

TADEUSZ ŁOSIŃSKI

Studia nad nosicielstwem hemofilnej pałeczki Pfeiffera u świń.

Studies about the harboring of Pfeiffer's hemophilic bacillus in swine.

I. Współczesny pogląd na pałeczki hemoglobinofilne.

Grypa szalała na kontynentach, zbierając miliony ofiar ludzkich, gdy Pfeiffer w roku 1891 wykrył w preparatach z płwociny dotkniętych tą chorobą ludzi drobnoustroje, które dzisiaj nazywamy pałeczkami influenzy Pfeiffera. Rosły one jedynie na pożywkach zawierających krew. Na tej podstawie uznał Pfeiffer hemoglobinę za składnik krwi, którego obecność w podłożu jest warunkiem niezbędnym dla wzrostu pałeczek influenzy. W ten sposób Pfeiffer wprowadził pojęcie drobnoustrojów hemoglobinofilnych i odkrył pierwszego przedstawiciela tej grupy. Po pierwszej wojnie światowej zwrócono uwagę na występujące w Stanach Zjednoczonych A. P. często równocześnie z epidemiami influenzy u ludzi, schorzenie świń, które cechami swymi różniło się od wszystkich innych chorób świń a zwłaszcza od pomoru. Schorzenie to nazwano influenżą świń (Swine influenza, Swine-flu, Hog-flu.).

W roku 1931 Lewiś i Shope, z zapalnie zmienionych części płuc dotkniętych tą chorobą świń, wyhodowali na agarze z krwią zarazki, należące do grupy bakterii hemoglobinofilnych, których dokładnym badaniem mikroskopowym, hodowlanym i serologicznym nie można było odróżnić od pałeczki influenzy Pfeiffera. Zarazek ten dominujący stale w florze bakteryjnej zmienionych części płuc nazwano: haemophilus influenzae suis. W dalszych badaniach, Shope wykazał niezbicie, że obraz chorobowy influenzy świń powstaje przez współdziałanie dwóch

komponentów: pałeczki grypy świń i zarazka przesykalnego, przy czym virus ten działa pierwotnie a *haemophilus influenzae suis* pełni rolę wtórną. Działanie obu czynników chorobowych, daje klinicznie i anatomicopatologicznie typowy obraz grypy świń. Smith, Andrewes i Laitla w udowodnili że sprawca ludzkiej grypy jest przesykalnym wirusem i że wywołuje typowe schorzenie.

Köbe opierając się na spostrzeżeniach Shope'a i Lewisa, wyjaśnił etiologię grypy prosiąt. Analogicznie do amerykańskiej grypy świń, grypa prosiąt powstaje przez działanie dwóch czynników zakaźnych; cechującego się dużym pneumotropizmem wirusa i hemofilnej pałeczki grypy świń. Z patologicznie zmienionych części płuc, można zawsze w początkowym okresie choroby wyhodować na agarze z krwią pałeczki należące do grupy bakterii hemoglobinafilnych, wykazujące w swych własnościach morfologicznych i hodowlanych zupełne podobieństwo do pałeczki Pfeiffera. Köbe nazwał tę pałeczkę: *bacterium influenzae suis*, a Glässer nazywa ją pałeczką paragrypy: *bacterium parainfluenzae*.

Charakterystyka bakterii hemoglobinafilnych.

Pałeczki hemofilne dzielimy na trzy grupy:

- I. Pałeczki hemofilne narządu oddechowego
 - a) *haemophilus influenzae*
 - b) „ *haemoliticus*
 - b) „ *pertussis*.
- II. Pałeczki hemofilne wywołujące *conjunctivitis*
 - a) *haemophilus conjunctivitis*
 - b) „ *lacunatus*.
- III. Pałeczki hemofilne w narządach płciowych
 - a) *haemophilus Ducreyi*
 - b) „ *canis*
 - b) „ *melaninogenicus*.

Właściwości hodowlane pał. Pfeiffera.

Na agarze z krwią po 24 g. wzrostu przy temperaturze 37°C, obserwujemy półprzeświecające, wielkości od końca szpilki do główki od szpilki kolonie, posiadające nieznaczną skłonność do konfluacji. Kolonie te oglądane pod mikroskopem przy słabym powiększeniu, podobne są do kropelek wody, homogenne o gładkich brzegach i posiadają często w środku silniej załamujący światło wzgórek. Pałeczka Pfeiffera uważana dawniej za ścisłego tlenowca rośnie według najnowszych badań Köbego i Eirunda również w warunkach beztlenowych. Optimum reakcji pożywki dla pałeczek hemoglobinafilnych leży w granicach p. H. 7,2—7,5. Margaretta Pittman, Chandler, Fothergill i Dingle przyjmują, że *haemophilus influenzae* może ulegać

potrójnej dysocjacji morfologicznej i rosnąc na skutek tego w trzech formach: w postaci „M” śluzowatej, „S” gładkiej i „R” szorstkiej. Postacie „M” i „S” dają w obrazie mikroskopowym pierwsza otoczkowe, druga bezotoczkowe „Coccobacille” lub krótkie pałeczki równego kształtu i barwienia, postać natomiast „R” bezotoczkowe długie pałeczki, maczugi lub niteczki nieregularnej wielkości i barwienia.

Badania Davisa wykazały, że zawartość hemoglobiny w podłożu w stosunku 1:180.000 wystarcza pałeczkom influenzy do wzrostu. Ta nikła konieczna ilość hemoglobiny podważyła tezę Pfeiffera.

Grassberger a później Meunier zwrócili uwagę na t.zw. satelityzm hodowlany pałeczek influenzy, polegający na pojawieniu się na nieogrzanim agarze z krwią, w sąsiedztwie paciorkowca złocistego (*St. aureus*) t. zw. kolonii olbrzymich pałeczek Pfeiffera. Neisser nazwał te bakterie wzmagające wzrost „mankami”, a wielu innym badaczom udało się wykazać tę zdolność u szeregu innych bakterii. Działanie „bakterii mamek” jest tak wybitne, że Cantani i Neisser zdolali przy ich pomocy wyhodować pałeczki influenzy na podłożu nie zawierającym hemoglobiny.

Badacze amerykańscy Davis, Rivers, Thiötta i Avery udowodnili, że krótkotrwale ogrzanie krwi do 60—100°C. ulepsza jej wybiórcze właściwości jako pożywki dla pałeczek influenzy, podczas gdy ogrzanie jej do 120°C. znosi całkowicie tę jej właściwość. Dodanie jednak, do tej autoklawowanej krwi ekstraktów z tkanek zwierzęcych lub roślinnych a również ekstraktów czy filtratów bakterii regeneruje ją z powrotem. Wszystkie te odkrycia, sprowadziły problem potrzebnych pałeczkom influenzy do wzrostu substancji, do dwóch czynników wzrostowych: czynnika V i czynnika X. Zawarty w surowicy i w plazmie erytrocytów czynnik V, uważany dawniej za witaminę „C” jest według najnowszych badań A. i M. Lwoffa termolabilnym koenzymem, który może być przez większość bakterii syntetyzowany i który chemicznie jest amidem kwasu nikotynowego. Czynnik X jest według Hayesa derywatem hemoglobiny, który tworzy się przy ogrzewaniu krwi i posiada strukturę chemiczną podobną do struktury hematyny. Jest on termostabilnym połączeniem żelaza i może powstawać z nieorganicznego żelaza na skutek działania bakterii. Zawierają go również pewne rośliny jak na przykład ziemniaki i banany. Prawdopodobnie oba czynniki V i X pełnią rolę fermentu. Pod współczesnym pojęciem bakterii hemoglobinofilnych a ściślej mówiąc hemofilnych, rozumiemy te bakterie, które do swego wzrostu na sztucznych pożywkach wymagają obecności czynników wzrostowych V i X i które same nie są w stanie czynnika V wytwarzać. Brandt przyjmuje, że oprócz obecności czynników V i X do dobrego wzrostu pałeczek hemofilnych konieczna jest jeszcze nieobecność znajdującego się w aktywnej surowicy konia termolabilnego czynnika hamującego.

Pałeczka grypy wykazuje pod względem aktywności biochemicznej nadzwyczaj słabą żywotność. Około 60% szczepów pałeczek grypy ludzkiej wytwarza indol i Klieneberger uważa tę zdolność za stałą cechę biologiczną tych pałeczek. W odróżnieniu od nich pałeczka amerykańskiej grypy świń i pałeczka grypy prosiąt nie wytwarzają indolu. Bakos jednak na podstawie przeprowadzonych w ostatnich czasach badań przyjmuje, że przy pomocy ulepszonych metod wykrywania indolu (próba Mallone) można i u tych pałeczek wykazać słabe wytwarzanie indolu. Zdolność rozkładu różnego rodzaju cukrów jak i własności serologiczne nie dają konkretnej wskazówki umożliwiającej odróżnienie pałeczki grypy od innych bakterii czy też podział jej na podgrupy lub typy.

Na podstawie aglutynacji ustalił Small-Dickson 4, Shigeno 10, Yagi 14, a Iizuka nawet 50 serologicznie różnych typów pałeczki Pfeiffera. Jamada na podstawie odczynu indolowego i na podstawie tworzenia katalazy, dzieli szczepy pałeczek Pfeiffera na 4 grupy. Margaretta Pittman przez splukanie otoczkowej postaci pałeczki Pfeiffera otrzymała roztwór polisacharydu, który ze swoistą surowicą odpornościową królika, zawierającą antywielocukrozę dawał jeszcze jak potwierdziły badania Dingle'a i Fothergilla dodatnią precypitację w rozcieńczeniu 1:12 milionów. Zależnie od wyniku tej precypitacji, dzieli Margaretta Pittman pałeczki Pfeiffera na 2 serologiczne grupy: a) i b). Grupa b), do której należały wszystkie szczepy wyisobnione z zapaleń opon mózgowych, cechowała się wysoką wirulencją i dawała na podłożach stałych kolonie typu „M” (śluzowate). Dwa dalsze antygeny o charakterze proteinyowym (ant. „M” i „P”) wyisobnił z ciała bakteryjnego Platt. Usiłowania Pfeiffera i Becka wywołania objawów chorobowych podobnych do grypy drogą sztucznego zakażenia czystymi hodowlami pałeczek grypy u myszy, świnek morskich, szczurów, królików i gołębi dały wynik ujemny. Cecil i Blake potrafili u małych, sztucznie zakażonych przez wstrzykiwanie do tchawicy jak i przez wkraplanie do nosa bulionowej hodowli pałeczek Pfeiffera, wywołać powstanie podobnych do grypy objawów chorobowych i uzyskać z płuc zakażonych i zabitych małych czyste hodowle tych pałeczek. Dożylnie iniekcje czystych kultur a specjalnie hodowli uprzednio zabitych, wywołują u zwierząt doświadczalnych a głównie u królików silne objawy toksyczne.

De Torregrossa i Francis stwierdzili, że niektóre szczepy pałeczek Pfeiffera przy domózgowym zakażeniu myszy białych, posiadają własność zakażenia śmiertelnego. Udało im się w ten sposób względnie określić wirulencję badanych szczepów, z których niektóre jeszcze w rozcieńczeniu 1:1 milion dawały zejście śmiertelne zakażonych domózgowo myszy. Błażkowić na podstawie przeprowadzonych

doświadczeń z typem „b” pałeczki Pfeiffera, wprowadzonej dożylnie królikom twierdzi, że zmiany wywołane przez ten zarazek w organizmie królika powstają: 1) przez działanie toksyn, 2) przez zjadliwość i działanie toksyn, przy czym tę drugą formę infekcji uważa za charakterystyczną dla tej pałeczki.

B a d a n i a w ł a s n e .

Grypa prosiąt i influenza świń odgrywają poważną rolę epizootologiczną w hodowli trzody chlewnej. Nikt dotąd w Polsce nie przeprowadził badań w tym zakresie. Postanowiliśmy zacząć cykl badań od zagadnień nosicielstwa, poczem zajmiemy się wpływem sulfamidów i penicyliny (synergetycznie) na drobnoustroje w/w schorzeń, co może mieć znaczenie praktyczne.

a) Technika badań.

Do badania nosicielstwa pałeczki Pfeiffera u świń, służył mi materiał rzeźny w rzeźni miejskiej oraz nadsyłane do W. Z. H. W. prosięta i płuca prosiąt. Ponieważ pałeczka influenzy przez działanie czynników obronnych ustroju jak i przez pośmiertną autolizę ulega szybko zniszczeniu, poddawałem materiał, nadsyłany do W. Z. H. W. badaniu jedynie wtedy, gdy na podstawie wywiadu należało przyjąć, że materiał pochodzi ze zwierzęcia, którego śmierć nastąpiła nie później jak 9 godzin przed dostarczeniem materiału do pracowni. Materiał poddany badaniu w rzeźni miejskiej, pochodził z świń rzeźnych niewykazujących żadnych objawów chorobowych. Celem uniemożliwienia badanemu zwierzęciu zachłystywania się treścią pokarmową, krwią i wrzątkiem z kotła rzeźniarnego, wkładałem świni bezpośrednio po ogłuszeniu do krtani i tchawicy wyjałowiony drewniany kolek o kształcie wydłużonego stożka, uzyskując tym sposobem po uboju płuca wolne od zanieczyszczeń. Rozwidlenie tchawicy, oskrzele prawe i lewe oraz mięsz prawego i lewego płatu w dolnej 1/3 partii płuc były tymi miejscami z których po przypaleniu mykauterem pobierałem materiał pipetą pasteurowską i wysiewałem na płytkę z agarem Levinthala. Jeśli w płucach stwierdziłem ogniska zapalne pobierałem materiał w sposób jałowy również z tych miejsc i wysiewałem na dodatkową płytkę. Materiał rozprowadzałem na płytkach zgiętym kolankiem pipety pasteurowskiej w dwóch prostopadłych do siebie kierunkach. Agar Levinthala sporządzałem w następujący sposób: do jednego litra o p. H. 7,5 wyjałowionego, 1,5 — 2% agaru odżywczego Mercka Standard I. po ostudzeniu do temperatury 70° C. dodawałem wolno pipetą ustawicznie mieszając 100 cm³ świeżo pobranej, odwłóknionej krwi konia. Mieszaninę tę wstawiałem następnie na 5 minut do znajdującego się w stanie wrzenia aparatu Kocha, poczym w suchym sterylizatorze przy temperaturze 60° C. pod stałą kontrolą tej temperatury filtrowałem ją przez cienką warstwę nie odtłuszczonej waty,

dając pierwszą część przesączu jeszcze raz na filtr. Przesącz rozlewałem na płytki i po skontrolowaniu ich jałowości dawałem je na 48 g. do lodówki.

Pobyty płytek w lodówce jest konieczny i ważny ze względu na zmiany jakim ulega w niskiej temperaturze zawarta w podłożu krew, powodując zwiększenie wybiórności pożywki dla pałeczek influenzy. Sporządzony w opisany sposób agar nie różni się napozór niczym od agaru zwykłego. Dokładnym jednak oglądaniem można zauważyć zawieszony w nim równomiernie, delikatny pył krwi. Wyrosłe na agarze tym po 24, 48 godz. i po 3-ch dniach kolonie, odpowiadające kształtem i wyglądem koloniom pałeczek influenzy, przeszczepiałem na amerykański agar czekoladowy Sh o p e ' a i L e w i s ' a w modyfikacji Brandta.

Amerykański agar czekoladowy (Sh o p e - L e w i s):

Do wyjałowionego 1,5—2% agaru odżywczego o p. H. 7,5 po oziębieniu do temperatury 60°C. dodaje się pipetą 5% świeżo pobranej i odwłóknionej krwi konia, mieszając wysterylizowaną pipetą wolno, dokładnie i ostrożnie aby nie spowodować powstania baniek powietrznych. Mieszaninę tę wstawia się na przeciąg jednej godziny do łaźni wodnej o temperaturze 60—65°C. i rozlewa następnie na płytki. Modyfikacja Brandta polega na uprzednim hemolizowaniu dodawanej do agaru krwi przez wymieszanie jej w równych ilościach ze sterylizowaną wodą destylowaną i dodaniu 10 ciu % tej hemolizowanej krwi do agaru. Płytki z agarem czekoladowym daje się na 3 dni do lodówki. Przy sporządzaniu agaru L e v i n t h a l a jak i agaru czekoladowego należy dokładnie przestrzegać podanych w przepisach temperatur jak i terminów, ponieważ nieznaczne przekroczenie tych norm obniża wydatnie wartość podłoża, dając na nim w efekcie słaby i nikły wzrost pałeczek P f e i f f e r a . Zawartość agaru w podłożach nie powinna przekraczać 2%, ponieważ pałeczki influenzy tym lepiej rosną im niższa jest koncentracja agaru. Przed użyciem podłoża do badań należy próbne płytki z wymienionymi podłożami zasiać znanym szczepem pałeczek influenzy i w ten sposób skontrolować ich jakoś i dobroć. Z wyrosłych w czystej hodowli na agarze czekoladowym kolonii, te które, zachowaniem swoim i wyglądem odpowiadały koloniom pałeczek influenzy P f e i f f e r a i które równocześnie okazały się pałeczkami gramoujemnymi, przeszczepiałem ponownie na agar czekoladowy, agar zwykły i na agar G a s s n e r a . Jeśli wzrost nastąpił tylko na agarze czekoladowym i kolonie te były gramoujemnymi, nieruchomymi, pleomorficznymi pałeczkami lub formami typu „Coccobacille“ odpowiadającymi pod względem morfologicznym pałeczkom P f e i f f e r a , uznawałem je za pałeczki influenzy i poddawałem je dalszej analizie bakteriologicznej.

b) Wyniki badań.

Ogółem zbadałem w opisany wyżej sposób, 100 płuc świń rzeźnych oraz 20 płuc prosiąt nadesłanych do W.Z.H. W. Prócz tego przebadalem w ten sam sposób 30 płuc świń rzeźnych, używając do badań identycznie sporządzonych podłoży jak poprzednio opisane, zawierających jednak zamiast krwi konia, te same ilości świeżo pobranej, odwołknionej krwi świni. Na 100 świń rzeźnych, przebadanych na podłożach zawierających krew konia u 14 sztuk stwierdziłem obecność hemofilnych pałeczek Pfeiffera izolując je ogółem z 16 miejsc w płucach. Na 20 zbadanych prosiąt, stwierdziłem u 5 sztuk pałeczki influenzy, wyosobniając je ogółem z 8 miejsc w płucach, a u 30 świń zbadanych na podłożach, zawierających krew świni wyizolowałem jedynie w 2 wypadkach z płuc pałeczki influenzy. Z płuc świń klinicznie zdrowych izolowałem zawsze tylko nieznaczne ilości pałeczek influenzy. Przeważnie wyrastały tylko pojedyncze kolonie. Z płuc natomiast prosiąt chorych z typowymi dla grypy prosiąt zmianami płucnymi, izolowałem w większości wypadków znaczne ilości kolonii pałeczek influenzy a szczepy Z. 8a, Z. 8b i Z. 4 wyrosły prawie w czystej hodowli.

Z tkanki płucnej zapalnie zmienionej (miąższu płuc) nie udało mi się ani razu wyizolować hemofilnej pałeczki influenzy, co świadczyłoby o tym, że w miarę starzenia się procesu chorobowego pałeczki te zostają wyparte i to stosunkowo szybko przez inne bakterie. Szczegółowe dane, dotyczące pochodzenia wyosobnionych szczepów przedstawia załączona tablica nr. I.

c) Analiza bakteriologiczna wyosobnionych szczepów.

1) Właściwości hodowlane.

Do bezpośredniego wysiewu materiału wybrałem celowo agar Levlntħala, ponieważ w wstępnych, poprzedzających niniejszą pracę badaniach stwierdziłem, że to podłoże najlepiej umożliwia dzięki swej przejrzystości wychwytywanie i wyizolowanie pojedynczych, drobnych kolonii pałeczek Pfeifferowskich z pośród plejady innych kolonii. Przy bezpośrednim wysiewie materiału z płuc, cząsteczki krwi, śluzu i flora bakteryjna płuc zostają rozprowadzone wraz z pałeczkami influenzy na płytce, ulepszając to podłoże dla bardzo delikatnych i wybrednych pod względem czynników wzrostowych pałeczek influenzy. Na agarze Levlntħala pałeczka Pfeiffera rośnie w postaci delikatnych, podobnych do kropel wody kolonii, wielkości końca od szpilki do główki od szpilki, przeświecających w świetle przechodzącym. Kolonie te oglądane w świetle półprzechodzącym wykazują charakterystyczną opalescencję o oryginalnym sino-niebieskawym odcieniu. Przez odpowiednie przesuwanie płytki z kierunku nawprost źródła światła na boki i odpowiednie pochylanie płytki, można kolonie te łatwo odróżnić od innych. Źródło światła nie może być jednak za silne, specjalnie ostrożnym należy być pod tym

względem przy używaniu światła elektrycznego. Do hodowli wyizolowanych z płuc pałeczek influenzy, używałem amerykańskiego agaru czekoladowego, ponieważ na nim pałeczki te rosną najlepiej, tym bardziej, że materiał jaki obecnie wysiewano był materiałem czystym, wolnym od innych bakterii, krwi i śluzu a kwestia przejrzystości podłoża nie odgrywała już w dalszej hodowli roli. Na agarze tym pałeczki influenzy rosły po 24 godz. w postaci delikatnych, małych, okrągłych, półprzeświecających o równych, ostrych brzegach kolonii, które przy oglądaniu przez lupę wykazywały przeważnie silnie załamujący w środku światło wznórek. Kolonie te o ile były dobrze izolowane osiągały po 48 godz. przekrój 1 mm., przybierając równocześnie ton bardziej szary. Przy bujnym wzroście wykazywały one skłonność do konfluacji. Wyizolowane przeze mnie szczepy nie we wszystkich generacjach dawały równy na agarze czekoladowym wzrost. Niektóre rosły na nim w pewnych generacjach bardzo skąpo. Celem przekonania się które z podłoży zawierających poddaną działaniu wyższej temperatury krew konia najlepiej nadaje się do hodowli pałeczek influenzy, wysiewałem wyizolowane szczepy na agar Levinthala, agar czekoladowy Shope'a i Lewisa, agar czekoladowy w modyfikacji Brandta oraz na agar czekoladowy według A. Hjærre i G. Wramby. Ostatnie z wymienionych podłoży różni się tym od amerykańskiego agaru Shope'a i Lewisa, że dodaje się nie 5% lecz 10% krwi konia do agaru o temperaturze 70°C. i następnie mieszaninę tę przetrzymuje się przez 20 minut w łaźni wodnej o temp. 65—70°C. Wszystkie szczepy rosły najlepiej na agarze czekoladowym według A. Hjærre i G. Wramby oraz na agarze czekoladowym w modyfikacji Brandta, dając na tych podłożach zawsze bujny i pewny wzrost. Wszystkie szczepy nie rosły na agarze zwykłym, na agarze Gassnera, na ziemniaku i na żelatynie. Na agarze zwykłym, po obfitym rozproszaniu materiału na płytce, można było obserwować t.zw. kannibalizm, polegający na widocznym powiększeniu się rozproszanego materiału w postaci jak gdyby lekkiej śluzowatej mgiełki na początku pierwszych linii poprowadzonych eż, bez możliwości jednak rozpoznania nawet przy pomocy lupy jakiegokolwiek śladu wytworzenia kolonii. Objaw ten należy uważać według Kollatha za wzrost i rozmnażanie się pałeczek hemofilnych kosztem obumarłych ciał bakteryjnych swych współtowarzyszy, dostarczających w ten sposób potrzebnych do wzrostu czynników.

Na nieogrzany agarze z krwią konia sporządzonym przez dodanie do 2% agaru o temp. 50°C. 5% świeżo pobranej, odwłóknionej krwi konia, tylko 4 szczepy rosły stosunkowo dobrze, jednak słabiej aniżeli na agarze czekoladowym, reszta zaś nie rosła zupełnie lub też dawała wzrost słaby lub minimalny. Na identycznie sporządzonym agarze z krwią barana, większość szczepów nie dawała wzrostu, reszta rosła tylko

w sąsiedztwie bakteryjnych zanieczyszczeń z powietrza, pełniących rolę kolonii-mamek lub też w pewnych tylko miejscach podłoża na których rozprowadzono więcej materiału, zwłaszcza na zagięciach linii poprowadzonych eż przy wysiewaniu. Nieliczne tylko szczepy dawały w pewnych generacjach i na tym agarze stosunkowo dobry wzrost. Odnosiło się to szczególnie do szczepów starszych, które z racji dłuższego hodowania na sztucznych podłożach, przyzwyczyły się już do mniej pomyślnych warunków życiowych. Z pośród agarów z nieograną krwią, agar z krwią królika dawał u wyosobnionych przeze mnie szczepów stosunkowo najlepszy wzrost, jednak słabszy od wzrostu na agarze czekoladowym. Na agarze czekoladowym sporządzonym z krwi świni, wszystkie szczepy rosły słabiej aniżeli na odpowiednim agarze z krwią konia. Na nieogranym agarze z krwią świni wszystkie szczepy dawały wzrost minimalny z typowym zjawiskiem satelityzmu hodowanego lub nie rosły na nim zupełnie. Jedynie 2 szczepy, wyizolowane na podłożach zawierających odpowiednie ilości krwi świni, dawały i na tym agarze dobry wzrost. Satelityzm hodowany na nieogranym agarze z krwią w obrębie kolonii-mamek jest nadzwyczaj charakterystycznym dla pałeczek influenzy zjawiskiem, występującym na podłożach nie zawierających dostatecznych ilości potrzebnych do wzrostu czynników V i X. Można go zauważyć również na agarze czekoladowym, na którym objawia się w postaci wzmożenia wzrostu i pojawienia się dużych kolonii pałeczek influenzy w sąsiedztwie innych kolonii.

Długość życia kolonii pałeczek influenzy wahała się w granicach od 5—8-10 dni. Kolonie utrzymywały się najdłużej przy życiu, gdy po 24 g. pobycie w cieplarni pozostawiono płytki w temperaturze pokojowej, chroniąc je przed bezpośrednim działaniem światła dziennego. Kolonie należy przeszczepiać co 4—5 dni, ponieważ u niektórych delikatnych szczepów, można już po 5-ciu dniach wzrostu nie otrzymać. Na bulionie z krwią konia, sporządzonym w ten sposób, że do 100 cm³ bulionu odżywczego *Merc k a S t a n d a r d l. o p. H. 7,5* dodawałem po ostudzeniu do temperatury 60^oC. 5 cm³ świeżej, odwłóknionej krwi konia, ogrzewając mieszaninę tę aż do ukazania się pierwszych śladów wrzenia, wszystkie szczepy rosły dobrze, dając na nim lekkie zmętnienie.

Na identycznym bulionie z warstewką parafiny, większość szczepów dawała wzrost, przy czym niektóre z nich dawały na nim bardzo delikatne, ledwo widoczne zmętnienie.

2) M o r f o l o g i a .

Charakterystyczną cechą obrazu mikroskopowego preparatów sporządzonych z wyrosłych kolonii pałeczek influenzy, jest rzucający się w oczy polimorfizm pałeczek. Na obraz ten składają się ziarenka, leżące pojedynczo lub podwójnie imitując dwoinki, delikatne krótsze i dłuższe

pałeczki, proste i zakrzywione oraz w mniejszej lub w większej ilości typowe dla tych pałeczek długie cieńsze i grubsze nitki. Obraz odpowiadający francuskiemu pojęciu „Coccobacille Pfeiffer“ składający się z samych ziarenek i delikatnych pałeczek był postacią rzadziej spotykaną a dokładnym oglądaniem w większości wypadków można było i w nim znaleźć rozrzucone w dużych odstępach, krótkie nitki. Zdolność wytwarzania nitek, potęgowała się u pewnych szczepów w pewnych generacjach do tego stopnia, że długie poplątane nitki wypełniały prawie całkowicie obraz mikroskopowy preparatu. Ta zdolność wytwarzania nitek malała przy dalszych przeszczepieniach nie znikając jednak nigdy zupełnie, by w pewnej generacji pojawić się na nowo w nadzwyczaj spotęgowanej formie jako wyraz napotkania złych warunków życiowych. Pałeczki influenzy nie wytwarzały zarodników a w kropli wiszącej, przy silnym ruchu molekularnym nie wykazywały ruchu liniowego. Najlepiej barwiły się rozcieńczoną w stosunku 1:10 fuksyną karbolową przez 5 — 10 minut. W metodzie Grama uległy odbarwieniu, przy czym ze względu na trudność wchłaniania barwików należy je nieco dłużej podbarwiać fuksyną. Barwią się również dobrze karbolowym roztworem fioleto goryczki jak i roztworem methylenblau Loefflera przez 2—3 min. Bez względu na metodę barwienia, barwią się nierównomiernie, dając obok postaci intensywnie zabarwionych formy o białych, ledwo zarysowanych konturach. Wyhodowane na bulionie z krwią gotowaną, dawały postaci o nadzwyczaj delikatnych kształtach, przy czym zdolność wytwarzania nitek stawała się minimalną i była w porównaniu do tej na podłożach stałych prawie żadna. Jedynym wyjątkiem był szczep „R. 24“, który stale rósł na agarze czekoladowym jako szczep typu „Coccobacille“ bez śladu wytwarzania nitek, a który po przeszczepieniu na bulion z gotowaną krwią zareagował wytwarzaniem nitek na zmianę podłoża. Szczepy których żywotność na agarze czekoladowym była bardzo słaba, niejednokrotnie po przeszczepieniu na bulion z gotowaną krwią i następnym wysianiu na agar czekoladowy, odzyskiwały ją z powrotem.

3) Własności biochemiczne.

Wszystkie wyizolowane przeze mnie szczepy nie wywoływały na podłożach z krwią hemolizy i nie wytwarzały indolu. Wytwarzanie indolu badałem stosując próbę podaną przez Mallone. Badany szczep wysiewałem na czekoladowy agar skośny i po 24 godz. pobycie w termostacie zwilżałem wacik odczynnikami na indol Ehrlicha, wstawiając następnie rurki z agarami na 15 minut do wrzącej wody.

Odczynnik Ehrlicha:

Paradimetylamidobenzaldehyd	4 gr.
Alkohol 97%	380 cm ³
Kwas solny, skoncentr.	80 cm ³

Waciki wszystkich badanych próbek pozostały bez zmian w odróżnieniu od rurki kontrolnej, zaszczepionej pałeczką okrężnicy, której wacik pod wpływem ulatniającego się indolu ulegał zabarwieniu na kolor fioletowo-różowy. Próbę na indol w identyczny sposób powtarzałem z odczynnikami na indol Pringsheima - Neissera oraz z odczynnikiem Kovacsza w modyfikacji Hoffmanna o niżej podanych składach.

Odczynnik Pringsheima - Neissera :

Paradimetylamidobenzaldehyd	5,0
Kwas solny o ciężarze właściw. 1,16	40,0
Alkohol metylowy	50,0

Odczynnik Kovacsza w modyfikacji Hoffmanna :

Paradimetylamidobenzaldehyd	5,0
Kwas solny o ciężarze właściw. 1,16	25,0
Alkohol butylowy (Merck)	75,0

Wszystkie szczepy w obu tych próbach dały również wynik ujemny. Z 3-ch użytych do badań odczynników, w próbie według Mallone przeprowadzonej z szczepem pałeczki okrężnicy, najczulszym okazał się odczynnik Kovacsza w modyfikacji Hoffmanna, zabarwiając wacik badanej próbki już po 2-minutowym pobycie we wrzącej wodzie na kolor amarantowo-różowy. Ponieważ zawarty w próbkach agar czekoladowy, po wstawieniu do wrzącej wody ulega szybko rozpułnieniu, przy czym kłaczkki krwi jako cięższe gromadzą się przeważnie na dnie i w pewnych tylko miejscach próbki, pozostawiając pomiędzy nimi podłoże wolne od krwi o brudno słomkowym kolorze, umożliwiającym obserwowanie ewentualnych zmian zachodzących w jego barwie, stosowałem do badania na indol również próbę podaną przez Hoffmanna.

Próba ta jak podaje w r. 1940 Czapalla nadaje się specjalnie do badania bakterii wytwarzających indol tylko w słabym stopniu i przewyższa pod względem czułości wszystkie inne próby na indol. Skośny agar czekoladowy zaszczepiony badanym szczepem po 24 g. pobycie w termostacie dawałem na 15 minut do wrzącej wody. Po rozpuszczeniu się agaru nadwarstwałem ostrożnie pipetą na jego powierzchnię 1 cm³ odczynnika Kovacsza - Hoffmanna. Celem umożliwienia obu płynom zetknięcia się na jak najszerzej powierzchni, należy próbkę kilkakrotnie ostrożnie pochylać prawie do linii poziomej. W wypadku bakterii indolotwórczych dochodzi do wyciągnięcia tworzącego się czerwonego barwika z głębi podłoża i skoncentrowania go w jednym miejscu. Barwik ten, ostro odgraniczony od płynnego agaru jest w stojącym ponad nim odczynnikiem wyraźnie widoczny w postaci intensywnego czerwono-amarantowego pierścienia. Pierścień ten mimo kilkogodzinnego stania nie słabnie lecz przeciwnie zyskuje jeszcze bardziej na wyrazistości dzięki dalej trwającemu wyciąganiu i koncentracji barwika.

Wszystkie szczepy dały w tej próbie również wynik negatywny. W próbówce kontrolnej zaszczonej pałeczką okrężnicy, wystąpił w tej próbie po nadwarstwieniu odczynnika czerwono-amarantowy pierścień o silnym optycznym kontraście, ostro odgraniczony od podłoża, którego intensywność barwy zwiększała się w miarę stania. Mleko lakmusowe z dodatkiem 5% gotowanej krwi nie ulegało zakwaszeniu przez żaden ze szczepów, mimo wzrostu na nim, pozostając we wszystkich rurkach bez zmian. Wszystkie szczepy redukowały azotany na azotyny. Próbę tę przeprowadzałem w następujący sposób: bulion z gotowaną krwią zawierający 0,1% azotanu potasu szczepiłem dwoma ezami bakterii badanego szczepu. Po 48 godz. dodawałem kilka kropel 0,8% roztworu kwasu sulfanilowego w rozcieńczonym w stosunku 1:20 kwasie siarkowym oraz kilka kropel 0,5% roztworu alfaftyminy w rozcieńczonym w stosunku 1:125 kwasie siarkowym. Wszystkie szczepy rosły na bulionie tym dobrze, wykazując równocześnie po dodaniu wymienionych odczynników, redukcję, objawiającą się czerwonym zabarwieniem bulionu w badanych rurkach.

4) Badanie rozkładu cukru mlekowego.

Wszystkie szczepy nie rozkładały cukru mlekowego. Badanie to miało tok niżej opisany.

Do 200 cm³ bulionu peptonowego o p. H. 7,5 dodawałem 1 gr. cukru mlekowego i po rozpuszczeniu, 1 cm³ 0,5% roztworu bromkrezolpurpury w 96% alkoholu. Do mieszaniny tej dodawałem następnie 8 cm³ bulionu zawierającego 5% gotowanej krwi konia i po wymieszaniu rozlewałem ją do wyjałowionych próbek w ilości po 5 cm³. Próbki te po 3-dniowym pobycie w lodówce szczepiłem dwoma ezami bakterii badanego szczepu. Na bulionie tym, wszystkie szczepy rosły dobrze nie zmieniając jednak nigdy koloru podłoża, które we wszystkich badanych próbkach zachowało swój niebiesko-fioletowy kolor. W próbówce kontrolnej zaszczonej pałeczką okrężnicy nastąpiła już po 24 godz. wyraźna zmiana barwy z niebiesko-fioletowej na słomkowo-żółtą.

5) Badanie zawieszalności kolonii pałeczek influenzy.

Badanie to miało na celu odróżnienie szczepów gładkich „S” od szczepów szorstkich „R”. Wykonywałem je stosując próbę termoaglutynacyjną oraz próbę z roztworem rivanolu według Zagrodzkiego. Próbę termoaglutynacyjną wykonywałem w ten sposób, że 48 godz. hodowlę badanego szczepu na płytce Petri’ego splukiwałem 5 cm³ roztworu fizjologicznego, zbierając kolonie zgiętym kolankiem pipety pasteurowskiej. Otrzymaną w ten sposób zawiesinę gotowałem w łaźni wodnej w ciągu 1 godziny. Wynik odczytywałem bezpośrednio po gotowaniu oraz następnego dnia po pozostawieniu próbek w temperaturze pokojowej. Próbę w roztworze rivanolu wykonywałem dodając do 2 cm³

zawiesiny bakterii badanego szczepu 0,5 cm³ 1-dno 0/0 roztworu rivanolu i pozostawiając próbówki przez noc w cieplarni. W próbie termoaglutynacyjnej 1 z wyosobnionych szczepów dał natychmiast po gotowaniu wybitnie dodatnią aglutynację objawiającą się silnym kłaczkowatym osadem na dnie i ściankach próbówki oraz wyjaśnieniem płynu ponad osadem. Szczep natomiast „R. 72a” dał dopiero dnia następnego pozytywną aglutynację, objawiającą się lekkim osadem w środku z wyraźnym pierścieniem wyjaśnienia od góry o wysokości około 1 cm. W próbie z roztworem rivanolu większość szczepów dała na dnie silny osad z przejrzystym nad nim płynem, dając w ten sposób wynik pozytywny mimo, że w próbie termoaglutynacyjnej większość z nich dała reakcję wybitnie ujemną. Zachowanie się szczepów w tej próbie należy uznać za mało swoiste i trudne do wycenienia z powodu występowania mniej lub bardziej silnych osadów we wszystkich próbówkach.

W n i o s k i.

1) Na 100 zbadanych, klinicznie zdrowych świń rzeźnych u 14 sztuk znalazłem w płucach w nieznacznej ilości hemofilne pałeczki influenzy, co stanowi 14% przebadanego materiału. Z wyizolowanych ogółem z 16 miejsc w płucach szczepów 4 — 25% wyosobniłem z tkanki płucnej (mięszu płuc) świń nie wykazujących w płucach jakichkolwiek zmian anatomo-patologicznych. Wędrowkę pałeczek influenzy w głąb płuc należy uznać za wyraz ich własności patogennych.

2) Z 20 zbadanych, padłych lub dobitych prosiąt z typowymi dla grypy prosiąt zmianami anatomo-patologicznymi w płucach u 5 sztuk—25% badanego materiału, wyizolowałem z płuc hemofilne pałeczki influenzy.

3) Na 30 zbadanych, klinicznie zdrowych świń rzeźnych, wyizolowałem na agarze Levinthala, zawierającym zamiast krwi konia w tym samym stosunku krew świni, jedynie u 2 świń z płuc hemofilne pałeczki influenzy co stanowi 6,6%

4) Krew świni nie nadaje się w tym stopniu co krew konia do hodowli pałeczek influenzy.

5) Z tkanki płucnej zapalnie zmienionej, pałeczki influenzy zostają stosunkowo szybko wyparte przez inne bakterie.

6) Wszystkie wyosobnione szczepy rosły prawie równie dobrze w warunkach beztlenowych jak i tlenowych.

7) Wszystkie szczepy nie rozkładały cukru mlekowego, nie wytwarzały indolu i redukowały azotany na azotyny.

Kierownikowi Zakładu Mikrobiologii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Prof. Dr J. Parnasowi serdecznie dziękuję za udzielenie tematu i pomoc w wykonaniu pracy.

Prof. Dr J. Adamskiemu, Kierownikowi Zakładu Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Poznańskiego za umożliwienie i pomoc w dokonaniu mikrofotografii, jakoteż za możliwość wykorzystania literatury serdecznie dziękuję.

Nr. I.
TABLICA POCHODZENIA WYOSOBNIONYCH SZCZEPÓW
A) Na podłożach zawierających krew konia.

Nr. kolejny	Nazwa szczepu	Opis zwierzęcia i nr. badania	Świnia rzeźna czy chora	Objawy kliniczne choroby	Zmiany anatomo-patologiczne	Miejsce wyosobnienia szczepu					
						Bifurcatio tracheae	Bronchus dexter	Bronchus sinister	Lobus dexter	Lobus sinister	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	R. 5	Świnia nr. 5	rzeźna	klinicznie zdrowa	bez zmian		+				
2	R. 9	" nr. 9	"	"	"		+				
3	R. 14	" nr. 14	"	"	"				+		
4	R. 20	" nr. 20	"	"	"			+			
5	R. 24	" nr. 24	"	"	w prawym szczyście małe zwątrobiałe ognisko zapalne	+					
6	R. 25	" nr. 25	"	"	bez zmian	+					
7	R. 32	" nr. 32	"	"	"	+					
8	R. 44	" nr. 44	"	"	"			+			
9	R. 53 a	" nr. 53	"	"	"			+			
10	R. 53 b	" nr. 53	"	"	"					+	
11	R. 72 a	" nr. 72	"	"	płuca atelektazyjne	+					

ANALIZA BAKTERIOLOGICZNA

A) Z świń klinicznie zdrowych, na

L. P.	Szczep	Obraz mikroskopowy	Stosunek do Grama	Ruch	Agar Lewin-thala	Agar czekolad. zaw. 10 ⁰ / ₀ krwi konia. W. A. Hjäre i G. Wramby	Agar czekolad. zaw. 5 ⁰ / ₀ krwi konia. (Shope-Lewis)	Agar czekolad. zaw. 5 ⁰ / ₀ krwi konia. w mod. Brandta	Agar czekolad. z krwią świni	Agar z krwią konia
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	R. 5	Ziarenka pałeczki, nitki	—	—	+++ (O)	+++	++	+++	(+)	—
2	R. 9	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	+++ (O)	+++	+++	+++	(+)	(O)
3	R. 14	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	(+) (O)	+++	++	++	(+)	+
4	R. 20	Ziarenka, pałeczki, (Coccobacille)	—	—	+++ (W)	++	+	++	++	+
5	R. 24	Ziarenka, pałeczki, (Coccobacille)	—	—	+++ (O)	+++	+++	+++	+	(-)
6	R. 25	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	+++ (W)	++ (W)	+++ (W)	+	(+)
7	R. 32	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	+++ (O)	+++	++	+++	+	(-)
8	R. 44	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	+++	+++	+++	++	+
9	R. 53a	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	+++	++	+++	++	++
10	R. 53b	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	+++	++	+++	++	+(W)
11	R. 72a	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	+++ (W)	+++ (W)	+++	++	++
12	R. 72b	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	+(O)	+++	+	++	+	(-)
13	R. 74	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	++ (W)	++ (W)	+++	++	++
14	R. 81	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	++	+++ (W)	++ (W)	++ (W)	+++	+
15	R. 92	Ziarenka, pałeczki, nitki	—	—	+++ (O)	+++	+	++	(+)	—
16	R. 95	Ziarenka, pałeczki, (Coccobacille)	—	—	+++ (O)	+++	++ (W)	—	(+)	—

WYOSOBNIONYCH SZCZEPÓW

podłożach zawierających krwę konia.

Agar z krwią świni	Agar z krwią królika	Agar z krwią barana	Agar zwykły	Agar Gassnera	Żelatyna	Ziemniak	Bulion z gotowaną krwią konia	Bulion z gotowaną krwią konia z warstwą parafiny	Mleko lakmusowe z gotowaną krwią konia	Redukcja azotanów na azotyny	Próba na indol.	Rozkład cukru mietowego	Próba termoa-glutynacyjna	Próba aglutyn. w roztw. rivanolu
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
-	+	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
-	+	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	+	+++
-	(-)	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
-	++	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
(+) (-)	(+) (-)	(+) (-)(O)	-	-	-	-	+ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
(+) (-)(O)	++	(+) (-)	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
(+) (-)(O)	++	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	++
(+) (-)(W)	++	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	+	+++
(+) (-)(O)	++	+	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
+(W)	++	++(O)	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
+	+	+(O)	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	++	+++
(+) (-)	++	(O)	-	-	-	-	+ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	+++	+++
(O)	++	++	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
(O)	++	++	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	+	+++
(+) (-)(W)	++	-	-	-	-	-	++ lekko zmętn.	++ b. lekko zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
(+) (-)(O)	-	-	-	-	-	-	+ lekko zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	++

B) Z świń chorych, na podło-

Li. p.	Szczep	Obraz mikroskopowy	Stosunek do Grama	Ruch	Agar Lewin-thala	Agar czekolad. zaw. 10% krwi konia. W. A. Hjäre i G. Wramby	Agar czekolad. zaw. 5% krwi konia. (Shope-Lewis)	Agar czekolad. zaw. 5% krwi konia. w mod. Brandta	Agar czekolad. z krwią świni	Agar z krwią konia
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
17	Z. 4	Ziarenko, pałeczki, nitki	—	—	++	+++	++	+++	+ (-)(O)	—
18	Z. 8a	Ziarenko, pałeczki, (Coccobacilli)	—	—	+++	+++	++	+++	(O)	—
19	Z. 8b	Ziarenko, pałeczki, (Coccobacilli)	—	—	+++	+++	++	+++	+ (-)(W)	—
20	Z. 8c	Ziarenko, pałeczki, (Coccobacilli)	—	—	++(O)	+++	+++	+++	+ (-)	—
21	Z. 10	Ziarenko, pałeczki, nitki	—	—	++	+++	+++	+++	+	+ (-)(O)
22	Z. 11	Ziarenko, pałeczki, (Coccobacilli)	—	—	++(W)	+++ (W)	+	++(W)	+(W)	—
23	Z. 15	Ziarenko, pałeczki, (Coccobacilli)	—	—	++	+++	++	+++	+ (-)	+ (-)(O)

C) Z świń klinicznie zdrowych, na

24	S. 21	Ziarenko, pałeczki, nitki	—	—	++(W)	+++	++	++	+++	++
25	S. 35	Ziarenko, pałeczki, nitki	—	—	++	+++ (W)	+++ (W)	+++ (W)	+++	+(O)

Objaśnienia

- +++ wzrost bardzo dobry
 ++ wzrost dobry
 + wzrost słaby lub wynik dodatni próby
 + wzrost minimalny

zach zawierających krew świni.

Agar z krwią świni	Agar z krwią królika	Agar z krwią barana	Agar zwykły	Agar Gassnera	Żelatyna	Ziemniak	Bulion z gotowaną krwią konia	Bulion z gotowaną krwią konia z warstwą parafiny	Mleko lakmusowe z gotowaną krwią konia	Redukcja azotanów na azotyny	Próba na indol.	Rozkład cukru mlekowego	Próba termoa-glutynacyjna	Próba aglutyn. w roztw. rivanolu
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
-	-	-	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	(+) brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
-	+	-	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	++ b. lekkie zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
-	-	-	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	++ b. lekkie zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
-	+	-	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	++ b. lekkie zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+++
(+) (-)	(+) (-)	-	-	-	-	-	+ lekkie zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	+
-	-	-	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	+ brak zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	++
-	-	-	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	++ b. lekkie zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	++

podłożach zawierających krew świni.

++	+++	(+) (-) (O)	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	++ b. lekkie zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	++
++	++	+	-	-	-	-	++ lekkie zmętn.	++ b. lekkie zmętn.	bez zmian	+	-	-	-	++

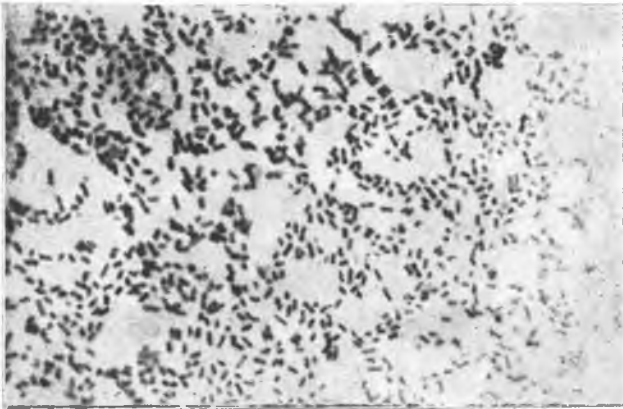
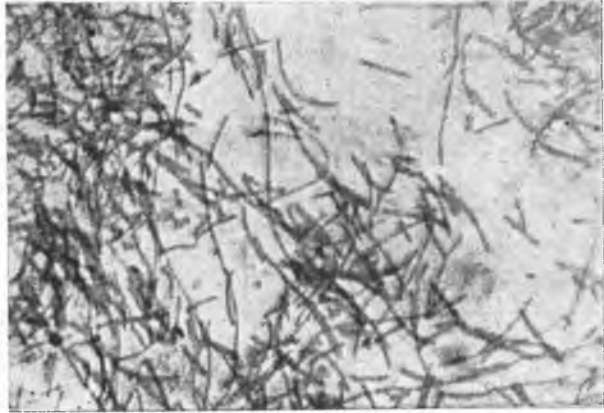
znaków.

- brak wzrostu lub wynik ujemny próby
- (o) wzrost mawkowaty
- (w) wzmożenie wzrostu w sąsiedztwie kolonii mamek
- + wynik wątpliwy próby.



Szczep „R. 74” po 24 g.
na agarze z nieogranżoną
kwią barana. Wzrost tyl-
ko w pobliżu zanieczy-
szeń powietrznych (Epi-
kond. 5,5 x) Pow. 20 x.

Preparat z 24 g. hodowli
szczepu „R. 81” 4 miesiące
po wyhodowaniu z orga-
nizmu, barwiony Gramem.
Pow. około 1450x.



Preparat z 24 g. hodowli
szczepu „R. 53a” na aga-
rze czekoladowym, bar-
wiony Gramem. Pow.
około 1450x.

Szczep „R. 81” po 24 g. na agarze z nieogrzewaną krwią barana. Materiał rozprowadzono kolankiem pipety pasteurowskiej a następnie w różnych miejscach płytki odbito igłą kolonie bakterii mamek. Wzrost tylko w miejscach gdzie rozprowadzono więcej materiału oraz w pobliżu kolonii mamek.



Preparat z 24 g. hodowli szczepu „R 72a” na agarze czekoladowym, barwiony Gramem. Pow. około 1450x.

P I Ś M I E N N I C T W O .

- 1) Pfeiffer R. Erg. d. Hyg. Bakt. Imtf. u. exp. Th. 1922, str. 1—18.
- 2) Loewenthal W. und St. Zurukzoglu. Kolle, Kraus, Uhlenhuth
Handb. d. path. Mikroorg. T. V. 1928, str. 1271—1402. *
- 3) Huebschmann P. Erg. d. Hyg. Bakt. Imtf. u. exp. Th. 1922, str. 19—70.
- 4) Knorr M. Erg. d. Hyg. Bakt. Imtf. u. exp. Th. 1925, str. 641—706.
- 5) Köbe K. Berl. Tierärztl. Wschr. 1932, str. 209—210.
- 6) Lewis P. A. und Shope R. E. Journ. exp. Med. Bd. 54. T. R. 1932.
- 7) Shope R. E. Journ. of. exp. Med. nr. 54 T. R. 1932.
- 8) Shope R. E. The Journ. of. exp. Med. nr. 54 T. R. 1932.
- 9) Köbe K. Arch. f. Wissenschaftl. u. Prakt. T. heilk. 1937, str. 149 — 181.
- 10) Brandt H. Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1938, str. 646—649.
- 11) Glässer. Deutsche Tierärztl. Wschr. 1939, str. 209—212.
- 12) Haagen E, und Mauer G. Handb. der Viruskrankh. T. II. str. 25—69,
1939.
- 13) Wätjen J. und Wasmuth Kl. Erg. d. Hyg. Bakt. Imtf. u. exp. Th.
1939, str. 138 — 167.
- 14) Köbe K. Handb. der Viruskrankh. T. II. str. 70—92. 1939.
- 15) Giencykiewicz. Med. dośw. i spol. 1931.
- 16) Tung-sheng Sheng. D. T. Wschr. 1939, str. 412.
- 17) Chandler, Fothergill, Dingle. J. Bact. 37, 1939.
- 18) J. B. Vet. Med. 1939.
- 19) Scott Joseph P. J. B. Vet. Med. 1940.
- 20) Reis J. e P. Nobrega. Tratado De Doencas das Aves. 1936, str. 176-178-
- 21) Gaitandjief G. Jahresb Vet. Med. 1940, str. 381.
- 22) Kirchenbauer H. Zschr. f. Infekt. Kr. pars. Kr. u. Hyg. d. Haust. 1934,
str. 273 — 293.
- 23) Platt A. G. Journ. exp. Biol. and med. Sc. 1939.
- 24) Lentz R. W. Berl. u. Münch. Tierärztl. Wschr. 1941, str. 593 — 598.
- 25) Raettig H. Zbl. f. Bakt. Parasit. u. Inf. kr. 1940, str. 386 — 392.
- 26) Czapalla H. Ztschr. f. Fl. u. Milchhyg. 1940, str. 110 — 112.
- 27) Jamada N. Hyg. Inst. Chiba Japan 1940.
- 28) Glässer. Berl. u. Münch. Tierärztl. Wschr. 1941, str. 229 — 232.
- 29) Lwoff A. et Lwoff M. Ann. Inst. Pasteur. 68. J. B. V M. 1943.
- 30) Gundel M. Die Ansteck. Krankh. 1942, str. 504 — 508.
- 31) De Torregrossa V. M., Francis. J. inf. Dis. 68. 1941.
- 32) Blaškovič D. Zbl. f. Bakt. Parasit. u. Infekt. Kr. 1943 str. 202 — 219.
- 33) Hjärre A. u. Wramby G. Ztschrft. f. Infekt. Kr. parasit. Krankh. u.
Hyg. der Haustiere 1944, str. 37 — 64.

S U M M A R Y.

The author examined the lungs of 100 swine, killed in a slaughter-house; formerly he had never seen in them unhealthy symptoms. He isolated of the lungs of 14 swine an imperceptible number of Pfeiffer's bacillus.

At first the author used for the direct sown Levinthale's agar and for the breeding of the isolated bacteria the American chocolate-agar.

The author examined too the lungs of 20 pigs, which, before being killed, had shown symptoms similar to those of the pig-influenza and after their death inflammable focuses in the lungs.

The author separated in the lungs of five of the above-mentioned pigs Pfeiffer's hemophilic influenza bacillus.

The author confirms that during the growing process of the illness in the lungs, the influenza bacillus were relatively quickly dislodged by other bacteria.

Besides the author examined 30 clinically healthy swine, killed in the slaughter-house. For his researches he used Levinthale's chocolate-agar.

Instead of the blood of horses they contained however, the same proportions of the blood of swine. In two cases only, he isolated Pfeiffer's hemophilic influenza bacillus. The author maintains that the blood of swine does not fit in the same degree for the breeding of the influenza bacillus as the blood of horses.

All the separated tribes were growing nearly as well in the conditions without oxygen as in those with oxygen.

All the tribes did not produce indol.

The author made the trial with the indol in this way as shown by Mallone with Ehrlich's reagent, later on he repeated it with Pringsheim-Neisser's reagent and the reagent of Kovacs modified by Hoffmann. The result of these three trials was negative.
