selys Longchamps. Monographie des Libellulidées d'Europe Paris 1840.
- * 2. De Selys Longchamps et Hagen. Revue des Odonates ou Libellules d'Europe. Brux. 1850.
- * 3. — Monographie des Caloptérygines. Brux. 1854.
4. Brauer F. u. Löw. F. Neuroptera austriaca. Wien 1857.
5. Podróż naturalistów do Ojcowa. Bibl. Warsz. T. 2 r. 1857.
6. Belke G. Rys historyj naturalnej Kamieńca Podolskiego. Warsz. 1859.
7. — Notice sur l'histoire naturelle du district de Radomyśl (gouv. de Kieff.) Bull. Soc. Natural. Moscou. 1866.
8. Brauer Dr. F. Die Neuropteren Europas und insb. Oesterreichs... 1876.
- * 9. Iwanow P. Materjały dla entomologii. Chark. gub. Opisanie strekoz iz okrest. g. Kupianska, Charkow 1876.
10. Majewski E. Owady żyłkoskrzydłe (Neuroptera polonica). Warsz. 1887.
- * 11. Dzieńdzielewicz J. Przegląd fauny krajowej owadów siatkoskrzydłych, Spr. Kom. Fizyogr. Kraków 1890.
12. Ingenickij. K faunie i organizacyi strekoz priwislanskogo kraja. Warsz. Uniw. Izwiestja I. 1893.
13. Dzieńdzielewicz J. Zestawienie zapisków o owadach siatkoskrzydłych w Tatrach podczas pob. w lat. 1891—1892. Kraków Akad. Um. 1894.
14. — Wykaz owadów siatkoskrzydłych znalezionych dotychczas w Tatrach oraz uzupełn. przeglądu ogłosz. w Spr. Kom. Fizj. w r. 1890. Kraków S. K. F. 1894.
- * 15. — Ważki Galicyi i przyległych krajów polskich. Lwów 1902.
16. Fröhlich C. Dr. Die Odonaten und Orthopteren Deutschlands m. bes. Berück. d. b. Aschaffenburg vork. Arten. Jena 1903.
17. Barteniew A. N. Odonata poliesskoj i wilenskoj ekspedicyj. Trudy stud. kruzka pri Mosk. Uniw. 1907.
- * 18. Scholz. Die schlesischen Odonaten. 1908.
19. Tümpel R. Geradflügler Mitteleuropas. 1907.
20. Ris F. Odonata. Süßwasserf. Deutschlands. Heft. 9. Jena 1909.
21. Barteniew A. N. K faunie strekoz Polshi. Revue russe entomol. 1910.

- *22. Le Roi O. Die Odonaten von Ost.-Preussen Schr. d. ph. ök. Ges. z. Königsb. 1911.
- *23. Barteniew A. N. Palearkticzeskije i wostocznoaziatskije widy i podwidy roda *Calopteryx* Leach (*Odonata*, *Calopterygidae*) Warszawa 1912.
- *24. — Materialien zur Odonaten-Fauna Sibiriens Abhd. a. d. Zoolog. Jahrb. 1612.
- *25. Mierzejewski L. v. Dr. ph. Die Libellen (Odonata) der Insel Oesel (Livland, Russland). Verh. K. K. Zool. Bot. Ges. Wien. 1913.
- *26. Sumiński St. i Mierzejewski Wł. Materyały do fauny ważek ziem polskich. Pam. Fiz. 1914.
27. Wolski T. i Słonimski P. Materyały do fauny jeziora chodeckiego. Pam. Fiz. 1914.

RÉSUMÉ.

St. Sumiński:

Matériaux à la faune des Odonates de Pologne.

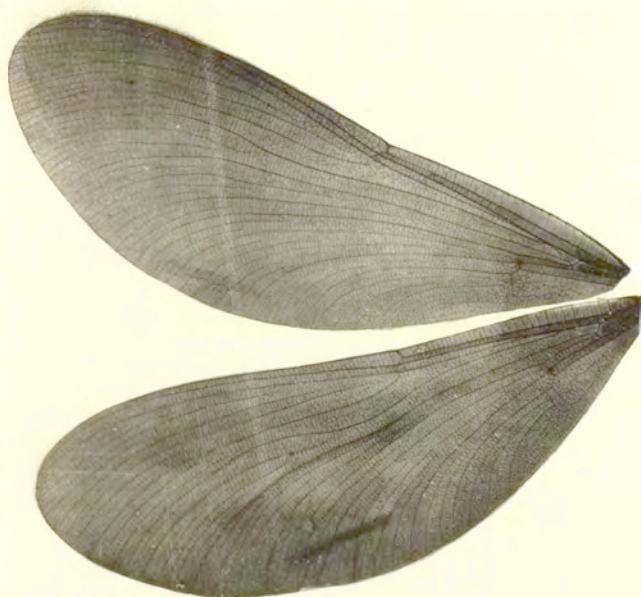
Du Laboratoire de Zoologie de la Société de Sciences de Varsovie.

Communication annoncée le 6.IX. 1915.

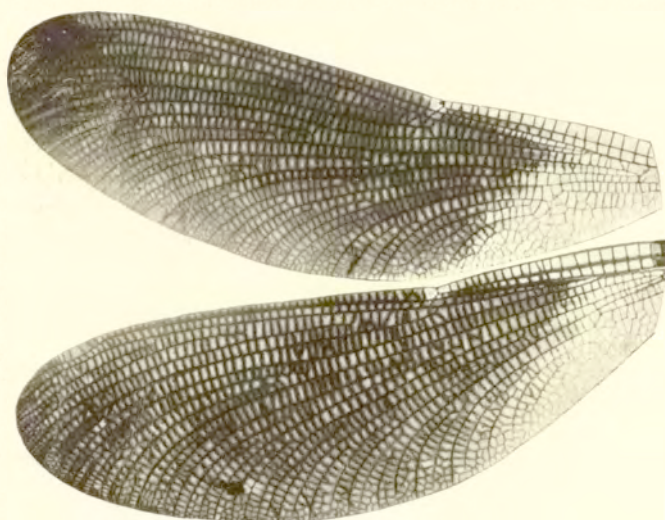
Présentée par Jan Tur.

L'auteur présente ses recherches systématiques et biologiques sur les Odonates qu'il a recueillies en printemps 1915 à Stara Wieś près de Varsovie. L'examen de la littérature nous prouve qu'en général les Odonates de Pologne n'étaient étudiées jusqu'ici que très insuffisamment. Celles de la Galicie sont mieux connues grâce aux travaux monographiques de J. Dzieździelewicz (11, 13, 14, 15), aussi que celles de la Prussie Orientale (O. le Roi — 22) et de la Silésie (Scholz — 18). Les deux derniers auteurs se basent sur les sources anciennes et surtout sur les travaux de Hagen et Stein. Quand au Royaume de Pologne et en général à la Pologne russe — nous ne possédons à cet égard que très peu de données, vu que les travaux de Belke (6, 7) ne touchent qu'aux quelques points li-

*) Prace oznaczone gwiazdką, zawierają wykazy literatury, odnoszącej się do danych terenów. № 24 cytowany z powodu wyszczególnienia literatury do ważek dla całego państwa rosyjskiego do r. 1912.



1.



2.

mités, ceux de Majewski (10), d'Ingenicki (12), de Bar-
teniew (18, 21,) et de Wolski et Słonimski (27), aussi
que de l'auteur de ce travail (26)—sont bien loin d'épuiser toutes
les données faunistiques.

Chez les auteurs étrangers plus anciens nous trouvons
quelque indications sur les Odonates polonaises, comme p. ex.
chez E. de Selys-Longchamps (2) et chez Brauer (9),
mais il est à regretter que leurs travaux n'ont pas de plus
grande portée, car de Selys-Longchamps envisage la Po-
logne d'une façon trop générale, comme les territoires „compris
entre Oder et Duna“, et ne rapporte pas de localités précises
pour les espèces qu'il a décrites — et Brauer ne mentionne
du tout les sources de ses données sur les espèces d'ailleurs très
peu nombreuses qu'il attribue à la Pologne („Polen“).

Ainsi donc, il est nécessaire d'élargir les recherches odo-
natologiques en Pologne sur les territoires strictement déterminés.
La localité d'où provient la matériel qui a servi à l'auteur est
située à 40 klm. au Sud-Sud-Est de Varsovie et élevée à une
hauteur de 137 m. environ au-dessous de la mer Baltique, au
bord du fleuve Świder — l'affluent droit de la Vistule. Cette lo-
calité — à la surface plane — est caractérisée surtout par d'im-
menses prairies.

La matériel comprend les Odonates de la période printanière
et estivale jusqu'à la seconde moitié du Juillet, quand
l'auteur était forcé—par les événements de guerre — d'interrompre
ses études. Chaque espèce était examinée au point de vue de
ses caractères biologiques, de son moment d'apparition et de la
période et d'intensité de copulation.

Les espèces notées pour la première fois dans le Royaume
de Pologne sont désignées par l'astérisque (*). La question
de rareté des certaines espèces n'est pas soulevée ici, vu l'insuf-
fisance d'observations.

La liste d'insectes notés:

- | | |
|--|--|
| 1. <i>Calopteryx virgo</i> L. | 14. <i>Gomphus vulgatissimus</i> L. |
| 2. <i>C. splendens</i> Harr. | 15. <i>Brachytron hafniense</i> Müll. |
| 3. * <i>C. ancilla</i> De Selys | 16. <i>Aeschna grandis</i> L. |
| 4. <i>Platycnemis pennipes</i> Pall | 17. <i>Ae. isosceles</i> Müll. |
| 4a. <i>Platycnem. pennipes</i> var. | 18. <i>Anax imperator</i> Leach |
| <i>lactea</i> de Selys Long. | 19. <i>Somatochlora metallica</i> |
| 5. <i>Ischnura elegans</i> Vand. | Vand. |
| 6. * <i>I. pumilio</i> Charp. | 20. <i>Cordulia aenea</i> L. |
| 6a. <i>I. p.</i> var. <i>aurantiaca</i> de | 21. * <i>Orthetrum brunneum</i> |
| Selys Long. | Fons. |
| 7. <i>Enallagma cyathigerum</i> | 22. <i>O. cancellatum</i> L. |
| Charp. | 23. <i>Libellula quadrimaculata</i> L. |
| 8. <i>Agrion pulchellum</i> Vand. | 23a. <i>L. q.</i> var. <i>praenubila</i> |
| 9. <i>A. hastulatum</i> Charp. | New m. |
| 10. <i>A. lunulatum</i> Charp. | 24. <i>L. depressa</i> L. |
| 11. <i>A. puella</i> L. | 25. <i>Sympetrum flaveolum</i> L. |
| 12. <i>Erythromma najas</i> Hansem. | 26. <i>Leucorrhinia rubicunda</i> L. |
| 13. <i>Pyrrhosoma nymphula</i> Sulz. | 27. <i>L. pectoralis</i> Charp. |

* * *

Considérations générales:

Le matériel recueilli et les observations directes, poursuivies au cours des recherches, nous permettent de joindre ici quelques remarques d'ordre général.

Les calculs quantitatifs nous montrent que nos 27 espèces et 3 variations constituent 45% de toute la faune odonatologique de Pologne et 62% 5 de sa faune printanière et estivale. Les calculs visant le Royaume de Pologne seul (car la faune totale de Pologne embrasse aussi les formes des montagnes: de Tatra et des Carpathes) nous donnent 57% 4 pour la faune totale et 78% pour la faune printanière et estivale. Vu que 22% restant se composent pour la plupart (13%) d'espèces très rares dans

cette partie d'Europe (*Agrion armatum* Ch., *Ophiogomphus serpentinus* Charp., *Epitheca bimaculata* Charp. et *Leucorrhinia dubia* Vand.) — nous devons considérer Stara Wies comme une localité très abondante en représentants d'Odonates.

Une analyse plus détaillée nous prouve que parmi les espèces notées — une partie insignifiante seulement forme la masse prépondérante de la faune. Ce sont les espèces ainsi dénommées „communes“ et caractéristiques pour la faune donnée, à savoir:

- Calopteryx splendens* Harr.
- Platynemis pennipes* Pall.
- Agrion pulchellum* Vanderl.
- A. puella* L.
- Libellula quadrimaculata* L.

Ces espèces se montraient en grande quantité en masquant les autres. Ces dernières peuvent être divisées en trois catégories. A la première appartiennent les formes apparaissant pendant une période limitée, quoique dans des quantités parfois considérables. A savoir:

<i>Pyrrosoma nymphula</i> Sulz.	observé pendant 20 jours
<i>Brachytron hafniense</i> Müll.	„ „ 20 „
<i>Cordulia aenea</i> L.	„ „ 20 „
<i>Leucorrhinia pectoralis</i> Charp.	„ „ 20 „

La seconde catégorie était composée des espèces qui se montrent pendant tout le printemps, mais en quantité insignifiante, comme:

- Enallagma cyathigerum* Charp.
- Agrion hastulatum* Charp.
- Erythromma najas* Hansem.
- Gomphus vulgatissimus* L.
- Somatochlora metallica* Vand.
- Libellula depressa* L.

Enfin, la troisième et dernière catégorie est composée des espèces très rares sur le territoire étudié, probablement accidentelles.

* * *

Le développement printanier de la faune étudiée se présente de la façon suivante:

Mois de Mai: 1 — 10. Première apparition de *Cordulia aenea* — pendant les jours ensoleillés seulement, et par individus isolés.

10 — 20. Apparition d'exemplaires peu nombreux de *Platycnemis pen.* (1 egz.), *Agrion puella*, *A. hastulatum*, *Calopteryx splendens*, *Erythromma najas* (1 egz.), *Gomphus vulgatissimus*, *Brachytron hanfn.*, *Lib. quadrim.*, *Leucorrhinia pect.*

20 — 31. Apparaissent les autres espèces, à l'exception de *Enallagma cyathigerum* et *Aeschna grandis*. En même temps on constate le maximum de *Pyrrosoma nymphula*, *Agrion puella*, *Brachytron hanfn.* et *Gomphus vulgatissimus*. En même temps disparaissent *Brach. hanfn.*, *Cordulia aenea* et *Leucorrhinia pectoralis*.

Mois de Juin: 1 — 10. Maximum du développement des autres *Agrionidae*. En général la période du 20 Mai au 10 Juin était le maximum d'apparition des Odonates de Stara Wieś.

10 — 20. Diminution sensible de la faune, due aux conditions météorologiques.

1e 20 Juin — 10 Juillet. Des formes printannières — seulement *Platycnemis pennipes* et *Agrion puella* apparaissent en quantités considérables. Maximum d'*Enallagma cyathigerum* et d'*Agrion pulchellum*. Quelques espèces disparaissent (*Gomphus vulgatissimus* et les autres).

Mois de Juillet. 10 — 20. Une période de pluies et de froid.

20. Toute la faune présente le caractère automnal, grâce à la disparition des *Agrions* et l'apparition des *Sympetrum*.

L'apparition printanière des Odonates n'est pas toujours strictement déterminée. Dans l'année de mes observations elles étaient un peu retardées, à une t° de 12 — 14° C.

Les essais de calculer le rapport réciproque des espèces les plus fréquentes (vers la fin du mois de Mai et le commencement de Juin) m'ont fourni des chiffres suivants:

<i>Platycnemis pennipes</i>	25% environ
<i>Agrion pulchellum</i>	30% „
<i>Agrion puella</i>	45% „

Les observations sur la copulation des 3 espèces énumérées ci-dessus m'ont démontré que la période sexuelle s'est commencée quelques jours après l'apparition des premiers individus — et durait jusqu'à la fin. Une copulation en masse était observée le 5.VI, 7.VI, 25.VI, 26.VI, 2.VII. Ces jours étaient exclusivement chauds et succédaient aux jours de pluies.

EXPLICATION DE LA PLANCHE DE MICROPHOTOGRAPHIES.

1. Les ailes de *Calopteryx virgo* L. ♂, différant de la forme typique, qui possède les ailes d'un bleu foncé, transparentes vers les bouts.
2. Les ailes d'une *Calopteryx ancilla* de Selys ♀.

Les microphotographies étaient prises à l'aide de l'appareil horizontal de Leitz et de „microsummar“ 80 mm., à un agrandissement de 6 fois.

Explication de la figure à la page 834 du texte polonais:

Les quatre premiers segments de l'abdomen d'un *Agrion pulchellum* Vand. femelle, vus du côté dorsal. Grossi 6 fois.

7. Leon Karwacki i Stanisław Biernacki:

O wpływie hamującym niektórych środków chemicznych na rozwój laseczników gruźliczych na podłożu sztucznem.

(Z Pracowni Serologicznej Tow. Nauk. Warsz.).

Komunikat zgłoszony dn. 17 listopada 1915 r.

Przedstawił M. J a k o w s k i.

Literatura bakteryologiczna tematu, poruszonego przez nas, jest uboga dzięki tej okoliczności, że prątki gruźlicze są względnie wybredne co do jakości podłoża i rosną bardzo wolno nawet w warunkach pomyślnych: wskutek tego ocena hamującego działania tego lub owego leku na rozwój prątków staje się mocno subiektywna, a w wielu razach wprost niemożliwa.

Trudność tę ominęliśmy przez wybór szczepu, przystosowanego doskonale do podłoża laboratoryjnych i rosnącego bardzo szybko. Szczep ten zawdzięczamy uprzejmości profesora W h e r r y'ego z Cincinnati. Jest to jedna z oryginalnych hodowli K o c h'a, która od wyosobnienia przeszła przez 300 przesiewów z górą. Szczep ten, noszący miano „801“, jest tak przystosowany do podłoża, że rozwój w postaci kożuszka występuje na bulionie już między drugim a trzecim dniem po posianiu. Cechy morfologiczne szczepu pozostały bez zmiany, natomiast chorobotwórczość swoista wygasła doszczętnie.

Technika pracy naszej była następująca. Do 10 cm. sz. słabo zasadowego (w niektórych doświadczeniach obojętnego lub słabo kwaśnego) bulionu z 4% gliceryny, dodawaliśmy określone ilości ciał chemicznych i posiewaliśmy jedną kroplę hodowli prątków. Serye próbek wstawialiśmy do ciepłarki i, poczynając od 2-go dnia, badaliśmy codziennie postęp hodowli. Jedna z próbek bez wszelkiego dodatku chemikalij, zasiana w ten sam sposób, służyła do porównania.

Ponieważ niektóre środki zmuszeni byliśmy stosować w rozczynach wysokowych, zaczęliśmy od określenia siły hamującej wysokoku, która odpowiada 5% koncentracji dla bezwodnego wysokoku etylowego, a 10% — dla bezwodnego wysokoku metylowego.

Liczba naszych doświadczeń wynosi 161, obejmując 73 preparatów leków (bądź przeciwgruźliczych, bądź innych) i 52 preparaty barwików.

Z dawnych leków, poleconych przeciw gruźlicy, kwas fluorowodorowy nie hamuje rozwoju prątków w koncentracji 0,01%. Z leków obecnych duotal (węglan gwajakolu) nie zmienia rozwoju prawidłowego prątków w koncentracji 0,1%, a tiokol — w 0,2%; w tem samym rozcieńczeniu nieczynną jest i gwajacetyna.

Związki organiczne miedzi i rtęci — kuprol i merkurol są bez wpływu w dawce 0,1%. Nukleinian sodu nie hamuje hodowli aż do kresu swej rozpuszczalności. Chloran potasu, tak chętnie stosowany do płukań gardła, nie wstrzymuje rozwoju hodowli w dawce 0,8%, a kwas borny w dawce dwukrotnie mniejszej.

Związki arsenowe -- arsykodyl, arrenal i atoxyl nie hamują rozwoju prątków w koncentracji 1%, w tem samym stężeniu bez wpływu są będzwinian sodu, siarczan sodu, chlorek strontu i alkaloidy — chlorek morfiny, chlorek pilokarpiny, chlorek kokainy, siarczan atropiny, azotan strychniny.

Metale i metaloidy w stanie koloidalnym, jak złoto, srebro, miedź, rtęć, cynk, nikel, rod, siarka, selen, jod, dodane w ilości 10% w tem stężeniu, które przeznaczone jest do zastrzykiwań leczniczych, nie wstrzymały rozwoju prątków: jedynie cynk koloidalny wyraźnie opóźniał powstawanie hodowli.

W dawce 0,1% następujące barwiki nie hamowały wzrostu prątków gruźliczych: mikadoorange, ponceau 4R, metylorange, tropeolina O, Sudan III, czerwień Kongo, benzopurpuryna, błękit azowy, chryzofenina, zieleń brylantowa, fuksyna, zieleń metylowa, auryna, koralina, pyronina, fenoltaleina, fluoresceina, eozy-na, iodeozyna, metyleozyna, alizaryna, czerwień magdalska, nigrozyna, cyanina, indygotyna, indygokarmin, pikrokarmin, kwas pikrynowy, Kernschwarz, orceina. Pyronina, alizaryna, cyanina, nie hamując hodowli całkowicie, zwalniały jej wzrost bardzo wybitnie.

Kożuszek gruźliczy impregnował się stale odpowiednim barwikiem, a bulion odbarwiał się powoli w miarę adsorpcji przez prątki, lub też zmieniał barwę całkowicie pod wpływem produktów, wydzielanych przez laseczники gruźlicze. Niektóre barwiki z tej grupy, jak eozy-na, hamowały rozwój prątków w dawce wyższej — 1%.

Pewna część tych doświadczeń, sądzimy, może być zużyty-
kowana do celów praktycznych, mianowicie do wyosobniania ła-
laseczników z tych wydzielin, gdzie obok prątków gruzliczyczych
znajdują się i bakterye postronne.

Środki o mocnem działaniu hamującym zestawiamy poniżej
w dwu tablicach w porządku zstępującym.

GRUPA PIERWSZA.

Miano hamowania.	Miano hamowania. a.
Cyanek złotowopo- tasowy 0,0006 $\frac{0}{0}$	Kwas mleczny 0,22 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$
Cyanek rtęci 0,002 $\frac{0}{0}$	Kwas salicylowy 0,22 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$
Arsen koloidalny (w przybliżeniu) 0,002—0,01 $\frac{0}{0}$	Jod 0,33 $\frac{0}{0}$ 3 $\frac{0}{0}$
Tymol 0,004 $\frac{0}{0}$	Gwajakol 0,33 $\frac{0}{0}$ 3 $\frac{0}{0}$
Węgiel koloidalny (w przybliżeniu) 0,006—0,03 $\frac{0}{0}$	Eukalyptol 0,44 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Siarczek arsenu koloidalny 0,008 $\frac{0}{0}$	Amfotropina 0,44 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Siarczan miedzi 0,01 $\frac{0}{0}$	Helmitol 0,44 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Kwas arsenowy 0,02 $\frac{0}{0}$	Salicylan sodu 0,44 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Enesol 0,03 $\frac{0}{0}$	Aspiryna 0,41 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Sublimat 0,04 $\frac{0}{0}$	Salicylan sodowy kofeiny 0,41 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Dwujodan rtęci 0,06 $\frac{0}{0}$	Chlorek chininy 0,41 $\frac{0}{0}$ 4 $\frac{0}{0}$
Kusyol 0,08 $\frac{0}{0}$	Gwajasonol 0,65 $\frac{0}{0}$ 6 $\frac{0}{0}$
Nargol 0,08 $\frac{0}{0}$	Borowertyna 0,65 $\frac{0}{0}$ 6 $\frac{0}{0}$
Mentol 0,1 $\frac{0}{0}$	Fibrolizyna 0,65 $\frac{0}{0}$ 6 $\frac{0}{0}$
Hetol 0,1 $\frac{0}{0}$	Urotropina 0,83 $\frac{0}{0}$ 8 $\frac{0}{0}$
Sulfidal 0,1 $\frac{0}{0}$	Kamfora 0,83 $\frac{0}{0}$ 8 $\frac{0}{0}$
Karbol 0,2 $\frac{0}{0}$	Rezorcyna 0,83 $\frac{0}{0}$ 8 $\frac{0}{0}$
	Weratryna 0,83 $\frac{0}{0}$ 8 $\frac{0}{0}$
	Będźwinian sodowy ko- feiny 1 $\frac{0}{0}$ 10 $\frac{0}{0}$

GRUPA DRUGA.

Miano hamowania.	Miano hamowania.
Tioflawina T 0,0004 $\frac{0}{0}$	Wezuwina 0,02 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$
Błękit metylenowy 0,002	Marineblau 0,02 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$
Krystalviolet 0,004 $\frac{0}{0}$	Victoriablau 0,02 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$
Rodamina 0,004 $\frac{0}{0}$	Nilblau 0,02 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$
Safranina 0,004 $\frac{0}{0}$	Tionina 0,02 $\frac{0}{0}$ 2 $\frac{0}{0}$

Miano hamowania.		Miano hamowania.	
Chryzoidyna	0,006 $\frac{0}{0}$	Schwarzbraun	0,02 $\frac{0}{0}$
Fiolet gencjanowy . .	0,01 $\frac{0}{0}$	Zieleń metylenowa . .	0,04 $\frac{0}{0}$
Kresylwiolet.	0,01 $\frac{0}{0}$	Victoriagelb	0,06 $\frac{0}{0}$
Aurancya	0,02 $\frac{0}{0}$	Auramina O i S	0,06 $\frac{0}{0}$
Anilingelb	0,02 $\frac{0}{0}$	Metylauryna	0,1 $\frac{0}{0}$

Środki, zajmujące miejsce naczelne w obu grupach, oddzielnie lub w skojarzeniu, mogą znaleźć zastosowanie w próbach chemoterapeutycznych.

RÉSUMÉ.

Leon Karwacki et Stanisław Biernacki:

L'action inhibitrice de quelques substances chimiques sur le développement des bacilles tuberculeux in vitro.

Du Laboratoire de Sérologie de la Société des Sciences de Varsovie.

Communication annoncée le 17.XI. 1915.

Présentée par M. Jakowski.

L'appréciation de l'action empêchante des substances médicamenteuses sur des cultures de bacilles tuberculeux est en général très difficile et devient quelquefois impossible à cause du développement très lent et capricieux du parasite sur de milieux artificiels même dans des circonstances favorables.

Nous avons omis cette difficulté par le choix d'un bacille bien adapté aux milieux artificiels et poussant très vite. Nous devons cette race à l'obligeance de M-r le professeur Wherry de Cincinnati. C'est une originale culture tuberculeuse de Koch, qui après l'isolement a subi plus de 300 réensemencements. La culture porte le nom 801 et est tellement habituée à la vie saprophytique que le voile sur bouillon commence à apparaître entre le deuxième et troisième jour à l'étuve. L'acidorésistance et la morphologie des bacilles ont resté intactes, mais le pouvoir tuberculigène a complètement disparu. Au cours de nos recherches nous avons employé la technique suivante.

10 cm. c. de bouillon glyceriné à 4% légèrement alcalin (quelquefois neutre ou légèrement acide), après l'addition d'une quantité connue de substance chimique à examiner, ont étéensemencés d'une goutte de culture tuberculeuse. La série de tubes à essai ainsiensemencés, contenant une substance chimique en différentes proportions et en outre un tube-témoin a été mise à l'étuve et examinée après 48 heures tous les jours.

Certaines substances demandaient pour la dissolution un véhicule à l'alcool. Nous avons donc commencé par établir le pouvoir empêchant de l'alcool. Nos cultures ont été entravées à la concentration de 5% par l'alcool éthylique anhydre et de 10% — par l'alcool méthylique.

Le nombre de nos expériences est de 161: nous avons étudié 73 préparations médicamenteuses (employées à titre antituberculeux ou d'autres) et 52 colorants.

Parmi les médicaments réputés dans le passé comme antituberculeux, l'acide fluorhydrique n'empêche pas le développement à titre de 0.01%. Quant aux médicaments modernes le duotal (carbonate de guaïacol) n'a aucune influence sur la culture à 0.1% ni le thiocol à 0.2%, la guaïacétine est inactive à la même proportion. Les composés organiques de cuivre et de mercure — le caprol et le mercuriol sont sans action à 0.1%. Le chlorate de potassium, si couramment employé en gargarismes, n'empêche pas l'apparition du voile à 0,8%, ni l'acide borique à la dose de 0,4%.

Les composés arsénicaux — l'arsycodile, l'arrénal, l'atoxyl n'ont aucune action inhibitrice à 1%, de même — le benzoate et le sulfate de soude, le chlorure de strontium et les alcaloïdes: le chlorate de morphine, le chlorate de pilocarpine, le chlorate de cocaïne, le sulfate d'atropine, le nitrate de strychnine.

De certains métaux et métalloïdes en suspension colloïdale, comme l'or, l'argent, le cuivre, le mercure, le zinc, le nickel, le rhodium, le soufre, le sélénium, l'iode, additionnés en solution originale, jusqu'à la proportion de 10% se sont montrés complète-

ment inactifs, excepté le zinc, qui retardait manifestement l'apparition du voile.

Les colorants suivants sont sans action sur le développement des bacilles tuberculeux à la dose de 0.1%: le micado-orange, le ponceau 4R, le méthyle-orange, la tropéoline 0, le Sudan III, le rouge de Congo, la benzopurpurine, l'azobléu, la chryso-phénine, le vert-brillant, la fuchsine, le vert de méthyle, l'aurine, la coralline, la pyronine, la phénolftaléine, la fluorescéine, l'éosine, l'iodéosine, la méthyl-éosine, l'alizarine, le rouge de Magdala, la nigrosine, la cyanine, l'indigotine, l'indigocarmin, la picrocarmine, l'acide picrique, l'orcéine, le Kernschwarz. La pyronine, l'alizarine, la cyanine, dénuées d'action empêchante, retardaient manifestement l'apparition de la culture.

Le voile tuberculeux s'impregnait habituellement du colorant, et le bouillon se décolorait à mesure de l'adsorption de la couleur par le voile, ou changeait de couleur sous l'influence de l'action des bacilles. Plusieurs colorants de cette série, comme l'éosine, empêchait la culture en concentration de 1%.

Une partie de ces résultats, plutôt négatifs au sens chimiothérapeutique, peut être utilisée, croyons-nous, pour l'isolement des bacilles tuberculeux des crachats et des produits turberculeux impurs.

Les corps chimiques à l'action inhibitrice prononcée sont rangés à l'ordre descendant dans deux tableaux suivants.

PREMIER GROUPE.

Titre de l'inhibition	Titre de l'inhibition
Cyanure d'or et de potassium 0,0006%	Acide lactique 0,2%
Oxycyanure de mercure 0,002%	Acide salicylique 0,2%
Arsenic colloïdal (approximativement.) 0,002-0,01%	Jode 0,3%
Thymol 0,004%	Gaïacol 0,3%
	Eucalyptol 0,4%
	Amphotropine 0,4%
	Helmitol 0,4%

Titre de l'inhibition	Titre de l'inhibition
Charbon colloïdal (ap- proximativem.) 0,006—0,03%	Salicylate de soude . . . 0,4%
Thiarsol 0,008%	Aspirine 0,4%
Sulfate de cuivre . . . 0,01%	Salicylate de soude et de caféine 0,4%
Acide arsénieux . . . 0,02%	Chlorhydrate de quinine 0,4%
Enésol 0,03%	Gaïasanol 0,6%
Bichlorure de mercure 0,04%	Borovertine 0,6%
Bijodure de mercure . 0,06%	Fibrolysine 0,6%
Cusylol 0,08%	Urotropine 0,8%
Nargol 0,08%	Camphre 0,8%
Menthol 0,1%	Résorcine 0,8%
Hétol 10,1%	Vératrine 0,8%
Sulfidal (soufre colloï- dal—produit impur) 0,10%	Benzoate de soude et de caféine 1%
Phénol 0,2%	

SECOND GROUPE.

Titre de l'inhibition	Titre de l'inhibition
Thioflavine T 0,0004%	Vésuvine 0,02%
Bleu de méthylène . . 0,002%	Bleu marin 0,02%
Cristalviolet 0,004%	Bleu de Victoria 0,02%
Rodamine 0,004%	Bleu de Nil 0,02%
Safranine 0,004%	Thionine 0,02%
Chrysoïdine 0,006%	Schwarzbraun 0,02%
Violet de gentiane. . . 0,01%	Vert de méthylène . . . 0,04%
Crésylviolet 0,01%	Jaune Victoria 0,06%
Aurantia 0,02%	Auramine O. S. 0,06%
Jaune d'aniline (Ani- lingelb). 0,02%	Méthylaurine 0,1%

Les produits principaux de deux groupes seuls ou combinés pourraient être utilisés pour les recherches thérapeu-
tiques.

8. Adam Czartkowski:

Dalsze doświadczenia nad powstawaniem antocyanu u *Tradescantia viridis*.

Komunikat zgłoszony dn. 3 Czerwca 1915 r.

I.

Wpływ rozmaitych związków organicznych na wytwarzanie antocyanu.

W 1911 r. na tem miejscu przedstawiłem wyniki pierwszych moich doświadczeń nad powstawaniem antocyanu u *Tradescantia viridis*. Stwierdziłem wówczas (Spr. Tow. Nauk. Warsz. 1911. IV. str. 24), że u tej rośliny, podobnie jak u wielu innych, czerwony barwnik, antocyanem zwany, powstaje z cukru gronowego oraz innych heksoz i bioz (lewulozy, galaktozy, sacharozy, maltozy i laktozy) oraz z gliceryny. Oprócz tego wskazałem fakt nowy, a mianowicie ten, że w tym samym celu przez roślinę może być użyta floroglucyna oraz florydżyna, glukozyd, zawierający floroglucynę. Zapowiadałem wówczas dalsze doświadczenia nad tworzeniem antocyanu przez wybraną przezemnie roślinę z innych związków organicznych, należących bądź do rzędu węglowodanów, bądź do glukozydów.

Za punkt wyjścia dla dalszych doświadczeń, oprócz wyżej wymienionych wyników moich badań, obrałem fakty i poglądy tych autorów, którzy w czasach ostatnich zabierali głos w tej sprawie.

A więc w r. 1909 R. Combes (C. R. Ac. Sc. Paris 1909. 148, str. 790. Ann. Sc. Natur. Botanique. 9 s. 1909. 275 ibid. 1912. v. XVI) wykazał, że w liściach czerwonych znajduje się zwykle znacznie więcej cukru i glukozydu, niż w zielonych. Np. u *Spiraea paniculata* w liściach zielonych cukry stanowią 2,21%, a glukozyd 1,64% substancji suchej, w czerwonych zaś — cukry — 4,26%, a glukozyd — 6,15%. Zupełnie więc słusznie brzmi jego wniosek: „Il résulte de ces faits, que, quelques soient les causes, qui provoquent le développement de l'anthocyane dans les végétaux, l'apparition de ce pigments semble due à une accumulation de sucres et glucosides“.

Według V. Grafe'go (Sitz. Wien. Acad. 1909. CXVIII. I Abt. 1911. CXX. I Abt.) oraz M. Wheldale'a (Progr. rei botan. III. 1909. Natur. Rund. 1911) antocyan stoi w jakimś związku z flawonami i ksantonami, a M. Nierenstein i M. Wheldale (Ber. deut. chem. Ges. 1911 str. 3487) drogą utlenienia kwercetyny otrzymali nawet jakieś czerwone ciało, nazwane przez nich kwercetonem, które, aczkolwiek nie rozpuszcza się w wodzie, daje jednak charakterystyczne dla antocyanu zmiany zabarwienia pod działaniem alkali i kwasów.

Wobec wyżej przytoczonego hodowałem gałązki *Tradescantia viridis* w wodnych roztworach rozmaitych związków organicznych w ten sam sposób, jak to czyniłem w pierwszych moich doświadczeniach. A więc roztwory były sterylizowane, mieściły się w szklanych naczynkach, przykrytych szklanymi przykrywkami, a gałązki odcięte pod wodą były zawsze starannie wymyte wodą również sterylizowaną. Hodowle stały na oknach zwróconych na południo-zachód i na działanie światła wystawiane były zawsze dolne powierzchnie listków. Każdego dnia oglądałem wszystkie roślinki i zapisywałem skrzętnie stan zabarwienia skórki grzbietowej powierzchni liści. Zaznaczyć muszę, że wszystkie związki były rozpuszczane w wodzie wodociągowej i że jako hodowle kontrolujące stawiałem hodowle w czystej wodzie wodociągowej w 2%-wym roztworze dekstrozy w wodzie wodociągowej oraz w 0,05%-wym roztworze floroglucyny.

Oczywiście wszystkie roztwory były próbowane kilkakrotnie (od 4 do 7-iu razy) i ani razu nie zadawałem się wynikiem otrzymanym w jednym tylko przypadku. Roztwory glukozydów były 0,05%-owe, wszystkich innych związków 2%-owe.

Wypróbowałem następujące związki organiczne:

z grupy *węglowodanów*:

arabinozę, ksylozę, ramnozę, dekstrynę, inulinę;

z *wielowartościowych alkoholów*:

mannit, sorbit, dulcyt;

z *wielowartościowych fenolów*:

inozyt;

z *glukozydów*: florydzynę, glukozo-floroglucynę (sztucznie zsyntezowaną), floretynę, hesperydynę, naringinę, arbutynę, apiinę, eskulinę, kwercetynę, kwercytrynę, salicynę, nareszcie katechinę.

Jako ogólny wynik otrzymałem, że:

antocyjan tworzy się z następujących ciał z pomiędzy wyżej przytoczonych:

mannitu, ksylozy, arabinozy, florydżyny, floretyny, hesperydyny, sztucznej glukozo-floroglucyny, eskuliny i kwercetyny;

antocyjan nie powstaje:

z ramnozy, inuliny, dekstryny, inozytu, naringiny, katechiny, arbutyny i salicyny.

Wyniki niewyraźne otrzymałem w roztworach, zawierających — *dulcyt, sorbit, apiinę i kwercetrynę.*

Innemi słowy, doświadczenia, o których tu mowa, w zupełności potwierdzają moje twierdzenie, wypowiedziane w 1911 r., że w skład antocyanu u *Tradescantia* wchodzi floroglucyna, a co zresztą zostało w tak piękny sposób drogą czysto chemicznej analizy ustalone dla czerwonych barwników innych roślin przez R. Willstaetter'a (Sitz. könig. preus. Ak. der Wiss. 1914. str. 403—411).

Tworzenie się zaś antocyanu z kwercetyny przemawia dobitnie na korzyść pewnego związku genetycznego tego barwnika z flawonami, o czym, jak podałem wyżej, już nieraz mówiono w nauce.

II.

Antocyjan a składniki popiołu.

Obiecującemi nazywa Goebel (Flora 90, 1902. str. 480) poszukiwania nad znaczeniem, jakie dla wytwarzania antocyanu mają azot i składniki popiołu, pobierane przez roślinę.

Pobudzony temi słowami znakomitego uczonego monachijskiego, przedsięwziąłem doświadczenia nad wpływem braku azotu na zjawisko wytwarzania antocyanu i otrzymałem wyniki w tym przypadku bardzo wyraźne: brak związków azotowych w pożywieniu mineralnem rośliny zielonej jest zawsze czynnikiem, pobudzającym wytwarzanie tego barwnika. (Spr. Tow. Nauk. Warsz. VII, 1914, str. 65).

Wobec tego w dalszym ciągu zabrałem się do zbadania, jak działa w danym razie brak rozmaitych innych składników pożywienia mineralnego, czyli części składowych popiołu.

Przyrządziwszy więc szereg roztworów Knop'a, niezawierających poszczególnych pierwiastków, hodowałem w nich gałązki *Tradescantia viridis* i *Tradescantia loekensis* Hort., których liście na dolnej powierzchni były zabarwione mocno antocyjanem w takich samych warunkach, jakie podałem, opisując moje doświadczenia nad wpływem braku azotu (l. c.), a więc w szklanych naczyniach do barwienia, przykrytych szklanymi przykrywkami, w świetle rozproszonym i wystawiwszy liście górną powierzchnią do okna, zwróconego na północ.

Rozumie się, dla kontroli obok hodowli niezawierających: 1) siarki, 2) fosforu, 3) potasu, 4) wapnia i 5) magnezu, stały jeszcze takie same, lecz 6) w zupełnym roztworze Knop'a, 7) w Knopie bezazotowym i 8) w wodzie dystylowanej.

Wyniki obu rzędów hodowli podaję na niżej umieszczonej tablicy: Doświadczenie I i II.

Widzimy, że początkowe, w ciągu pierwszych trzech tygodni przyrastające listki wszędzie, oprócz zupełnego Knop'a, wykazywały obecność antocyjanu, w końcu jednak — po pięciu tygodniach — barwnik zjawiał się ostatecznie na świeżych listkach tych tylko gałązek, które były hodowane w wodzie dystylowanej i w roztworze Knop'a, niezawierającym azotu. Na wszystkich innych gałązkach nowe listki, przyrosłe w ciągu ostatnich tygodni, nie posiadały antocyjanu zupełnie.

Chcąc jeszcze bardziej upewnić się co do przytoczonych wyników, wykonałem jeszcze dwa rzędy doświadczeń, tym razem już tylko z *Tradescantia viridis*, gdyż *Tradesc. loekensis*, niestety, chwilowo zabrakło.

Hodowle były prowadzone w takich samych, co wyżej opisane, roztworach i w tych samych warunkach; stały nawet obok dwóch pierwszych seryi. Liście wszystkich gałązek również miały dolną powierzchnię zabarwioną na czerwono.

Tu, jak widać z tablicy — Doświadczenie III i IV — rezultat był zupełnie pewny: tylko w wodzie dystylowanej i w roztworze Knop'a bezazotowym na nowych listkach wystąpił antocyjan; w innych roztworach brak go było zupełnie.

Pewien wyjątek w obu doświadczeniach stanowią hodowle w roztworze, niezawierającym wapnia; pierwsze listki przyrosłe były przecie słabo zabarwione antocyjanem.

Jako ogólny wynik podanych doświadczeń należy tedy przyjąć, iż tylko brak (wzgl. zmniejszenie ilości) azotu w pożywieniu mineralnem może być czynnikiem wytwarzaniu antocyjanu, brak natomiast jakiegokolwiek ze składników popiołu bynajmniej takiego wpływu nie wywiera.

Takiemu twierdzeniu w zasadzie nic zarzucić nie można; z chwilą zmniejszenia dopływu związków azotowych, jak to już raz zaznaczyłem (l. c., str. 69), słabnie odrazu w znacznym stopniu i wkrótce sprowadza się do minimum synteza białka. Cukier, który normalnie bywa zużywany przy tem zjawisku, pozostaje, skupia się w soku komórkowym i następuje chwila, gdy wytwarzanie antocyjanu staje się wprost koniecznością.

Po przyjęciu tego pozostaje wszakże mniej zrozumiałem, dlaczego brak fosforu i siarki, aczkolwiek pierwiastki te są również do syntezy ciał białkowych niezbędne, nie sprowadza także warunków pomyślnych dla wytwarzania antocyjanu. Da się to chyba wytłómaczyć tem tylko, że pierwiastki te są używane w znacznie mniejszej, niż azot, ilości i że widocznie związki ich albo mogą przewędrowywać z narządów starszych do młodszych, albo znajdują się w postaci zapasów, które w razie potrzeby mogą być uruchomione. Co do pozostałych składników popiołu, mianowicie potasu, wapnia i magnu wszystkie te wątpliwości odpadają, nie mamy bowiem żadnych danych, któreby dawały nam możność przewidywania analogicznego do azotu działania. Owszem, prędzej odrazu moglibyśmy z góry przewidywać, że ich brak nie będzie działał pobudzająco na proces powstawania antocyjanu, gdyż związki ich nie przyjmują bezpośredniego udziału w syntezie białek i ich brak nie może wskutek tego osłabiać przeróbki cukru.

W literaturze niewiele mamy dotychczas danych co do wpływu składników popiołu na zjawisko wytwarzania antocyjanu.

Zajmowali się tą sprawą dotychczas poniekąd Suzuki (Bull. Col. Agr. Tokyo. VII, str. 29) i H. Colin (C. R. Ac. Sc. Paris, 148, 1909, str. 1531).

Pierwszy stwierdził, iż u *Hordeum* brak fosforu wywołuje tworzenie się antocyjanu, drugi zaś twierdzi, że „il faut donc conclure, que, tout ou moins, l'accumulation dans la cellule d'une forte proportion de composés minéraux, tels que chlorures

№	Objekt.	Daty	Woda dystylowana	Knop	— N	— S
I	<i>Tradescantia loekensis</i>	28.VII	—	—	—	—
		11.VIII	—	1 nowy—antocyan słaby.	1 nowy—antocyan mocny.	uschła
		18.VIII	1 nowy—antocyan mocny.	2i nowy—bez antocyanu.	—	—
		25.VIII	2i nowy—antocyan mocny.	3i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	—
		2.IX	—	4 nowy—zielony.	2i nowy—antocyan. 3i nowy—antocyan.	—
II	<i>Tradescantia viridis</i>	28.VII	—	—	—	—
		11.VIII	—	1 nowy—zielony.	—	1 nowy—antocyan wyraźny.
		18.VIII	1 nowy—antocyan mocny.	2i nowy—zielony.	1 nowy—antocyan mocny.	—
		25.VIII	—	—	—	2i nowy—zielony.
		2.IX	—	3i nowy—zielony.	2i nowy—antocyan wyraźny.	3i nowy—zielony.
III	<i>Tradescantia viridis</i>	10.VIII	—	—	—	—
		24.VIII	1 nowy—antocyan słaby.	1 nowy—zielony.	1 nowy—antocyan mocny.	1 nowy—zielony.
		2.IX	—	2i nowy—zielony.	—	2i nowy—zielony.
IV	<i>Tradescantia viridis</i>	10.VIII	—	—	—	—
		24.VIII	—	1 nowy—zielony.	—	1 nowy—zielony.
		2.IX	1 nowy—antocyan słaby.	2i nowy—zielony.	1 nowy—antocyan wyraźny.	2i nowy—zielony.

— P	— K	— Ca	— Mg
—	—	—	—
1 nowy—antocyan mocny.	1 nowy—antocyan mocny.	1 nowy—antocyan mocny.	1 nowy—antocyan mocny.
2i nowy—antocyan mocny.	2i nowy—antocyan mocny.	2i nowy—antocyan mocny.	2i nowy—antocyan słaby.
3i nowy—zielony.	3i nowy—zielony.	3i nowy—zielony.	3i nowy—zielony.
4 nowy—zielony.	4 nowy—zielony.	4 nowy—zielony.	4 nowy—zielony.
—	—	—	—
1 nowy—antocyan mocny.	—	1 nowy—antocyan mocny.	—
2i nowy—zielony.	1 nowy—antocyan wyraźny.	—	1 nowy—zielony.
3i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	—	2i i 3i nowe—zielone.
4 nowy—zielony.	3i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	4 nowy—zielony.
—	—	—	—
1 nowy—antocyan wyraźny.	1 nowy—zielony.	1 nowy—antocyan słaby.	1 nowy—zielony.
2i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.
—	—	—	—
1 nowy—zielony.	1 nowy—zielony.	1 nowy—antocyan słaby.	1 nowy—zielony.
2i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.	2i nowy—zielony.

de sodium et de magnesium ne s'oppose pas à la production de l'anthocyane“.

Moje wyniki zgadzają się poniekąd z wnioskiem Colin'a, stają zaś w sprzeczności do drugich, zdobytych przez Szuuki'ego.

Oczywiście, tylko dalsze poszukiwania mogą nam tę sprawę wyjaśnić.

Warszawa. Uniwersytet.

Pracownia anatomii i fizjologii roślin.

Czerwiec 1915.

RÉSUMÉ.

Adam Czartkowski:

Nouvelles recherches sur la formation de l'anthocyane chez *Tradescantia viridis*.

Communication annoncée le 3.VI. 1915.

I.

Dans une note, publiée il y a quelques années (C. R. Soc. Sc. Varsovie. IV. 1911 p. 24) j'ai démontré que la phloroglucine est un composant de l'anthocyane chez *Tradescantia viridis*. Ce pigment se forme toujours, quand on cultive les branches de *Tradescantia* dans une solution aqueuse de ce phénol (0,05%).

Dans la première partie de la communication, que je fais à présent, je donne les résultats des mes nouvelles recherches sur la formation du pigment anthocyanique chez la même plante au dépens de plusieurs composés organiques.

Je constate que chez *Tradescantia viridis* on peut provoquer la formation de l'anthocyane en cultivant des branches de cette plante dans les solutions aqueuses de hydrocarbonés (2%) et glucosides (0,05%) suivantes:

Mannite, xylose, arabinose, phloridzine, phlorétine, glucosophloroglucine, esculine et quercétine.

Les cultures dans les solutions contenant: rhamnose, inuline, dextrine, inosite, naringine, catéchine, arbutine et salicine, n'ont donné de résultats positifs.

II.

En 1914 j'ai constaté (C. R. Soc. Sc. Varsovie. VII, 1914. p. 65), que l'absence d'azote dans la solution minérale produit toujours chez *Tradescantia viridis* et *Tr. loekensis Hort.* la formation du pigment anthocyanique.

Dans la deuxième partie de ma note présente je montre que l'absence d'autres éléments—à savoir—K, Ca, Mg, P, S, ne produit jamais même résultat.

Les branches de *Tradescantia viridis* et *Tr. loekensis*, cultivées dans les solutions de Knop dépourvues des éléments mentionnées plus haut forment après quelques semaines des feuilles toutes vertes sans aucune trace de l'anthocyane.

Varsovie.

Laboratoire de Physiologie végétale
de l'Université.

Juin 1915.

OD REDAKCYI.

1. „Sprawozdania” wychodzą w postaci zeszytów miesięcznych i zawierają protokoły posiedzeń naukowych Wydziałów T-wa, drukowane z zachowaniem oddzielnej paginacji dla każdego Wydziału. W miesiącach: lipcu, sierpniu i wrześniu „Sprawozdania” nie wychodzą.

2. Obok działu naukowego, obejmującego nadewszystko: komunikaty, jako też pokazy naukowe oraz dyskusję; w „Sprawozdaniach” podaje się nadto listę obecności oraz, w miarę potrzeby, streszczenie protokołu załatwianych na posiedzeniach spraw bieżących.

Obok komunikatów wygłaszanych na posiedzeniach wedle porządku dziennego, mogą być drukowane również i prace nadsyłane, o ile pochodzą one od członków T-wa w odpowiednich Wydziałach i o ile otrzymane rękopisy gotowe są do druku.

3. Poszczególne artykuły nie powinny w „Sprawozdaniach” przekraczać zakresu 2 arkuszy druku. W przeciwnym razie winny być drukowane w charakterze rozpraw naukowych w seryi „Prac” odpowiedniego Wydziału, w „Sprawozdaniach” zaś podaje się wzmiankę protokólną.

4. Komplet wydanych w ciągu roku zeszytów „Sprawozdań” stanowi rocznik, uzupełniony dodaniem zeszytu Sprawozdania rocznego z działalności T-wa oraz karty okładkowej i spisu rzeczy.

5. Komunikaty jako też objaśnienia pokazów drukuje się, stosownie do życzenia autorów, wraz ze streszczeniami w jednym z czterech języków obcych: francuskim, angielskim, włoskim lub niemieckim.

6. Na koszt redakcyi mogą być umieszczane w „Sprawozdaniach” tylko rysunki tekstowe, o ile nadają się do reprodukcji cynkograficznej.

7. Do czasu ustalenia się pisowni polskiej przestrzega się zasad pisowni Akademii Umiejętności w Krakowie. Wyjątki w tym względzie czyni się jedynie dla autorów prac z zakresu językoznawstwa, o ile nietykalność pisowni została przez nich osobiście zastrzeżona.

8. Przemówienia w dyskusyi składa się sekretarzom Wydziałów, na posiedzeniu. Teksty przemówień w dyskusyi, nadsyłane po posiedzeniu, drukowane nie będą. Rękopisy komunikatów oraz objaśnienia, dotyczące pokazów, należy składać najpóźniej po upływie tygodnia po odbytem posiedzeniu; w przeciwnym razie w „Sprawozdaniach” podaje się tylko tytuł. W tym terminie autorowie winni dostarczyć gotowych klisz cynkograficznych.

9. Autorowie drukowanych w „Sprawozdaniach“ prac otrzymują bezpłatnie 100 zwykłych odbitek łącznie z protokołem ewentualnej dyskusji i streszczeniem w języku obcym. Na żądanie większej liczby odbitek, wyrażone na rękopisie oraz na ostatniej korekcie, mogą otrzymać większą ich ilość, ponosząc koszty broszurowania.

10. Materiał, przeznaczony do druku, winien być pisany na jednej stronie, z pozostawieniem marginesu i wolnego miejsca przed tytułem do notat redakcyjnych.

11. Podkreślenia: Nazwiska, wyrazy lub zdania, które autor chce mieć wydrukowane czcionkami rozstawionymi, należy podkreślać linią punktową. Nazwy techniczne, gatunkowe i t. d. wyróżnia się w druku kursywą, w rękopisie zaś podkreśla się linią pojedynczą. Wyrazy lub znaki wyjątkowego znaczenia, mające być wydrukowane czcionkami grubymi należy podkreślać linią podwójną.

12. Autorowie winni zwracać drukarni przysyłane im korekty w możliwie krótkim czasie; mają też prawo, w przypadkach wyjątkowych, żądać od drukarni przysłania powtórnej korekty. Autorowie zamiejscowi otrzymują tylko jedną korektę. Na ostatniej korekcie autor winien położyć swój podpis oraz wyrazić życzenie co do ilości oddzielnych odbitek.

Cena rocznika w prenumeracie wynosi **rb. 4**; cena każdego pojedynczego zeszytu **kop. 50**.



