

Prof. JULJAN NOWAK.

ZARAZEK ZARAZY PŁUCNEJ (PERIPNEUMONII).

Dopiero skonstruowanie instrumentu optycznego, zwanego mikroskopem ujawniło nam świat jestestw żywych, dla oka nieuzbrojonego z powodu swej małości nie widzialnych, jakimi są n. p. bakterje.

Kto jest właściwym wynalazcą mikroskopu — niewiadomo; jednak pierwsze opisy mikroorganizmów oraz przedziwnie wierne rysunki bakteryj pochodzą od Antoniego Leeuwenhoeka — holendra z Delft, któremu sprzykrzył się zawód buchaltera i który zabrał się do optyki, szlifując własnoręcznie soczewki ze szkła i z kryształu górnego i oglądając przez nie rozmaite interesujące go rzeczy, między innymi krew, gnijące płyny, osad z zębów i tp. Rodacy trafnie ocenili talent Leeuwenhoeka i zajęli się jego losem dając mu to, co dziś nazywamy synekurą — zrobili go mianowicie dozorcą sali posiedzeń ławników w Delft, co mu dawało pensję a nie nakładało nań obowiązków.

Mikroskop Leeuwenhoeka był właściwie lupą czyli inaczej mówiąc mikroskopem pojedynczym; instrumentem, który ulepszony doszedł do dzisiejszej doskonałości, jest mikroskop złożony, to jest składający się z dwóch systemów optycznych. jednego przedmiotowego, który daje obraz przedmiotu i drugiego okularu, przez który obraz ten obserwuje się jak przez lupę.

Do konkurencji z Leeuwenhoekiem co do skonstruowania pierwszego mikroskopu staje Galileusz, o którym kroniki mówią, że miał zbudować mikroskop w pierwszym zaraniu wieku siedemnastego i dwa takie mikroskopy miał w roku 1612-ym posłać w darze królowi polskiemu Zygmuntowi III-emu.

Ustaloną jest jednak data narodzin mikrobiologii, bo za taką można uważać rok 1676, kiedy Leeuwenhoek przedłożył królewskiemu Towarzystwu naukowemu w Londynie swoje sensacyjne odkrycie infusoriów, bo tak nazwał odkryte przez siebie mikroorganizmy głównie w infusach czyli nastojach.

Mikroskop raz skonstruowany rozwijał się dalej i stawał się coraz doskonalszym narzędziem, a wynalezienie przez włoskiego fizyka Amici w połowie zeszłego stulecia immersji wodnej,

gdzie słabo łamliwe powietrze znajdujące się między soczewką czołową mikroskopu a oglądanym przedmiotem zostało zastąpione przez środowisko o wyższym współczynniku załamania, to jest przez wodę. Niebawem została woda zastąpiona przez Stefensona olejem cedrowym, którego współczynnik załamania jest ten sam co szkła, wskutek czego promienie oświetlające preparat nie doznają na swej drodze do optycznej części mikroskopu wcale załamania — Niemcy nazwali takie obiektywy: „homogene Immersion“. Był to wielki krok naprzód. Równocześnie starano się przez kombinację rozmaicie szlifowanych soczewek i zastosowanie różnych gatunków szkła usunąć wady obrazu spowodowane kulistością soczewek to jest aberrację sferyczną oraz aberrację chromatyczną — a dzisiejsze opochromaty usuwają praktycznie w sposób zadziwiający jedną i drugą. Jeżeli do tego dodamy przyrząd Abbego, pozwalający rzucić na badany przedmiot snop skoncentrowanego światła, to jednak w obecnym mikroskopie mamy znakomity instrument umożliwiający nam coraz dokładniejsze wnikanie w tajemnice świata zakrytego dla oka niezbrojonego.

Otóż jakież zadanie ma do spełnienia mikroskop? Musi nam dać powiększony obraz badanego przedmiotu — ale to niewystarczy. Obraz ten musi być także podobny do przedmiotu i musi dawać najdrobniejsze szczegóły jego budowy, jego konstrukcji cząsteczkowej. Takie wymaganie wobec mikroskopu postawił Abbe i podkreślił, że nie siła powiększenia jest rzeczą najważniejszą przy mikroskopie, ale podobieństwo obrazu do przedmiotu oraz ujawnienie szczegółów jego budowy, czyli zdolność analityczną jego systemu optycznego, co Abbe nazwał „Auflösungsvermögen“.

Im zdolność analityczna mikroskopu, to jest jego systemu przedmiotowego (obiektywu) będzie wyższą, tem więcej, będziemy dostrzegać w obrazie mikroskopowym szczegółów struktury przedmiotu, czyli tem mniejszą będzie odległość dwóch punktów struktury jaką jeszcze dostrzec zdołamy, wskutek czego te dwa punkty nie zleją się w jedno lecz będą przez nas obserwowane jako dwa odrębne punkty. Zatem mówiąc o zdolności analitycznej obiektywu wyrazimy ją najtrafniej, podając tę właśnie najkrótszą odległość między dwoma punktami struktury przedmiotu jeszcze w obrazie dostrzegalną. Oznaczamy ją przez S .

Według obliczeń „Abbego“ zdolność analityczna obiektywu mikroskopu zależną jest od skonstruowanej przez niego tak zwanej apertury numerycznej danego obiektywu. Numeryczna aper-

turę wyprowadził Abbe z prawa Snella i Descarta opiewającego że stosunek sinusów kąta padania i kąta załamania jest dla odpowiadających punktów osi optycznej ilością stałą. Abbe wydedukował stąd rachunkowo aperturę numeryczną, która jest iloczynem ze współczynnika załamania środowiska wypełniającego przestrzeń między przedmiotem badanym a czołową soczewką obiektywu (n) oraz sinus połowy kąta rozwartości $\frac{(2a)}{2}$

systemu — czyli że AP. num. — $n \cdot \sin a$ — przyczem kąt rozwartości jest to kąt, jaki otrzymamy, jeżeli punkt ogniskowy systemu przedmiotowego mikroskopu (obiektywu) połączymy z brzegiem jego soczewki czołowej. Otóż od apertury numerycznej, a zatem od płynu immersyjnego to jest od jego współczynnika załamania, oraz od wielkości kąta rozwartości (Oeffnungswinkel) danego systemu, zależy jego siła analityczna którą oznaczyliśmy przez S .

Jednak zależy ona jeszcze od jednego czynnika, a mianowicie od rodzaju światła użytego do oświetlenia badanego przedmiotu i im krótsza fala użytego światła a im większą aperturą tem większą będzie zdolność analityczna danego obiektywu czyli tem mniejsze będzie S , to jest tem mniejszą będzie owa jeszcze dostrzegalna odległość między dwoma punktami struktury przedmiotu. Zatem skonstruowane przez

Abbego zrównanie brzmi: $S = \frac{\lambda}{n \cdot \sin a}$ przyczem λ oznacza długość fali. Długość fali światła średniej długości, a zatem światła żółto-białego wynosi 0.0005 mm. czyli 0.5 μ ; współczynnik załamania olejku cedrowego wynosi 1.51, zaś $\sin a$ — jeśli przyjmiemy teoretycznie najwyższą wartość na kąt rozwartości obiektywu, czyli że $2a = 180^\circ$, zaś $a = 90^\circ$, — będzie wynosiło 1, czyli $n \cdot \sin a$, to jest apertura numeryczna danej immersji wynosić będzie $1.51 \times 1 = 1.51$. Praktycznie redukuje się ta apertura do ilości 1.40, albowiem praktycznie $2 \times$ jest mniejsze niż 180° zatem a mniejsze niż 90.0 .

Po uwzględnieniu powyższego:

$$S = \frac{0.0005}{1.40} = 0.35 \mu, \text{ czyli że przy immersjach z olejkim cedrowym i o aperturze najwyższej praktycznie osiągalnej, to jest 1.40 — najmniejsza odległość dwóch punktów struktury przedmiotu oglądanego widzialnych jeszcze jako dwa odrębne punkty wynosi 35 stutysięcznych milimetra, czyli trzy i pół dziesiątych mikrona. Ta ilość daje się obniżyć przy zastosowaniu odpowiedniego oświetlenia przedmiotu jak n. p. przy}$$

mikrofotografji, do 0.00025 mm. czyli 0.25 μ i to jest najmniejsza odległość dwóch elementów struktury oglądanego przedmiotu, jaką oko dostrzedz zdoła przy użyciu obecnych najlepszych obiektywów immersji — o ile jest ona jeszcze mniejszą, to owe dwa elementa struktury zlewają się w jeden i widoczne są już tylko razem, jako jeden element — czyli globalnie.

Zdolność analityczna mikroskopu doznała dalszego wzmocnienia przez zastosowanie jako płynu immersyjnego monobromonaftaliny, której współczynnik załamania wynosi 1.66 zatem zdolność analityczna obiektywu wyraża się liczbą 0.2 μ , co przez skośne oświetlenie może być jeszcze zredukowane do 0.18 μ . Jednak monobromonaftalina rozpuszcza ciała organiczne, wskutek tego użytkowość immersji z bromonaftaliną uległa ograniczeniu prawie wyłącznie do badania szlifów metali i t. p. Niema też nadziei, aby ta zdolność analityczna obiektywów mogła ulec zwiększeniu czyli, aby S mogło jeszcze ulec obniżeniu, co rachunkowo przepowiedział i udowodnił Abbe.

Zdołano jednak podnieść zdolność analityczną mikroskopu jeszcze znacznie, bo obniżyć S aż do 0.08 μ , przez zastosowanie światła o najkrótszej fali, a mianowicie światła ultrafioletowego, którego długość fali wynosi 0.275 μ . Światło to otrzymuje się przez łuk elektryczny elektrod magnezjowych lub kadmowych, ale siatkówka oka jest na te promienie nieczuła, czyli oko ich nie dostrzega, zaś szkło je absorbuje, przeto soczewki obiektywu do promieni ultrafioletowych skonstruowane przez Köhlera, są zrobione z kwarcu, równie jak i okular i szkiełka do przyrządzenia preparatu.

Ponieważ oko obrazu wytworzonego przez te promienie dostrzec nie może, przeto obraz uwidacznia się pośrednio za pośrednictwem płyty fotograficznej, która jest czułą na ultrafioletową część widma. Aby zaś umożliwić nastawienie właściwe obrazu, uwidacznia się go zapomocą fosforyzującej płyty uranowej, która czyni obraz widocznym dla oka. Jednak to nastawienie jest niedostateczne i jak pisze Frosch, aby otrzymać jedno przydatne zdjęcie przy badaniu zarazka Peripneumonii (Zarazy płucnej), trzeba było zrobić osiemdziesiąt zdjęć. Wogóle mikroskop Köhlera nie spełnił pokładanych w nim nadziei i dotychczas nie dał ważniejszych rezultatów naukowych a jest kosztowny i wymaga wielkiej pracy i dużego doświadczenia.

Wszystko powyżej powiedziane odnosi się do zdolności analitycznej mikroskopu a nie do jego siły powiększającej, która zresztą, jak to z naciskiem podnosi Abbe ma względną wartość. Siła powiększająca obiektywu nie jest zależną od apertury

a zależną jest od praw geometryczno-optycznych, na podstawie których skonstruowane są systemy optyczne obiektywów przede wszystkim jest ona w związku z ogniskową danego systemu.

Obraz dany przez obiektyw powiększa okular, ale powiększa on i błędy, jakie daje obiektyw, bo jest to powiększenie pośrednie, więc użyteczność jego jest ograniczona. Drugą przeszkodą jest oświetlenie pola widzenia, którego natężenie stoi w stosunku odwrotnym do kwadratu z powiększenia. Jednak dzisiejsze oświetlenie elektryczne razem z przyrządem Abbego usuwa niemal zupełnie troskę o dostateczne oświetlenie przedmiotu.

Najsilniejszym obiektywem Zeissa jest apochromat immersja o aperturze 1.30 a sile powiększającej 120 — jeśli do niej użyjemy najsilniejszego okularu kompensacyjnego (30), to otrzymamy powiększenie 120×30 czyli 3600 razy. Jednak obraz powstały przy tem powiększeniu nie jest zadawalający i lepsze rezultaty daje apochromat immersja z aperturą 1.40 a z siłą powiększającą 90 razy. Z okulem 30 razy powiększającym daje ona obraz 2700 razy większy od przedmiotu z najwyższą osiągalną siłą analityczną. Soczewka czołowa tego systemu jest tak osadzona, że nader łatwo ulega zwicnięciu.

Fotografia zwykła płytami czułymi na barwy, czyli ortochromatycznymi z zastosowaniem filtrów czyli monochromatycznego światła zielonawego pozwala na wzmocnienie powiększenia i wyciągnięcie z preparatu mikroskopowego szczegółów niedostępnych dla oka. Aparat fotograficzny wzmacnia powiększenie przez zastosowanie miecha długiego do półtora metra, przez co odległość płyty od preparatu dochodzi niemal do dwóch metrów; przynosi przytem bogactwo szczegółów, albowiem podczas gdy oko widzi, a raczej spostrzega momentalnie, płyta fotograficzna patrzy stale i bez przerwy, czyli, że u niej wrażenia świetlne się sumują, podczas gdy w oku niema to miejsca. Oko bowiem patrząc jest ustawicznie w ruchu i nastawia na działanie światła coraz to inne punkty czułe siatkówki — płyta nieruchoma patrzy bez przerwy i widzi rzeczy, których nie dostrzega oko a przy dostatecznej ekspozycji szczegóły te wiernie notuje. Przytem przez użycie monochromatycznego oświetlenia o krótszej fali powiększa się apertura, czyli zdolność analityczna systemu. Jednak mikrofotografia wymaga wielkiej wprawy i doskonałych preparatów i błędem jest zapatrywanie, że można zapomocą mikrofotografji wyciągnąć dużo ważnych szczegółów z lichego preparatu. Drugim pewnikiem przy zastosowaniu mikrofotografji, nie do zillustrowania jakichś szczegółów,

ale do ich wykrycia, a więc do celów twórczobadawczych, jest, że może tu osiągnąć coś tylko sam badacz, on sam musi nastawiać obraz do zdjęcia fotograficznego i on sam musi zdjęciem kierować — nikt go tu zastąpić nie może, nikt nawet b. biegły nietylko w fotografii, ale biegły także w mikrofotografji. Najwyższe powiększenie, jakie obecnymi systemami mikroskopowymi i na obecnych aparatach mikrofotograficznych osiągnąć można jest 4000 razy. Jednak jest to już sztuka b. trudna i hazardowna i 3000 razy jest właściwie do pewnego stopnia naturalną granicą powiększeń osiągalnych tą drogą — powiększeń dających przy należytem opanowaniu tej sztuki znacznie więcej niż powiększenia przenoszone z mikroskopu wprost na siatkówkę oka.

Jest jednak sposób oglądania przez mikroskop ciał o wiele mniejszych niż te, które dostrzec możemy zwykłym sposobem przy użyciu najsilniejszych środków optycznych czy też pomocą mikrofotografji, a to przez obserwację w tak zwanem ciemnem polu. Jest to metoda nie nowa, bo zastosował ją jeszcze w roku 1883 anglik Reade. Jeżeli mianowicie zakryjemy odpowiednią nieprzeźroczystą blendą centrum aparatu Abbego tak, że promienie centralne, to jest przebiegające bliżej osi optycznej mikroskopu, zostaną wyłączone, że nic z nich dostać się nie może do czołowej soczewki obiektywu, to boczne skośne promienie takżeby do powyższej soczewki drogi nie znalazły, gdyby nie to, że trafiają one po drodze na preparat mikroskopowy zawierający najczęściej jakieś ciało białkowatej natury i zawiesinę mniej lub więcej gęstą elementów komórkowych, jak n. p. bakterij itp. Otóż promienie te, dostawszy się w tę zawiesinę (a i preparat suchy nie pokryty szkiełkiem oglądany immersją można z punktu widzenia fizykalnego uważać za zawiesinę) zachowują się tak, jak pęczek promieni przepuszczony do ciemnej przestrzeni przez maleńki otworek, ulegają mianowicie odgięciu — nie załamaniu. Wiemy z optyki, że odgięcie to polega na tem, że cząsteczki ciała brzegów otworka, przez który przeciska się ów delikatny pęczek promieni, poczynają same świecić, stają się punktami świetlnymi, wysyłającymi własne świetlne fale kuliste. Otóż boczne promienie, które są w tym wypadku promieniami przebiegającymi skośnie w stosunku do osi optycznej stożka światła wysyłanego przez przyrząd Abbego, dostawszy się do owej zawiesiny, uginają się na krawędziach pojedynczych b. drobnych ciałek, tworzących ową zawiesinę lub też na elementach ich struktury i odgięte przedostają się do obiektywu, ale już nie tak, jak promienie rów-

noległe do osi, które oświetlają pole widzenia, prześwietlają mniej lub więcej elementa składowe preparatu i dają ich obrazy geometryczne, lecz jedynie tylko jako drugorzędne fale świetlne wysyłane przez ciała, z których składa się preparat. Siatkówka oka o wiele więcej jest wrażliwa na samo światło, jako takie, niż na kształt lub na barwę i jako punkta świetlne widzimy w ciemnym polu jeszcze ciała o średnicy 0.004μ ($4 \mu\mu$) zbliżając się w ten sposób do molekulu, który u wysoko złożonych organicznych substancyj jest wcale duży i tak: średnica molekulu rozpuszczalnej skrobi wynosi $5 \mu\mu$, zaś chloroformu $0.8 \mu\mu$. Właściwie to niema tu wcale granicy i chodzi tylko o natężenie źródła światła, im ono silniejsze, tem drobniejsze ciała dają się widzieć. Jednak nie posiadają one charakterystycznego kształtu tak jak go n. p. nieposiada ogarek węgla żarzący się w ciemności — widać tylko punkt świetlny lub krążek świetlny. Jeżeli chodzi o ciało wydłużone jak n. p. dłuższy prątek lub spirochetę, to widzimy nie punkt a linię świetlną — i to wszystko. Ale właściwego kształtu rzeczy nam nieznaney ocenić nie możemy i to tem mniej im ona jest mniejsza.

Do tego trzeba wziąć pod uwagę i tę okoliczność, że o ile chodzi o płyny zawierające białko jak n. p. soki organiczne lub hodowle, w których poszukiwalibyśmy nieznanym mikroorganizmów, to zawierają one mnóstwo nadzwyczaj drobnych ciałek, są bowiem kolloidami, pojawiającymi się w polu widzenia; ocena więc coby mogło być szukany, ultramikroskopowym pasorzytem, a co należy uważać za ciała należące do płynu, jako jego część składową, jest trudna, a nawet niemożliwa.

Metodę badania w ciemnym polu nazwano ultramikroskopją, zaś ciała tak małe, że są widoczne tylko przy zastosowaniu tej metody nazwano submikronami lub ultramikronami, w przeciwieństwie do ciałek widocznych także w zwykłym jasnym polu czyli do mikronów. O ile ciała są tak małe, że i w ciemnym polu są niewidoczne, to zowią się amikronami.

Pojęcie zarazka niewidocznego przy zwykłym badaniu mikroskopowym a więc takiego, który jest już nie mikronem, ale submikronem lub nawet amikronem pochodzi od Pasteura. Szukał on nadarmo zarazków wścieklizny i orzekł w 1881 roku, że są one zbyt małe, aby je można ujrzyć przez mikroskop. Podobnie rzecz się miała z zarazkami wielu innych chorób, których wykryć na drodze mikroskopowego badania nie zdołano i które nazwano ultramikroskopowemi. Do tego pojęcia przybyło drugie równie ogólnie je określające, kiedy w roku

1892 Iwanowski przesączał sok z liści tytoniu, dotkniętych tak zwaną mozaikową zarazą i gdy przesącz był zaraźliwy dla zdrowych krzaków tytoniowych. W roku 1897 Loeffler i Frosch przesączyli przez filtry porcelanowe, które nie przepuszczały najmniejszych znanych bakterij, limfę pęcherzyków sztuk bydła chorych na pryszczycę i przesącz był zaraźliwy. Widocznem było, że zarazki są tak małe, że przechodzą przez pory filtrów. Nazwano takie zarazki zarazkami filtrującymi się lub krótko filtrującymi. Zatem zarazki ultramikroskopowe otrzymały drugą nazwę.

Peripneumonia ze swoim niewidzialnym zarazkiem zwracała na siebie ciągłą uwagę z powodu wielkich szkód ekonomicznych, jakich szczególnie w krajach zachodnich Europy, oddawna była przyczyną, dziesiątkując bydło rogate i prace, jakie nad nią, a w szczególności nad jej nieznanym zarazkiem, prowadzili Roux i Nocard przy współpracownictwie Borela, Salimbeniego i Dujardin Beametz zostały uwieńczone w roku 1898 nader pomyślnym rezultatem, powyżsi badacze otrzymali bowiem czystą hodowlę zarazka peripneumonii w woreczkach kolloidionowych napełnionych buljonem i zaszytych do jamy otrzewnowej królika. Hodowla zaznaczała się nader delikatnem zmętnieniem buljonu — raczej delikatną opalescencją.

Niebawem udało się Dujardin Beametz, Salimbeniemu i Borelowi otrzymać hodowlę wprost w termostacie w buljonie do którego dodano surowicy, przy której to okazji skonstatowano również, że zarazek jest filtrującym, to jest przechodzi przez ściany filtrów porcelanowych niezbyt gęstych.

Obecnie hodowla sztuczna zarazka peripneumonii nie natrafia na żadne trudności, został ustalony najodpowiedniejszy procent dodatku surowicy oraz najkorzystniejsza koncentracja jonów wodorowych. Hodowla w tak przyrządzonym buljonie jest równie delikatna jak pierwotna w woreczkach kolloidionowych i zdradza się tylko słabem opalizowaniem płynu.

Na agarze sporządzonym na powyższym buljonie wystają charakterystyczne kolonie, delikatne, ledwo widoczne z początku, które jednak po upływie pewnego czasu i przy sprzyjających warunkach dochodzą do 1 a nawet do 1.5 mm. średnicy.

Znacznie wolniej, niż wyhodowanie zarazka peripneumonii w czystej hodowli, postępowała kwestja bliższego poznania samegoż zarazka, określenia jego morfologii i ustalenia przynależności. Border w roku 1909 uzyskał preparaty mikroskopowe z hodowli otrzymanych na specjalnem podłożu stałem, ana-

logicznem do tego, jakiego używał do hodowania mikrobów koklusz. Swe preparaty barwił płynem Giemsy; mógł w preparatach skonstatować przy użyciu silnych powiększeń obecność nitek rozmaicie wygiętych, to łukowato, to w kształcie litery S to w formie spirochet itp. Obserwował także obecność ziaren zazwyczaj w centrum słabiej zabarwionych. Bordet stawia sobie pytanie, czy ma się tu do czynienia z wibrionem, czy ze spirochetą?

Nitki, które obserwował, bywały miejscami nabrzmiałe, ich końce ścięczałe (włoskowato) i nie barwiły się jednostajnie.

W hodowli płynnej znajdował podobne nitki, lecz nieco mniej smukłe, łatwiej się barwiące i okazujące miejscami prawdziwe rozgałęzienia. W początkach rozwoju hodowli (n. p. 24 godzin) formy kuliste i ziarna o centrum niezabarwionem nie były liczne, jednak liczba ich zwiększała się w miarę rozwijania się hodowli, podczas gdy ilość form wydłużonych — nitkowatych w tym samym stopniu się zmniejszała. Ciałka kuliste powstają z tworów nitkowatych, a ta przemiana wytwarza się z różną szybkością. Czasem w przeciągu 2 do 3 dni przemianie tej ulegają wszystkie niemal mikroby hodowli, kiedyinziej trwa to i dziesięć dni a nawet dłużej. Centrum ziaren jest często słabiej zabarwione, w czem Bordet widzi analogię z przemianą wibrionów cholerycznych w kuleczki często w środku także słabiej zabarwione. Autor skłonny jest uważać formy ziarniste za przetrwalniki.

Borel, Dujardin Beaumetz, Jeanti i Jouan posługiwali się głównie metodą podaną przez Loefflera do barwienia witek bakteryj. Poddawali barwieniu głównie osad centryfugatów hodowli w buljonie przemyty wodą. Badali również niebarwione mikroby w polu jasnym i w polu ciemnym i mogli skonstatować, że mikrob jest bezwarunkowo pozbawiony ruchu — nie może zatem być mowy ani o wibrionach ani o spirochetach lub t. p.

Z kolonji na podłożu stałym nie mogli autorowie żadną miarą uzyskać materiału do badania mikroskopowego.

Według autorów mikrob peripneumonii jest otoczony śluzową otoczką bardzo wyraźną. Mikrob ten dzieli się w tejsze otoczce w rozmaitych kierunkach i prezentuje się wskutek tego albo w formie dwoinek czy też w formie łańcuszków a następstwem jego dzielenia się w różnych kierunkach jest występowanie form rozwidlonych, rozgałęzionych, dwubiegunowych, gwiazdzistych i pseudowibrionowych. W hodowlach młodych 24 do 48 godzin obserwuje się głównie ziarenka, dwoinki, łań-

cuszki i pierścienie. Formy pierścieniowate są b. częste, a pierścień może ulec przedłużeniu w łańcuszek lub nitkę. W 3-cim i 4-ym dniu przeważa forma pseudowibrionowa z silnie zabarwionem centrum (amas centrale) i ze śluzowatymi długimi wypustkami. W grudce (amas) centralnej tkwią dwa lub trzy pasorzyty. Gdzie ich jest trzy, tam daje to obraz tworu o kształcie trójkątnym. Powstają grudki złożone z ziaren ułożonych w tetrady w morule, które mogą kiełkować i dawać początek nitkom. To stadium otwiera okres powstawania form gwiaździstych. Formy nitkowate pojawiają się w 5 i 6 dniu hodowli, w którym to okresie stale się je w hodowlach znajduje, jednak pojawiają się czasem i wcześniej, np. już w drugim dniu hodowli. Grudki pierwotnie owalne wydłużają się coraz więcej i dają włókna. Formy włókniste barwią się nierównomiernie i obok włókienek silnie zabarwionych są zabarwione słabo i ledwo widoczne. Rozgałęzają one się w dwie, trzy odnogi i więcej i dają formy gwiaździste o włóknach delikatniejszych niż poprzednie i które według autorów przedstawiają zapoczątkowanie inwolucyj pasorzyta. W hodowlach 12 do 15-dniowych nie widać już jak tylko formy inwolucyjne i złogi substancji śluzowatej wydzielanej przez starzejące się indywidua.

Opierając się na swych obserwacjach autorzy nie przychylają się do koncepcji Bordet jakoby mikrob peripneumonii miał być wibrionem lub spirillum. Mikrob peripneumonii jest według autorów nader polimorficznym i występuje to w postaci dwoinek, to w postaci pakietów (tetragen) morul lub włókien i łańcuszków o otoczce śluzowatej. Autorowie stwierdzają, że ta otoczka śluzowata daje początek wszystkim obserwowanym formom i wytwarza prawdziwe włókna mycelialne.

Za rzecz kapitalną w rozwoju mikroba peripneumonii uważają autorowie okoliczność, że mnoży się on dzieląc się w rozmaitych kierunkach, czego następstwem jest powstawanie figur przypominających często niektóre formy pewnych bakterji guzków korzeni roślin motylkowatych. Mogli stwierdzić przez badanie w ciemnym polu, że te wielorakie rozgałęzienia, jakie się obserwuje i wielokrotne biegunowości są wynikiem ziaren ułożonych w łańcuszki, które niejednokrotnie dzielą się nawet w prostopadłym kierunku do przebiegu głównego włókna?

Autorowie nazwali mikroba „*Astorococcus mycoides*“ określając tą nazwą cechy charakterystyczne a to samego mikroba, jego otoczkę śluzowatą tworzącą pseudomycelia i wielobiegunowość. Jest to mikrob tego rodzaju dotychczas jedyny, ale auto-

rowie wyrażają zdanie, że zapewne znajdzie się coś analogicznego w infekcjach, których zarazki są jeszcze nieznanne.

Borel, Dujardin Beametz i towarzysze rozporządzali b. dobrymi preparatami otrzymywanymi przeważnie, jak podają, przez zastosowanie metody Loefflera do barwienia witek bakterji, jak tego dowodzą fotogramy dołączone do ich pracy, jednak powiązanie obserwowanych obrazów w jedną organiczną całość wykazuje luki czego następstwem jest nieodpowiadająca rzeczywistości konstrukcja morfologii i cyklu rozwojowego zarazki. Wprowadzały autorów w błąd zdaje się także i fotogramy zdejmowane widocznie przy niezbyt wysokim powiększeniu a potem dopiero powiększone z negatywów.

Jednak wyniki osiągnięte na tym trudnym terenie śledzenia zarazki peripneumonii nie znalazły ogólnego i bezwzględniego przyjęcia — nawet odnośnie do samychże hodowli. Titze i Seeleman (1921) sądzą, że jest jeszcze rzeczą wątpliwą czy hodowle uzyskane z produktów chorobowych peripneumonii są rzeczywiście czynnikiem chorobotwórczym tej infekcji. Sądzą, że nader trudno znaleźć jakiś logiczny związek między temi różnemi i tak dziwnymi formami jakie opisują autorowie.

Freiberger poddał kontroli rezultaty otrzymane przez uczonych francuskich, badając w ciemnym polu surowicę krwi rozmaitych zwierząt i znajdował w surowicach tak zdrowych jak i chorych zwierząt ciała analogiczne do tych, jakie opisują francuscy badacze — zatem ciała te nie przedstawiają według Freiberga nic specyficznego.

Titze i Seeleman w ciągu dalszych swoich badań doszli do przekonania, że jednak w hodowlach peripneumonii znajduje się właściwy swoisty zarazek tej choroby a już co najmniej to specyficzne produkty oddziaływania organizmu na zakażenie. Dowodem tego jest okoliczność, że można hodowlami peripneumonii wywołać u zwierząt te same zmiany co sokiem płuc zwierząt padłych na peripneumonię. Badali w ciemnym polu pasorzyta opisywanego przez francuskich autorów, widzieli małe ciała drgające ruchem Browna, jednak nie uważali za rzecz wykluczoną, że posiadają one także własne ruchy. Widzieli formy pierścieniowate z ciemniejszym centrum a błyszczące na obwodzie. Nie widzieli jednak wcale form nitkowatych, któreby widzieć musieli, gdyby one egzystowały w rzeczywistości.

Kontrolowali badania Freiberga i w przeciwieństwie do niego nie znaleźli tak w buljonie z surowicą jak i w różnych czystych surowicach, jak tylko drobniutki, zaledwie widoczne

ciałka bez ruchu, wcale zaś nie widzieli ciałek któreby można było uważać za charakterystyczne dla hodowli peripneumonii.

Uodporniali zwierzęta wstrzykiwaniami dożylnymi kultur peripneumonii a surowica tych zwierząt posiadała własności aglutynujące wobec pasorzyta hodowli — dowód że jednak w hodowlach znajduje się swoisty czynnik zakażenia.

Bechhold i Sierakowski zastosowali w swoich badaniach metodę powiększania objętości zarazków aby z niewidzialnych stały się widzialnymi — w tym celu traktowali hodowlę zarazka peripneumonii chlorkiem złota. W ciemnym polu obserwowali bryłki dostatecznie duże, aby mogły być widziane przy zwyczajnem oglądaniu w jasnym polu, w którym też rzeczywiście można było obserwować w hodowlach buljonowych zarazka drobne, czarne punkciki, które pod ultramikroskopem intensywnie błyszczały. Autorzy stwierdzają, że są to te same formy, które opisał Frosch w rezultacie badań za pomocą ultrafioletowych promieni w aparacie Köhlera. Większe bryłki powstają według zdania autorów przez aglutynację malutkich.

Bechhold i Sierakowski sądzą, że skoro pasorzyt jest dość duży i byłby łatwo widzialny w jasnym polu, gdyby się dał zabarwić, to widocznie specjalne jego właściwości załamania światła nie pozwalają go dojrzeć w stanie niebarwionym.

Frosch po daremnych próbach poddania badaniu zarazka w płynnych hodowlach przeniósł swe badania na kolonje na agarze surowicznym, ponieważ zaś roztarcie ich na szkiełku czy też uzyskanie w inny sposób materiału podatnego do zabarwienia i do badania mikroskopowego okazało się nie możliwem, przeto poddał już to całe kolonje już też maleńkie z nich uzyskane skrawki badaniu zapomocą fotografowania aparatem Köhlera. Tą drogą pewniej, niż bezpośrednim badaniem mikroskopowym, doszedł do rezultatu, że kolonje te składają się z b. drobnych, jednak nieultramikroskopowych ciałek, trudno się barwiących a być może otoczonych niebarwiącą się otoczką, okrągłych, owalnych lub wielobocznych, co do których trudno orzec czy są bakterjami, czy drożdżami, czy też może grzybami mycelialnymi.

W dalszym ciągu swych poszukiwań badań Frosch osad otrzymany przy centryfugowaniu płynnych hodowli peripneumonii bezpośrednio lub też sposobem fotograficznym promieniami ultrafioletowymi. Znajdował te same ciałka elementarne co w kolonjach na agarze, tak samo różnej wielkości i kształtu. Między nimi dadzą się rozróżnić wyraźnie małe pierścieniowate twory, dalej duże ciałka i płytki o podwójnym konturze. Pomiedzy ostatnimi można obserwować i takie, w których wnętrzu znaj-

duże się punktowate ciała wewnętrzne (Innenkörperchen). Tu i ówdzie napotyka się te ciała wewnętrzne jako nader delikatne punkciki leżące wolno w polu widzenia. Twory te okazują nągół wielkie podobieństwo do grzybów mycelialnych ale większe jeszcze może do komórek drożdżowych, które to wrażenie umacnia się widokiem tworów, które przypominają pączkowanie tych ostatnich. W starych hodowlach napotykał Frosch także delikatne niteczki, jakby z rozgałęzieniami. Można przypuścić, że były to nitki mycelialne, chociaż nie dało się wykazać związku między temi nitkami a ciałkami elementarnymi. Nitek takich nie znajdował Frosch w kolonjach na agarze. Ciała znalezione w płynnych hodowlach nie posiadają własnego ruchu i zdaje się, że są zawieszane w płynie pojedynczo, lub w większych skupieniach. Uwzględniając wszystkie powyższe dane zalicza Frosch pasorzyta *Peripneumonii* do drożdży i zwię go: „*Micromyces peripneumoniae bovis contogiosae*“.

Analogiczne ciała elementarne znajdował Frosch w soku płuc zwierząt dotkniętych zarazą płucną.

Froscha preparaty otrzymywane z centryfugatów kolonij buljonowych musiały być b. dobre i uwidaczniać morfologję zarazka *peripneumonii*, natomiast zdjęcia fotograficzne ultramikroskopowe Köhlera nietylko że nie dają żadnego wyobrażenia o morfologii badanego zarazka, ale przeciwnie zaciemniają jasne rozumowanie Froscha, który doszedł do właściwych i b. bliskich prawdy konkluzji dzięki temu, że oparł się nie na tem co widział na fotogramach, lecz na tem co obserwował na swych preparatach.

Wspomnieć należy jeszcze o pracy Martzinowskiego z roku 1911, który stwierdził w hodowlach zarazka *peripneumonii* obecność drobnych ciałek w formie dwoinek; oraz pracę Orskowa z roku 1927-go, który obserwował pod silnymi powiększeniami kolonie zarazka rozwijające się na agarze. Po 24 godzinach już pojawiają się na powierzchni agaru drobne delikatne kolonijki nieregularnego kształtu o małej gęstości pokładu, przypominające pod małym powiększeniem kolonie rozgałęzionych mikrobów n. p. *streptothrices*.

Czterodniowa kolonja okazywała na swym brzegu różne dziwaczne formy, które najczęściej słabo łamały światło. Autor obserwował zmiany form nadzwyczaj szybko po sobie następujące — w paru minutach — fenomen zresztą u bakteryj wcale niespotykany. Prątki zamieniały się w małe ciała rozgałęzione, mające kulki na końcach gałązek, lub też w nitki przypominające łańcuszkowce. Przejście form pałeczkowatych

w rozgałęzione kończy się często przyjęciem formy groniastej. Natomiast autor nie obserwował nigdy przejścia tych ostatnich form w typ mykologicznie bardziej pojedynczy. Tych przejść w różne formy nie obserwuje się zawsze i na każdej kolonii. Niektóre rozgałęzienia wytwarzają się równie powoli jak to ma miejsce u bakterij, tworzących rozgałęzienia. Im kolonie były starsze tem liczniejsze były formy nieregularnie nabrzmiałe a tem mniej się tam napotykało nitek i form pałeczkowatych.

Po paru generacjach na agarze z płynem wysiękowym napotyka się b. młode kolonie, b. małe, które badane immersją okazują się być złożone z rozgałęzionych nitek, które są albo jednolite, albo zawierające partje mocno łamiące światło, często ułożone serjami. Im starszą jest kolonia tem więcej powstaje w niej form okrągłych i nieregularnych.

Młode kolonie są nadzwyczaj zbite podczas gdy kolonie starsze są więcej luźne. W tych kolonjach znajdują się kule różnej wielkości. Jeżeli przesiać na świeżą pożywkę hodowlę zawierającą liczne formy nabrzękle, to można skonstatować, że te duże formy nie kiełkują i w przeciągu krótkiego czasu nie znajduje się ich już na powierzchni zasianego niemi agaru. Te powiększone formy wydają się być analogiczne z odmiennymi (heterogenicznymi) formami, które napotykamy w kolonjach bakterij ulegających autolizie.

Zatem, konkluduje autor, zarazek peripneumonii jest w swej formie elementarnej laseczką o małym owalnym cielem, która dorósłszy kiełkuje w mycelium rozgałęzione, rozpadające się na małe formy elementarne. Wielkie formy nieregularne są formami degeneracyjnymi. Mikrobia ten tworzy kolonie złożone z nitkowatego, rozgałęzionego mycelium, lecz już po trzydziestu godzinach kolonie składają się przeważnie z małych kulek ułożonych w łańcuszki lub w grona, zaś wielkość tych kulek może być w rozmaitych kolonjach różną, choć znajdują się one w identycznych warunkach. Nowe kolonie mogą wytwarzać tylko małe formy.

Oto streszczone prace nad zarazkiem peripneumonii — nad jego morfologją. Nic dziwnego, że budzi on duże zainteresowanie, wszak wydaje się on być niejako pomostem do mistycznego świata żyjątek ultramikroskopowych — submikronów, a może nawet amikronów, które są przyczyną tylu groźnych infekcyj — jednak tajemnicę osłaniającą je napróżno silimy się rozjaśnić.

Zarazek peripneumonii filtrujący ale nie ultramikroskopowy, bo widoczny — trudno przyjmujący barwiki — różnokształtny w najwyższym stopniu, tak że właściwie trudno osądzić jaka

forma jest mu właściwą i charakterystyczną — łatwo i szybko zmienny w swej polimorfji, zdający się załamywać tak samo światło jak płyn, w którym się rozwija — dający kolonie wcale nawet duże, lecz trudno dostępne badaniu — to wszystko sprawia, że morfologia jego i przynależność gatunkowa nie jest właściwie dotychczas jeszcze ustalona. Vibriony czy spirillum, ziarnik dwoinka, czy ziarnik gwiazdzisty z grzybnią, Micromyces czy prątek przechodzący w grzybnię — oto rozmaite opinie na powyższy temat, poparte sumiennymi badaniami, posługującymi się całym zasobem technicznym doby obecnej. Jednak mimo to podane opisy i klasyfikacje nie budzą zupełnego zaufania, nie wyczuwa się w nich rzeczy ustalonej, lecz raczej konstrukcję tymczasową — przygotowującą grunt do właściwej syntezy.

Już sama hodowla zarazka budzi niedowierzania, nie wróży badaczowi nic dobrego. Trzeba już znacznej wprawy aby się od razu zorientować, gdy się porównuje hodowlę z płynem kontrolnym, czy rozwój zarazka rzeczywiście ma miejsce — tak delikatnym bywa to zamiętnienie, zdradzające rozwój zarazka, a raczej delikatna opalescencja. Napotyka się też zdanie, że aby być pewnym czy zarazek wyrósł w hodowli płynnej, to trzeba ją wysiać na agar i dopiero gdy się widzi kolonie ma się pewność wzrostu — a kolonie na agarze niby to wcale duże gdy starsze a badaniu mikroskopowemu jednak trudno dostępne.

Pierwsze co się narzuca, to że zarazek musi być b. mały, że go jest w hodowli stosunkowo nie zbyt wiele — dlatego zamiętnienie niewyraźne nader delikatne. Drugą tezę badanie potwierdza — tak, jest go rzeczywiście stosunkowo nie wiele w płynie hodowli, podczas gdy co do wielkości rzecz się ma inaczej, bo wprawdzie są tam i formy b. małe, ale są i formy duże. Zadziwia zaś niezwykła zmienność formy — polimorfja nieznaną niemal granic jak na takiego, małego bądź co bądź tworzu, występującego wyraźnie i w całej okazałości szczegółów dopiero przy 3000-tym powiększeniu.

Łamie światło prawie tak samo jak płyn w którym się znajduje, stąd obserwacja w stanie niebarwionym nader trudna. A jakżesz trudno się barwi! Trzeba użyć najsilniejszych sposobów barwienia, tak zwanej „surcoloration“ z uprzedniem bajcowaniem aby go zabarwić — przyczem w przeciwieństwie np. do bakterji odpornych na kwasy i alkohol lub do spor, trudno przyjmuje barwik ale łatwo go oddaje. Wystarczy czasem jedno przemycie dobrze zabarwionego preparatu czystym xylem, ażeby zupełnie barwę stracił. Ale i przy tej surkoloracji niektóre partje zostają ledwo że tylko podbarwione, podczas gdy zabarwienie innych jest

nadzwyczaj intensywne. Ustalenie preparatu odgrywać tu się zdaje także wielką rolę.

Badania które przeprowadzałem na kilku szczepach peri-pneumonii, między temi także jeden szczep odstąpiony mi nader uprzejmie przez paryski Instytut Pasteura, potwierdziły zgodnie z tem co zaobserwowano, wielką zmienność formy u zarazka, z którą nawet niełatwo dać sobie radę — niełatwo ją uporządkować i zamknąć w pewnych ramach. Aby się zorientować trzeba przedsiębrać badanie hodowli dzień po dniu od 24 godzin począwszy — można badać hodowlę wprost, ale koniecznie trzeba prowadzić badanie także na osadzie będącym produktem centryfugowania hodowli na centryfudze o wielu b. obrotach, np. 8.000 na minutę i trzeba troskliwie ustalać i barwić, barwić najlepiej metodą Loefflera służącą do barwienia witek z poprzedniem bajcowaniem i to energiczniem bajcowaniem. Barwić jak najsilniej ale troskliwie unikać stratów barwikowych.

Samo oglądanie tych serji preparatów nie daje dostatecznej orientacji — trzeba rysować patrząc do mikroskopu i to rysować wiernie i dużo, a to celem zorientowania się w chaosie form i w ich bogactwie, a także w okresach ich występowania.

Ale właściwy wgląd w sprawę daje dopiero mikrofotografia — nie w ultrafioletowem świetle — w świetle zwykłym przy użyciu zielonego filtru i przy blendowaniu światła możliwie jednak jak najsilniejszego. Płyta nietylko rejestruje rzeczy widziane, ustala je nader wiernie, płyta fotograficzna wydobywa z preparatu szczegóły niedostrzegalne wprost okiem. Fotografowanie jest w tym wypadku samo przez się sztuką badawczą i to wysokiego gatunku. Fotografowanie musi się, rzecz prosta, odbywać przy użyciu jak najdoskonalszego obiektywu i przy bardzo wysokiem powiększeniu, bo jednak jest to bądź co bądź b. mały zarazek, szczególnie w niektórych swych formach.

Gdy poddać badaniu hodowlę 24 godzinną, to czasem wogóle nic się tam nie znajduje, zwłaszcza gdy wysiew był skąpy — gdy wysiew był obfitszy napotyka się w preparatach barwionych albo wprost z hodowli albo z osadu po centryfudze, zwykle b. skąpego — drobne grudki-czy ciała słabo zabarwione, jednak bądź co bądź lekko różowe, tak że widać, że to są jakieś ciała — grudki plasmy. Te ciała, czy grudki, są zazwyczaj otoczone siedzącami na ich powierzchni drobnymi ziarnami, podłużnemi o końcu lekko ścięńczonym — tkwiącym w owej plasmie możnaby powiedzieć lekko zaostrozonym, podczas gdy drugi koniec tych podłużnych ciałek jest owalny.

Ma się tu do czynienia z oczywistym kiełkowaniem plasmy i podczas gdy bryłka plasmy jest ledwo-ledwo zabarwiona — kiełki same są zabarwione silnie, występują też na fotogramie jako ciemne nader wyraźne ziarna. Niektóre z nich są więcej wydłużone niż zazwyczaj, ale zachowały jeszcze kształt lekko klinowaty, są jednak już i takie, które przeszły w nitkę — że zaś przywykliśmy nici lub włoski występujące u tego rodzaju tworów nazywać grzybnią, przeto uważajmy to za grzybnię. Zresztą koncepcję naszą potwierdza ona sama, bo się rozgałęzia i obok owych plasmatycznych, słabo barwiących się tworów z młodziutkami wypustkami czy pączkami, napotykamy także twory noszące na swej powierzchni albo obok owych kiełków czy pączków nitki grzybni, jedną czy nawet więcej, mniej lub więcej długie, i często już rozgałęzione — albo niema już kiełków, a są tylko nitki same z rozgałęzieniami — grudka jednak pierwotnej plasmy jest jeszcze widoczna,

Nazwijmy te ciała słabo się barwiące i pączkujące, aby się jakoś móc porozumieć i niezagubić w bogactwie form ciałkami pierwotnymi elementarnymi. Ale jak nazwać wypustki silnie zabarwione — nie przypominają one w niczem pączków tworzonych przez komórki drożdżowe, raczej przypominają konidie n. p. na główce jakiegoś *aspergillus* (kropidlaka). Ale czy mamy prawo nazwać je konidiami lub pączkami, wszak to nietylko nazwanie jednej formy, jednego przejawu morfotycznego — to już wyznaczenie pasorzytowi miejsca w systemie. Niechże sobie zatem będą czy pączkami czy konidiami, my nie przesądzając rzeczy nazwijmy je ciałkami wtórnymi lub konidialnymi. Ciała te nie kiełkują już, ale po prostu wydłużają się w grzybnię dłuższą lub krótszą, mniej lub więcej rozgałęzioną.

Gdy się tym nitczkom mycelialnym uważniej przypatrzymy szczególnie na zdjęciach fotograficznych, to zauważymy w ich wnętrzu drobne ziarenka, jako ciemne drobne punkciki w niewielkiej ilości występujące tu i ówdzie rozrzucone, które absolutnie nie mają nic wspólnego z łańcuszkami, leżą zdale od siebie i rzadko, a są b. małe. Zatem w nitkach mycelialnych powstają b. małe, zbliżające się, już niemal do submikronów ziarenka, których celu powstania trudno się domyśleć a dalszy ich los jest na razie nie znany. Celem klasyfikacji oznaczymy je mianem ziaren śródmycelialnych.

Otóż powyższe formy napotyka się nieraz już po 24 godzinach, ale rzadziej i w skąpej ilości, natomiast dość obficie występuje w 48 godzinnych hodowlach. Jednak już w 24 godzinnych hodowlach przydarzają się obrazy gdzie już niema ciała

pierwotnego a mamy tylko do czynienia z grzybnią i to grzybnią nieraz wcale pokaźną i rozgałęzioną, zawierającą w mniejszej lub większej ilości owe drobne ziarenka, które nazwaliśmy ciałkami śródmycelialnymi.

Nitki mycelialne wydają się być rzeczywistą grzybnią, wcale nie są one zaś jakimś śluzem czy otoczką śluzową, dającą obrazy pseudomycelialne. Tak te nitki jak i ich rozgałęzienia nie mają też nic wspólnego z układem łańcuszkowym ziarników, które jakoby dzieląc się w różnych kierunkach tworzyły wyjście do ramifikacji. Nic podobnego, są to delikatne nitki mycelialne z rozgałęzieniami a w ich wnętrzu tu i ówdzie bardzo drobne, pojedynczo leżące ziarenka, silnie zabarwione.

Niełatwo także zdać sobie sprawę z tego, czy te nitki posiadają jakąś otoczkę niebarwiącą się. Jeżeli posiadają, to w takim razie b. delikatną i niebarwiącą się wcale, wskazywałoby na to b. delikatne, ledwo spostrzegalne halo, które się zdaje obrabiać dookoła gałązki grzybni, a które daje się obserwować i dookoła innych form tego morfotycznie niesamowitego zarazka. Trudno jednak z całą pewnością stwierdzić czy taka otoczką istnieje czy też nie, zresztą jest to szczegół uboczny i bez większego znaczenia.

Pojawiają się także, choć rzadko w hodowlach 48 godzinnych a nawet już i w 24 godzinnych drobne konglomeraty mycelialne, prawdziwe kolonie pływające, analogiczne do tych, jakie Orskow obserwował na agarze wkrótce po wysianiu, podobne do młodziutkiego thallus jakiegoś np. penicillium (pędzelkowca), tylko że z tysiąc razy mniejszym, lub do młodych koloni promienicy.

Pojawia się w tym okresie jeszcze jedna forma naszego zarazka, o której niemal wszyscy autorzy wspominają, to jest forma pierścieniowata, pojawiająca się dość licznie nawet, prawie zaś nigdy osobno, a zawsze łącznie z nitkami mycelialnymi, przyczepiona albo gdzieś do końca takiej nitki, albo leżąc w jej przebiegu, względnie w jej rozgałęzieniach, to znaczy że od takich właśnie pierścieni odchodzą często rozgałęzienia. Twory te mają rzeczywiście kształt pierścieni — obrączka wyraźna — środek zupełnie pusty. Nie sądzę, jednak aby tak było — takiego przykładu niema niemal w naturze — niema w mikrobiologii. Nie sądzę też, żeby to były pierścienie. Są to zapewne ciała plasmatyczne, gdzie tylko zewnętrzna warstwa plasmy, ektoplasma, przyjmuje barwik a reszta plasmy pozostaje niezabarwiona — plasmy, czy wogóle treści nam bliżej nie znanej.

Podczas następnych dób i dni odbywa się dalsza ewolucja morfologiczna — pożywka wypełnia się nitkami mycelialnymi najróżnorodniejszego kształtu i kalibru i najdziwaczniej rozgałęzionymi — jest to raczej pajęcza niż włosowata, która może właśnie jako taka organizuje się w pożywce a dopiero badanie rwie ją we fragmenty.

Są zatem nitki dłuższe lub krótsze, często pojedyncze, z reguły rozgałęzione i to jak najobficiej i jak najróżnorodniej. Nici te są rozmaicie grube; i tak n. p. oto środkowa gruba nic od której na wszystkie strony odgałęziają się już cośkolwiek cieńsze i od tych jeszcze cieńsze, cieńcejące ku końcowi w najcieńszą przędę pajęcza, choć to przecie powiększenie 3.000 razy. Niektóre pojedyncze niteczki lub nitki robią wrażenie wibrionów pojedynczych lub spirochet.

Zabarwienie tych nitek jest nierównomierne. Pewne ich partie, zwykle grubsze odcinki zabarwione są b. intensywnie, podczas gdy inne są zabarwione słabo, a niektóre, szczególnie b. cienkie, ledwo że widoczne.

W tych grzybniach owych ziarenek, o których mowa była powyżej nie wiele się widzi — natomiast napotyka się jednak jeszcze owe pierścienie, choć b. nieliczne. Dla porządku dajmy nazwę i tym pierścieniowatym ciałom, albo raczej zatrzymajmy tę, jaką im nadano i zwijmy je ciałkami pierścieniowatymi.

W gałązkach, możnaby powiedzieć niemal w krzewach mycelialnych, zaczynają się niebawem pojawiać różne twory od nici różne, o kształcie mniej lub więcej do kuli zbliżonym, często w formie brył i bryłek nieforemnych zwykle dość intensywnie zabarwionych, nieraz w stosunku do innych form tu napotykanym nadmiernie dużych. Jest to początek inwolucji — przemiany grzybni w twory bryłkowate o wielkiej różnorodności kształtu, która w każdym dalszym dniu staje się ogólniejszą i coraz bardziej zdaje się skupiać a następnie rozdrabniać plasmę naszego morfotycznie niezwykłego pasorzyta.

Cała morfologia okresu mycelialnego wcale nie robi wrażenia czegoś przypadkowego np. powyciągania się w nitki i niteczki jakiejś otoczki śluzowatej — nie — te kształty poddają się pewnym prawdom, powstały według pewnych praw, tak jak według pewnych praw powstają gałęzie drzew i krzewów.

Ale powróćmy na moment jeszcze do naszych ciałek pierwotnych — tu zdarzają się obrazy, które trudno zrozumieć N. p. dwa ciała pierwotne, z których każde pokryte jest ciałkami pochodnymi, są połączone grubą nitką mycelialną? Jak taka figura powstać mogła — czyżby zeszyły się z sobą dwie niteczki

mycelialne wychodzące z dwóch różnych ciałek pierwotnych? Takich obrazów jest więcej — ale dopiero długie i liczne studia będą mogły rozwikłać tę skomplikowaną morfologię choć okazującą cechy pewnej pierwotności.

Jak wspomniałem powyżej ciałaka pierwotne, czyli elementarne b. słabo przyjmują barwik, podczas gdy powstające z nich przez kielkowanie ciałaka wtórne, względnie konidialne barwią się intensywnie. Cóż to są te ciałaka elementarne i skąd one się biorą? Otóż śledzenie całego rozwoju zarazka wykazuje, że są one niejako ostatnim elementem, ostatnim członem ewolucji morfologicznej mycelialnych form zarazka. Otóż owe nitki mycelialne zmieniają się o tyle, że miejscami nabrzmiwiają, ich plasma skupia się w kule i w bryłki, nieraz wcale duże, przy czym przeważnie te zgrubienia słabo się barwią, choć niektóre z nich, szczególnie kulistego i bryłkowatego kształtu, barwią się raczej intensywnie. Przeważa jednak ilość plazmy słabo się barwiącej. Otóż te skupienia plasmatyczne, te cieńsze i grubsze nici plasmatyczne, w znacznie przeważającej ilości słabo się barwiące, rozpadają się na drobniutkie kuleczki, i bryłki, w znacznej części tak drobne, że je przy powiększeniu około 3.000 razy zaledwie dojrzeć można. Te właśnie kulki i bryłki powstałe z opisanego powyżej rozpadu plazmy, to są właśnie nasze ciałaka elementarne czyli pierwotne, które przeniesione na świeżą pożywkę kielkują wydając ciałaka wtórne czyli konidialne, które znowu wyrastają w nitki mycelialne, ulegające następnie przeobrażeniu i rozpadowi — i to jest cykl rozwojowy zarazka.

Bryłki będące produktem procesu inwolucyjnego nici mycelialnych przeważnie i w największej części barwią się słabo ale mniejsza ich część barwi się intensywnie tak, że obok liczniejszych słabo zabarwionych, napotyka się mniej liczne, silnie zabarwione. Jednak nie spotykałem, jak tylko niezmiernie rzadko obrazy wskazujące na to, że i intensywnie zabarwione bryłki kielkują, z reguły kielkują tylko słabo zabarwione ciałaka pierwotne, albo być może że kielkując ciałaka zdolne do przyjęcia barwika, tracą tę właściwość w okresie kielkowania.

Rozpadanie się micelii i skupień plasmatycznych na ciałaka elementarne ma miejsce już w parodniowej hodowli n. p. już w trzydniowej, w szerszym zakresie występuje jednak dopiero gdzieś piątego dnia i im hodowla starsza tem dokładniej jest złożona właśnie z takich elementarnych ciałek, które przeniesione na świeże podłoże kielkują i przechodzą zwykły swój cykl ewolucyjny.

Uważna obserwacja mikroskopowa a szczególnie zglębianie rzeczy drogą mikrografji wykazuje, że ciała elementarne są raczej drobnymi bryłkami niż kulkami i że daleko im do tego ściśle określonego kształtu i ostrych konturów, jakie obserwujemy u bakteryj, których plasma jest zróżniczkowana w ekto- i entoplasmę — przyczem gęstsza ektoplasma nadaje im właściwy stały kształt. U ciałek elementarnych nie obserwuje się nic takiego, co by przemawiało za istnieniem ektoplasmy i czynią one wrażenie maleńkich bryłek, czy kropelek gęstej, półpłynnej, masy, względnie cieczy. Czynią wrażenie bezpostaciowej plasmy występującej w drobnutkich bryłkach czy kropelkach, bezpostaciowej w znaczeniu morfologicznem, gdyż postać kropelki, jaką okazują, zawdzięczają prawom fizykałnym a nie morfologicznym. Byłby to zatem fenomen na razie odosobiony, znajdujący analogję do pewnego stopnia tylko u śluzowców, że plasma bezpostaciowa występująca w formie bryłek, względnie kropelek, wyposażona pewnemi stałemi właściwościami biologicznemi rozwijając się przybiera pewne dość ściśle określone formy morfotyczne aby ewolucją dojść znowu do drobnych, na granicy ultramikroskopji znajdujących się bryłek. Ponieważ ta prymitywna plasmatyczność naszego zarazka wydaje się mi rzeczą najważniejszą przeto nazwałem go „plasma“ a ponieważ kształty jego rozwoju ewolucyjnego odpowiadają grzybni, przeto nazwa jego brzmi w całości: *Mycoplasma peripneumoniae contagiosae bovis*.

Być może, że takich zarazków znajdzie się więcej i jest rzeczą prawdopodobną, że także zarazek agalaksji kóz i owiec wykryty przez pp. Bridré i Donatien do takich należy zarazków.

Zdolność filtrowania się zarazka peripneumonii należałoby raczej może przypisać nie tyle jego małości jak raczej na pół płynnej konsystencji jego ciałek elementarnych a i innych form morfotycznych, które jako półpłynne łatwo adaptują się do kształtów por i kanalików w ścianach filtrów i w ten sposób przeciskają się przez nie.

Zalącam rysunki robione z natury za pośrednictwem mikroskopu — mają one za zadanie dać szemat rozwoju tego zagadkowego mikroba, mikrofotogramy zaś jako dowody, zostały podane gdzieindziej.

Być może, że mikrob wywołujący zarazę płucną, przesączalny a jednak widzialny, stanowiący pomost między zarazkami widzialnemi a ultramikroskopowemi będzie także kluczem pozwalającym nam otworzyć tajemniczą, bramę, prowadzącą do tych nieznaných nam a tak ważną rolę odgrywających zarazków.

Badania nad tego rodzaju zarazkami wymagają nietylko jak najdoskonalszych środków optycznych, wymagają najnowszych i najdoskonalszych urządzeń laboratoryjnych, wymagają pracowni mikrofotograficznej, również jak najlepiej wyposażonej, co samo jednak jeszcze nie wystarcza, bo do pracowni potrzeba kogoś, ktoby przez długie doświadczenie opanował wszechstronnie metodę badania zapomocą mikrofotografji — wymagają wreszcie personalu naukowego do tego rodzaju badań przysposobionego i któreby o ile możności były jedynem jego zajęciem. W miarę sił materialnych własnych jakie miałem do rozporządzenia starałem się stworzyć koło siebie taką aparaturę i taką pomoc naukową. Prowadzenie hodowli zarazka peripneumonii i agalaksji, oraz przygotowanie preparatów i barwienie ich objął Dr. Wincenty Wróblewski wówczas mój osobisty asystent, w co włożył niepoślednią dozę pracy, wytrwałości i inwencji, modyfikując odpowiednio metody barwienia i przeprowadzając niezliczone próby. Techniczny pomocnik funkcjonujący w Instytucie jako naukowa siła pomocnicza, miał za zadanie przygotować szkiełka na preparaty, co w tym wypadku wcale nie jest rzeczą prostą, odcentryfugowywać z hodowli potrzebny do badań osad na specjalnej centryfudze o maksymalnej ilości obrotów, pomagać przy zdjęciach mikrofotograficznych i t. p. — tylko przy tak zorganizowanej pomocy, rozporządzając wszelką potrzebną aparaturą, można prowadzić tego rodzaju badania z nadzieją uzyskania pozytywnych rezultatów.

Szemat form rozwojowych zarazka peripneumonii.

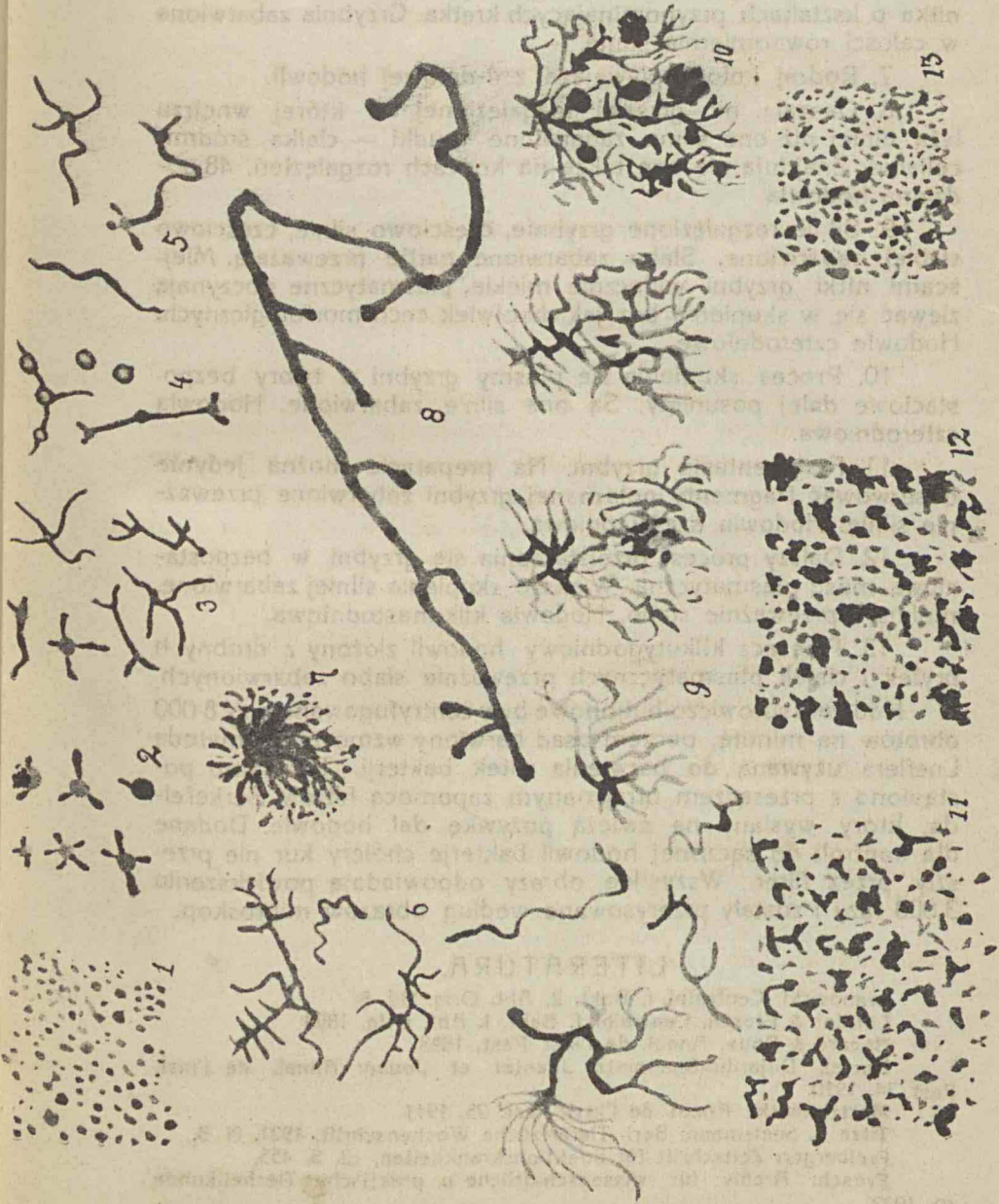
1. Hodowla dwudziestodniowa — ciała elementarne czyli pierwotne w formie maleńkich bryłek kształtu mniej lub więcej zbliżonego do kulistego.

2. Hodowla 48 godzinna. Ciała elementarne w stadium kiełkowania. Ciała zabarwione są słabo, natomiast wydobywające się z nich kiełki, czyli ciała wtórne, względnie konidialne silnie zabarwione. Jedno tylko z kiełkujących ciałek jest silnie zabarwione.

3. Dalsze stadium kiełkowania. Ciała wtórne — konidialne — uległy wydłużeniu i przeobraziły się już w krótkie nitki micelialne. Na jednej figurze wcale już nie widać ciała elementarnego i jest tylko sama rozgałęzioną grzybnia.

4. Twory pierścieniowate wolno leżące i połączone nitką micelialną. Obok dwa kiełkujące ciała elementarne połączone nitką micelialną zgrubiałą w środku.

5. Ciała elementarne kiełkujące; kiełki prezentują się częściowo jako ciała konidialne, częściowo zaś już jako nitki



micelialne. Obok wolna nitka micelialna, przypominająca kształtem krętka.

6. Grzybnia rozgałęziona pochodząca (na dole) z 48 godzinnej oraz (na górze) z czterodniowej hodowli. Między niemi nitka o kształtach przypominających krętka. Grzybnia zabarwiona w całości równomiernie silnie.

7. Rodzaj kolonji pływającej z 4-dniowej hodowli.

8. Okazała nić grzybni rozgałęzionej, w której wewnątrz leżą silniej niż ona sama zabarwione grudki — ciała śródmicelialne. Znajdują się one także na końcach rozgałęzień. 48 godzinna hodowla.

9. Silnie rozgałęzione grzybnie, częściowo silnie, częściowo słabiej zabarwione. Słabo zabarwione partje przeważają. Miejscami nitki grzybni widocznie miękie, plasmatyczne poczynają zlewać się w skupienia bez jakichkolwiek cech morfologicznych. Hodowle czterodniowe.

10. Proces skupiania się plasmy grzybni w twory bezpostaciowe dalej posunięty. Są one silnie zabarwione. Hodowla czterodniowa.

11. Fragmentacja grzybni. Na preparacie można jedynie obserwować fragmenty połamanej grzybni zabarwione przeważnie silnie. Hodowla sześciodniowa.

12. Dalszy proces przeistaczania się grzybni w bezpostaciową masę plasmatyczną. Wększe skupienia silniej zabarwione, mniejsze przeważnie słabo. Hodowla kilkunastodniowa.

13. Przesącz kilkutygodniowy hodowli złożony z drobnych bryłek i ciałek plasmatycznych przeważnie słabo zabarwionych.

Hodowle surowiczobuljonowe były centrifugowane przy 8 000 obrotów na minutę, poczem osad barwiony wzmocnioną metodą Loefflera używaną do barwienia witek bakterji. Tak samo postąpiono z przesączem otrzymanym z pomocą filtrów Berkefelda, który wysiany na świeżą pożywkę dał hodowle. Dodane dla kontroli do sączonej hodowli bakterje cholery kur nie przeszły przez filter. Wszystkie obrazy odpowiadają powiększeniu 3.000 razy i zostały przerysowane według obrazów mikroskop.

LITERATURA.

- Iwanowski. Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Orig. Bd. 5.
Löffler & Frosch. Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig. 1898.
Nocard & Roux, Annal. de l'Inst. Past, 1898.
Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan: Annal. de l'Inst. Past. 34, 1910.
Martznowski: Annal. de l'Inst. Past. 25, 1911.
Titze u. Seelemann: Berl. Tierärztliche Wochenschrift, 1921, N. 3.
Freiberger: Zeitschrift für Infektionskrankheiten, 12. S. 455,
Frosch: Archiv für wissenschaftliche u. praktische Tierheilkunde 49, 1922.
" Archiv für wissenschaftliche u. praktische Tierheilkunde 49, No. 6. 1923.
Bechhold u Sierakowski: Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 106, 1926.