PIĘĆ ODCZYTÓW

O BAKTERYJACH.

RYS ZASAD OGÓLNYCH BAKTERYJOLOGII W ZASTOSOWANIU DO CHORÓB ZARAŹLIWYCH Z DOŁĄCZENIEM UWAG O SZCZEPIENIACH OCHRONNYCH.

PODAŁ

Dr O. BUJWID.

ODCZYT II.

Prace bakteryjologiczne i ich wykonywanie. Przygotowanie środków odżywczych i bulionu, żelatyny, agar-agar. Hodowle metodą PASTEURA w bulionie. Hodowle metodą KOCHA na ośrodkach stałych. Rozdzielanie na płytkach. Badanie pod mikroskopem. Barwienie. Przygotowanie stałego preparatu. Przygotowanie innych ośrodków stałych: surowicy krwi, kartofla i chleba. Badanie własności – szczepienie na zwierzętach. Przygotowanie skrawków. Badanie powietrza i wody.

Przedewszystkim dla sztucznego hodowania bakteryj musimy przygotować dla nich odpowiednie środki odżywcze. Bulion z wołowego mięsa, jakeśmy widzieli nadaje się do tego zupełnie dobrze, trzeba go jednakże przygotować tak, aby był zupełnie wyjałowionym t.j. nie zawierał żadnych zarodników, i mógł wskutek tego być długo przechowywanym w stanie zdatnym do użytku, bez rozkładu.

W tym celu przyrządzamy go w następujący sposób.

Funt świeżego wołowego mięsa, wolnego od nadmiaru tłuszczu i drobno posiekanego, nalewamy litrem (kwarta) wody w mocnym szklanym słoju, mięszamy pałeczką szklaną i stawiamy na lodzie na 15 – 20 godzin. Po upływie tego czasu cedzimy sok przez płótno i otrzymujemy w ten sposób wodnisty czerwony płyn, stanowiący wyciąg rozpuszczalnych części z mięsa.

Płyn ten zlewamy do kolby, t.j. do szklanego naczynia w kształcie kuli z szyją, (przypomina karafkę do wody) dodajemy doń 10 gramów suchego mięsnego peptonu (rozpuszczalnej materyi białkowatej) i 5 gramów soli kuchennej. Następnie zobojętniamy płyn, który posiada dość kwaśny odczyn, barwi bowiem papierek lakmusowy na

czerwono. W tym celu dolewamy potrosze nasyconego roztworu węglanu sody dopóty, dopóki płyn nie będzie nadawał papierkowi lakmusowemu lekko niebieskiego odcienia.

Następnie gotujemy płyn. Gotowanie wprost na ogniu jest niedogodnem, gdyż kolby łatwo pękają, dlatego też lepiej jest gotować bulion w parowym aparacie, który opiszemy poniżej.

Jest to mianowicie rodzaj wysokiego na 1/2 do 1 metra kociołka z przykrywką, obłożonego ze wszystkich stron warstwą wojłoku dla zatrzymania ciepła. Na spód kociołka leje się woda, po nad nią znajduje druciany ruszt lub kratka, na której umieszcza się kolby lub w ogóle wszystko, co ma być gotowanem nad parą. Kociołek ogrzewa się z pod spodu gazem, woda zaczyna gotować się i wydzielać obłoki pary, w której zostają ugotowane płyny, umieszczone w naczyniach szklanych, stojących na ruszcie. W takim tedy przyrządzie gotujemy nasz bulion w ciągu godziny. Po ugotowaniu przystępujemy do cedzenia. W tym celu umieszczamy w szklanym lejku bibułowe filtry sporządzone w następujący sposób. Ćwiartkę białej bibuły, zwykle do filtrowania używanej, składamy we czworo, tak, że po obcięciu brzegów otrzymujemy czwartą część koła o kącie prostym; dalej składamy bibułę do możliwie ostrego kąta, poczem rozkładamy ją, wyrównujemy fałdki i układamy na lejku tak, aby brzegi fałd opierały się o powierzchnię lejka. Po przecedzeniu bulionu przez taki filtr bibułowy, zlewamy go do próbówek (inaczej epruwetek), t.j. szklanych rurek zaopatrzonych dnem z jednej strony, sterylizowanych uprzednio i zatkanych watą.

Co to jest sterylizacja i jak się dokonywa, postaramy się zaraz objaśnić. Wiadomo, że w powietrzu unoszą się zarodniki bakteryj, – razem z powietrzem przenikają one wszędzie, znajdować się więc mogą i w próbówkach, do których bulion zlać zamierzamy. Ponieważ, jak wiemy, bulion jest odpowiednim gruntem dla bakteryj, zlany zatem do próbówek zawierających przypuszczalnie zarodniki bakteryj zepsułby się i zmętniał w krótkim przeciągu czasu. Dla tego też powinniśmy przygotować próbówki tak, ażeby w nich żywych zarodników nie było. W tym celu starannie wymyte i wysuszone próbówki zatykamy watą i w drucianym czworobocznym koszyku wstawiamy w piecyk blaszany. Ogrzewamy piecyk gazem z pod spodu do ciepłoty 150°C wówczas mamy pewność, że wszelkie zarodniki znajdujące się w próbówkach zostały zabite. Ta czynność ogrzewania do wysokiej temperatury, w celu zabicia zarodników bakteryjalnych nazywa się sterylizacją, po polsku ubezpładnianiem, lub wyjaławianiem.

Do takich tedy sterylizowanych próbówek zlewamy nasz bulion. Że jednak podczas nalewania w próbówki, do bulionu zarodniki przeniknąć mogą, potrzeba go po zlaniu w próbówki jeszcze raz sterylizować, gotując na parze przez kwadrans. Dla pewności taką 15 minutową sterylizacją można po ostygnięciu bulionu po kilku godzinach raz lub dwa razy powtórzyć.

Tak przyrządzony bulion na pewno się nie zepsuje i nic się w niem nie rozwinie, zdatny jest zatem do użytku, t.j. możemy w nim hodować bakteryje sztucznie. W tym celu, jeśli zechcemy wyhodować np. bakteryje karbunkułu, dotykamy do kropli krwi zwierzęcia padłego na tę chorobę końcem platynowego drucika, wypalonego uprzednio w płomieniu dla zabicia przypuszczalnie istniejących na nim zarodników z powietrza, a dotykamy po ostudzeniu drucika, aby nie zabić bakteryj karbunkułowych które badać mamy; drucik ten z kropelką krwi na końcu zanurzamy w czysty bulion. Po upływie kilkunastu godzin, bakteryje karbunkułowe rozwiną się obficie, jeżeli całe postępowanie

było ostrożnem, w bulionie rozwiną się tylko bakteryje karbunkułowe, gdyż we krwi zwierząt znajdują się one zwykle bez domieszki żadnych obcych. Taki bulion zawierający litylko żądane bakteryje, nazywa się czystą hodowlą. Czyste hodowle jednakże otrzymać w bulionie nadzwyczaj trudno: przy wszelkich ostrożnościach dostać się może do próbówki jakiś obcy zarodnik, wówczas dwa lub kilka gatunków bakteryj rosnąć będzie obok siebie. Odosobnić jedne od drugich będzie nadzwyczaj trudno, a nawet niepodobna; dla tego też dla otrzymywania czystych hodowli lepsze są ośrodki nie płynne lecz stałe, jak np. galaretka z żelatyny kuchennej białej lub wodorostu japońskiego agar-agar. Hodowania na ośrodkach płynnych nauczył nas PASTEUR, zaś na ośrodkach stałych KOCH. Temu głównie zawdzięczamy nasze postępy bakteryjologii.

Chcąc taką galaretę przygotować – robimy naprzód bulion tak jak opisaliśmy wyżej, z tą tylko różnicą, że przed rozpoczęciem przygotowania dodajemy doń 10% żelatyny, (t.j. 100 gramów na litr bulionu) lub 2% agar-agaru (20 gr. na litr bulionu).

Po ugotowaniu, przefiltrowaniu i wysterylizowaniu, otrzymujemy z żelatyny galaretę zupełnie przezroczystą o złotawym połysku, cokolwiek zaś mętniejszą z agar-agaru, mającą jednak tę przewagę, że nie rozpuszcza się przy podwyższonej ciepłocie tak łatwo jak żelatyna.

Jeżeli teraz zamiast bulionu przeniesiemy cząstkę krwi karbunkułowej do żelatyny, wkłuwając w nią umaczany drucik, wówczas bakteryje karbunkułowe rozwijać się będą skupieniami, czyli kolonijami, w tej tylko części żelatyny, gdzieśmy drucikiem dotknęli. Nadzwyczaj ważną jest okoliczność, że na żelatynie każdy gatunek bakteryj rośnie odmiennie, jedne np. mają własność rozrzedzenia żelatyny, inne wytwarzania na niej barwników np. czerwonego, zielonego, żółtego, fioletowego, inne rosną w postaci mętu lub obłoczków, inne wreszcie puszczają w żelatynę jak gdyby korzonki (złożone z całych skupień bakteryj).

Jeżeli zatem przypadkowo oprócz żądanej, wkradnie się do żelatyny obca jakaś domieszka, łatwo będzie jej obecność już gołym okiem odróżnić, a to po odmiennem rośnięciu. Wówczas za pomocą tegoż drucika przenosimy do próbówki z czystą żelatyną ten tylko gatunek, który nam jest potrzebny, starając się o ile możności drugiego drucikiem nie dotknąć. W ten sposób łatwo hodowlę oczyścić można. Jeżeli jednak dwa lub kilka gatunków bakteryj rosną przy sobie tak blisko i tak są zmięszane, że dotykając drucikiem niepodobieństwem jest wziąć jedne, nie dotknąwszy drugich, – wówczas hodowle oczyszczamy w inny sposób.

Próbówkę z żelatyną ogrzewamy do 37°C, ażeby żelatynę rozpuścić. Do tak rozrzedzonej żelatyny, wprowadzamy za pomocą drucika bakteryje, które rozdzielić zamierzamy. Mięszamy następnie starannie żelatynę, obracając ją szybko w palcach, ażeby bakteryje rozeszły się po całej żelatynie jednostajnie.

Następnie wylewamy żelatynę na szklana płytkę czyli tafelkę, uprzednio w piecyku wysterylizowaną, a umieszczoną poziomo na tafli oziębionej lodem z pod spodu. Po kilku sekundach, żelatyna na płytce zastyga. Wówczas kładziemy płytkę do dzwonu szklanego, przykrywamy drugim takimże dzwonem, przystającym do pierwszego w ten sposób, że z powietrza z zewnątrz mikroby opaść nie mogą. Po kilku dniach, żelatyna rozlana na płytce pokryje się białemi lub też barwnemi punkcikami, leżącemi jedne od drugich w pewnej odległości, tak że się z sobą nie stykają.

Każdy taki punkcik jest to oddzielna kolonija bakteryj, składa się ona z tysięcy pojedyńczych rozwinęła się zaś z pojedyńczej bakteryi lub zarodnika, któreśmy do żelatyny wprowadzili. W ten sposób każdy gatunek bakteryj rozwinie się oddzielnie w osobną kolonią. Zbadawszy pod mikroskopem który z punkcików jest kolonią bakteryj żądanych, za pomocą drutu dotykamy się do tego punkcika i wkłuwamy wziętą cząstkę, czyli szczepimy do próbówki z żelatyną. Wówczas możemy być pewni, że w żelatynie rozwinie się tylko ten gatunek, któryśmy zaszczepili.

Wspomnieliśmy przed chwilą: „badamy pod mikroskopem", musimy obecnie powiedzieć jak się to badanie dokonywa. Bierzemy małe kwadratowe szkiełko, cieniutkie jak papier; zmywamy je wodą i wycieramy starannie, ażeby kurzu na niem nie było. Tylokrotnie już przez nas wspomnianym drucikiem (ma się rozumieć wypalonym) puszczamy na szkiełko kropelkę destylowanej wody lub sterylizowanego bulionu, następnie tymże na nowo wypalonym drucikiem dotykamy kolonii którą zbadać chcemy, i rozcieramy bakteryje, które do drucika przystały, na szkiełku. W tym celu drucik powinien posiadać na końcu małe kółeczko. Po wysuszeniu przeprowadzamy szkiełko, trzymając je w szczypczykach (pincette) przez płomień dla lepszego przytwierdzenia bakteryj, następnie zabarwiamy bakteryje dla łatwiejszego rozpatrywania (same one bowiem są bezbarwne, przezroczyste). W tym celu na szkiełko z bakteryjami, czyli na preparat, puszczamy kilka kropel mocnego wodnego roztworu jakiegokolwiek anilinowego barwnika np. różowego, fuksyny, poruszamy szkiełkiem w jedną i drugą stronę, opłukujemy szkiełko wodą destylowana, kładziemy je na inne większe i rozpatrujemy pod mikroskopem.

Chcąc preparat na stałe zachować, zdejmujemy cienkie szkiełko z bakteryjami, osuszamy na powietrzu, na większe zaś szkiełko puszczamy kroplę balsamu kanadyjskiego, przechowywanego w blaszanej kapsli, kładziemy nań wysuszony preparat, który utrwala się w ten sposób, że jedno szkiełko od drugiego już odpaść nie może.

Oprócz bulionu, żelatyny i agar-agaru, dobrym gruntem dla rozwoju niektórych szczególnie bakteryj jest surowica krwi, jak również kartofle i chleb.

Surowica winna pochodzić z krwi wołowej lub owczej i musi być zbieraną bezpośrednio na miejscu zabicia zwierzęcia. W tym celu podstawiamy pod strumień krwi bijący z przeciętych naczyń szyjowych słój szklany, po napełnieniu którego przykrywamy go i stawiamy na lodzie na 24 lub 36 godzin. W ciągu tego czasu surowica wydzieli się w postaci przezroczystego żółtawego płynu, który należy zlać ostrożnie, aby czerwonych ciałek nie wpuścić: zaraz też porozlewać w sterylizowane próbówki.

Napełnione do 1/3 objętości próbówki przenosimy do przyrządu ogrzewanego wodą, mającego postać prostokątnej skrzynki, umieszczonej na ruchomych nóżkach.

Dno przyrządu ustawiamy ukośnie, aby surowica w próbówkach rozlała się po możliwie dużej powierzchni i zaczynamy ogrzewanie do 70°C. Po upływie 1 – 2 godzin, surowica ścina się i zawartością przypomina białko jajka kurzego, ugotowanego na twardo.

Surowica przyrządzona w ten sposób, jeśli tylko była czysto i w zimnie otrzymaną, nie psuje się po najdłuższym czasie: sterylizacja jest tu niepotrzebną, chyba jeżeli przypuszczamy, że mogą się znajdować niewylężone zarodniki bakteryj, wiadomo bowiem, że ciepłota 70° nie zabija zarodników. Jeżeli więc po 1 – 2 godzinowem ogrzewaniu do 60 – 70°, pozostały jeszcze zarodniki, to w ciągu 24 godzin rozwiną się z nich

bakteryje, te zaś przez ponowne ogrzewania dnia następnego do tejże ciepłoty, zostaną zabite, bakteryje bowiem już przy 50° żyć nie mogą. Gdy zaś jeszcze jakie zarodniki powstaną, to wszystkie bakteryje z nich powstać mogące zostaną zabite takiem kilkakrotnem, codzień powtarzanem ogrzewaniem.

Kartofle, mające być użyte pod hodowle bakteryj, powinny być przygotowane również we właściwy sposób.

Przede wszystkim należy je uwolnić od wszelkich zanieczyszczeń. Uskuteczniamy to, obmywając je szczoteczką w ciągłym strumieniu wody, następnie moczymy kartofel w roztworze sublimatu 1: 1000 przez pół godziny, aby zabić zarodniki bakteryj, mogące się na naskórku kartofla znajdować. Następnie gotujemy kartofle przez pół godziny w strumieniu pary wodnej w przyrządzie opisanym przez nas, przy przygotowywaniu bulionu i żelatyny. Po ostudzeniu bierzemy kartofel dwoma palcami umaczanemi w roztworze sublimatu, świeżo wypalonym lecz nie gorącym nożem przekrawamy na dwie połowy i kładziemy przekrojem do góry do szklanego klosza. Następnie za pomocą wypalonego nożyka lub drucika platynowego rozcieramy po powierzchni kartofla cząstkę żądanych bakteryj i klosz przykrywamy drugim podobnym tak, jakeśmy to robili przy hodowlach na płytkach. Wszystko należy robić szybko, aby zarodników z powietrza nie dopuścić. Po upływie 1 – 2 dni, powierzchnia kartofla pokrytą zostaje obficie kolonijami zasianych bakteryj. Niektóre gatunki rosną na kartoflach bardziej charakterystycznie niż na żelatynie lub agar-agar dlategoteż używamy kartofla do hodowli dość często i pod różnemi postaciami. Tak np. przygotowuje się z nich kasza w ten mianowicie sposób, że gotowane kartofle rozciera się na massę, wkłada się po trosze takiej massy do kolbek ERLENMAYER'a (szklane flaszeczki, stożkowatej formy) dolewa się wody, ażeby massa nie była zbyt gęstą i na dnie kolbki równo rozłożyć się mogła, zatyka korkiem i sterylizuje na parze. W ostatnich czasach, zaczęto przygotowywać kartofle jeszcze inaczej, a to w ten sposób, że obrane i pokrajane w plasterki kartofle umieszcza się w szklanych płaskich naczyńkach z przykrywkami szczelnie przystajacemi i w tych naczyńkach gotuje na parze przez 1/2 godziny, a następnie jeszcze kilkakrotnie sterylizuje.

Ażeby skończyć ze środkami odżywczymi dla bakteryj, wspomnieć jeszcze musimy, jak przygotowywuje się chleb pod hodowle.

Wysuszony i miałko utarty chleb, wsypujemy do kolbki ERLENMEYER'a, dolewamy wody do otrzymania niezbyt gęstej kaszy, zatykamy watą i gotujemy w parowym przyrządzie, przez 2 lub 3 dni po pół godziny. Ośrodek chlebowy jest również bardzo dobrym gruntem dla niektórych bakteryj, przeważnie jednak służy do hodowli pleśni.

Znając grunta odżywcze dla bakteryj odpowiednie, znając również sposoby szczepienia i oczyszczania bakteryj, otrzymać możemy łatwo różne gatunki drobno-ustrojów w czystych hodowlach.

Posiadając tedy żywe, i rozwijające się bakteryje, uwięzione, że tak się wyrazimy, w próbówkach możemy przystąpić do badania ich własności.

Niektóre z tych własności poznaliśmy już uprzednio. Wiemy np., że wysoka temperatura zabija je i niszczy, dowiemy się teraz, że zbyt niska ciepłota również niekorzystnie wpływa na ich rozwój, chociaż przy 0° jeszcze doskonale żyć mogą, czego dowodem, że w lodzie np. znaleźć ich można mnóstwo. Również zabójczo – jak wysoka lub zbyt

niska ciepłota, działają na bakteryje różne substancje chemiczne, jak to chlorek rtęci, sublimatem zwany, kwas karbolowy, solny, azotny it.p.

Dalej słyszeliśmy kilkakrotnie, że bakteryje powstają z zarodników i domyślaliśmy się, prawdopodobnie, że zarodniki są mniej więcej tem dla bakteryj, czem np. jajka lub nasiona dla istot wyższych. Obecnie mamy możność bliższego zbadania tych zarodników. dowiedzenia się czem one są właściwie i jak i wskutek czego powstają. Jeżeli do próbówki z żelatyną zaszczepimy, jakiekolwiek bakteryje np. karbunkułowe, pozostawimy je na czas dłuższy np. 3 lub 4 tygodnie, a po upływie tego czasu zrobimy z nich preparat i rozpatrzymy pod mikroskopem, spostrzeżemy, że bakteryje nie przedstawiają nam się w postaci laseczek równej grubości, tak jak to widzieliśmy u bakteryj karbunkułowych, branych wprost ze krwi lub z hodowli świeżej na drugi lub 3-ci dzień po zaszczepieniu. lecz wewnątrz niektórych widać zgrubienie, w którem znajduje się owalne mocno połyskujące ziarnko. Jestto zarodnik bakteryi karbunkułowej, w każdej bakteryi jeden tylko taki zarodnik znajdować się może.

Jeżeli po upływie jeszcze dwóch tygodni, ponownie będziemy mikroskopowo badali naszą karbunkułową hodowlę, – zobaczymy że laseczki znikły, a przynajmniej pozostała ich nadzwyczaj mała ilość, natomiast potworzyło się mnóstwo owalnych połyskujących ciałek, t.j. zarodników inaczej sporami zwanych. Jak wytłómaczyć zniknięcie bakteryj a utworzenie się zarodników? Oto bakteryje przez kilkatygodniowy przeciąg czasu, wyczerpały wszystkie pożywne części żelatyny na której rosły, tak, że do dalszego rozwoju brakło im wprost pożywienia i obumarcie koniecznie nastąpić by musiało; że jednak w całym świecie istot organizowanych spostrzegamy dążność do utrwalenia gatunku, a dążność ta objawia się tem silniej, im bardziej byt komórek macierzystych jest zagrożonym, – więc i bakteryje karbunkułowe wobec zbliżającej się chwili zagłady, zaczęły produkować zarodniki. Zarodnik bowiem. jestto postać bakteryi, nie potrzebująca pożywienia, nadzwyczaj wytrzymała na wszelkie wpływy zewnętrzne i posiadająca zdolność przetrwania w tym stanie kilku miesięcy a nawet lat. Widzieliśmy np. że kiedy bakteryje wszelkie zabite być mogą już przy ciepłocie 50°, zarodniki potrzebują na to 150°.

Niewszystkie jednak bakteryje, rozmnażają się zapomocą zarodników; wiele gatunków mnoży się przez dzielenie: komórka macierzysta wydłuża się, przewęża następnie w środku i rozpada na dwie części, z których każda w podobny sposób rozmnaża się dalej. Dla innych wreszcie gatunków bakteryj, sposób rozmnażania dotychczas jeszcze określonym nie został: być może, że i one formują zarodniki, muszą te ostatnie być jednak tak drobne, że je spostrzedz trudno, lub też tworzą się w jakichś szczególnych dotychczas niezbadanych warunkach.

Następną własnością bakteryj, o którejśmy także słyszeli, jest własność produkowania barwników na środkach odżywczych, na których są zasiane. Temi własnościami obdarzone są szczególniej niektóre rodzaje bakteryj znajdowanych w powietrzu i w wodzie. Prześliczny purpurowy barwnik, wytwarza np. pewien gatunek bakteryj w powietrzu znajdowany t. zw. micrococcus prodigiosus t j. mikrokok cudowny, – (właśnie dla barwy którą tworzy); inne pospolicie w wodzie znajdowane bakteryje, wytwarzają zielony fluoryzujący barwnik i są wskutek tego nazwane fluoryzującemi (bacillus fluorescens).

Ta własność pozwala wyróżniać bakteryje w hodowlach i nawet bez pomocy mikroskopu o rodzaju bakteryj orzec nieraz daje.

Najważniejszą, również już omawianą przez nas własnością bakteryj jest ich zdolność wywoływania rozmaitych spraw i przemian w materyi organicznej do której przenikną, jako to gnicia, fermentacyi i rozmaitych chorób. Ta ostatnia własność bakteryj jest może najważniejszą z punktu lekarskiego, dla tego też zwykle, skoro jakiś nowy gatunek bakteryj wyosobnionym zostanie, najpierwszą czynnością jest przekonanie się o jego szkodliwości. Dokonywa się tego za pomocą szczepienia na zwierzętach.

Najpodatniejszemi zwierzętami do szczepień są takie, z któremi operacyje łatwo odbywać można. a zatem nie wielkie. a co ważniejsza, ustrój ich powinien być o ile możności do ludzkiego zbliżonym. wybierać zatem należy zwierzęta ssące. Najpowszechniej używanemi bywają króliki, świnki morskie, myszy białe.

Szczepi się rozmaicie, bądź to wprowadzając pod skórę część hodowli z żelatyny lub kartofla, bądź to wstrzykując podskórnie hodowlę bakteryj w bulionie, lub też wstrzykując bakteryje wprost w naczynia krwionośne.

W pierwszym wypadku, w miejscu, w którem bakteryje zaszczepić zamierzamy, wystrzyga się sierść nożyczkami, czystym, wymytym w roztworze sublimatu nożykiem przecina skórę i wprowadza się za pomocą igiełki płaskiej cząsteczkę hodowli bakteryj. U myszy szczepienie dokonywa się najczęściej na górnej powierzchni ciała, tuż nad ogonem, u świnek morskich na brzuchu.

Jeżeli bakteryje, któreśmy zaszczepili są chorobotwórcze, zwierze po 1 lub kilku dniach umiera. Wówczas robi się sekcyja, bada zmiany, jakie zaszły i poszukuje się mikroskopowo zarówno płyny jak i tkanki rozmaitych organów ciała. Nie każde bakteryje wszędzie znaleźć można. Jedne znajdujemy we krwi, inne w płucach, nerkach, wątrobie: jeszcze inne w kanale pokarmowym, do którego zaszczepiane bywają te, które w krwi żyć nie mogą.

Ażeby żądaną tkankę zbadać pod mikroskopem potrzeba porobić z niej skrawki możliwie najcieńsze i takowe następnie zabarwić. Przedewszystkiem należy stwardnić tkankę, mającą być badaną: w tym celu kładziemy część płuca, wątroby, śledziony lub innego organu do mocnego alkoholu (spirytusu) i trzymamy w nim około 24 godzin. Następnie przyklejamy stwardnioną w ten sposób tkankę za pomocą żelatyny przygotowanej z gliceryną do korka i jeszcze raz kładziemy w alkohol dla ponownego stwardnienia. Po kilkunastu godzinach przystępujemy do robienia skrawków. Dokonywać tego można brzytwą wprost ręką, lub też za pomocą przyrządu zwanego mikrotomem. W przyrządzie tym brzytwa umieszczona jest na podpórce, przesuwając którą poruszamy i brzytwę, ta zaś natrafiając w drodze na tkankę robi skrawki, grubość których dowolnie urządzić można.

Chcąc zabarwić skrawki i to w ten sposób, aby bakteryje były dobrze widzialne i od samej tkanki odróżnione być mogły, najlepiej jest barwić je podwójnie. Dla osiągnięcia tego celu mamy kilka sposobów, tutaj podamy tylko wzór według którego mniej więcej zwykle się postępuje. Najprzód umieszcza się skrawki w stężonym roztworze anilinowego barwnika, np. w fijoletowym, gencyjaną zwanym, na kilka lub kilkanaście godzin, stosownie do rodzaju bakteryj; następnie odbarwiamy je, opłukując zlekka w wodzie z dodaniem kilku kropel kwasu octowego lub nieco potażu; później umieszczamy skrawki na 1/4 lub 1/2 godziny w roztworze innego barwnika np. pikrokarminu (czerwony), dalej opłukujemy alkoholem, wreszcie kładziemy do olejku terpentynowego, goździkowego lub cedrowego, mających własność sprzezroczyszczania skrawków, nakoniec

umieszczamy pomiędzy dwa szkiełka w kropli balsamu kanadyjskiego. Badając pod mikroskopem, zobaczymy iż tkanka będzie zabarwioną czerwono, a bakteryje fijoletowo.

Poszukiwanie bakteryj w tkankach najlepiej dokonywać w tkankach natychmiast po śmierci, inaczej, mogą się w nich rozwinąć obce bakteryje powstałe z zarodników z powietrza spadłych.

Skoro mowa o zarodnikach w powietrzu istniejących, powiedzieć musimy słów parę o sposobach jakiemi się bakteryjologiczne badanie powietrza odbywa. Jeżeli idzie nam tylko o zbadanie jakie rodzaje bakteryj w danem powietrzu się znajdują, dość jest wypełnić jakiekolwiek płaskie naczyńko o szerokiej powierzchni sterylizowaną żelatyną odżywczą i wystawić ją na działanie powietrza na przeciąg kilkunastu minut, lub 1/2 godziny. Potem naczyńko należy szczelnie zakryć przystającą przykrywką i pozostawić w spokoju.

Po paru lub kilku dniach, zależnie od tego czy badanie robimy w lecie lub w zimie, powierzchnia żelatyny pokryje się znanemi już punkcikami t.j. kolonijami bakteryj. Z każdego pojedyńczego zarodnika spadłego z powietrza na żelatynę, rozwinęła się taka kolonia. Gdy się takowe dostatecznie rozwiną, można przystąpić do ich badania, rozpatrując najprzód mikroskopowo, przenosząc następnie do żelatyny w próbówce, a skoro się w nich bakteryje rozwiną, – szczepiąc zwierzętom dla przekonania się, czy znalezione bakteryje są chorobotwórcze lub nieszkodliwe. W zwykłem powietrzu wszystkie prawie gatunki bakteryj są nieszkodliwe, – podczas epidemij jednak, lub też w mieszkaniach przez chorych zajmowanych, mogą się unosić w powietrzu zarodniki bakteryj chorobotwórczych.

Jeżeli teraz zechcemy dowiedzieć się ile bakteryj, a raczej ich zarodników znajduje się w powietrzu danego miejsca, dokonywamy tego zapomocą przyrządu pomysłu HESSE'go. Składa on się ze szklanej rury długiej na 70 a szerokiej na 3 – 4 ctm., zatkanej z jednej strony kapką t.j. czapeczką kauczukową z drugiej takim że korkiem z otworem, w którym umieszczono wązką szklaną rurkę zatkaną watą. Rurę taką, starannie wymytą sterylizujemu na parze, nalewamy doń 75 ctm. sześć. żelatyny, sterylizujemy powtórnie, a następnie umieszczamy na stoliku poziomo do zastygnięcia żelatyny.

Dla zbadania danego powietrza, zdejmujemy z jednego końca rury kauczukową kapkę, drugi zaś koniec zakończony cieńszą rurką łączymy za pomocą rurki gumowej z aspiratorem przeciągającym litr powietrza w przeciągu 5 minut. Aspirator skład się z dwóch kolb litrowych zawieszonych na statywie w kształcie trójnoga jedna nad drugą i połączonych z sobą kauczukową rurką. Powietrze przechodzi przez rurę napełnioną żelatyną, a komunikując za pomocą gumowej rurki, z górną kolbą zostaje wciągniętem przez wodę, z kolby górnej spadającą, do kolby umieszczonej poniżej.

Ponieważ kolby mają objętość 1 litra, dla przeciągnięcia zatem całej ilości wody z jednej kolby do drugiej, przejść musi przez rurę z żelatyną 1 litr powietrza. Skorośmy żądaną ilość powietrza przez rurę przepuścili nakładamy na jej koniec napowrót kapkę kauczukową i czekamy parę dni na rozwój kolonii. Zarodniki w powietrzu istniejące, przepływając prze rurę, opadły na powierzchnię żelatyny, a trafiając na grunt odpowiedni rozwiną się po pewnym czasie, każdy w oddzielną bakteryjalną koloniją. Ile zatem kolonij w rurze naliczymy, tyle zarodników bakteryj było w badanem powietrzu

w objętości 1–2–3 litrów, zależnie od tego ile litrów powietrza przepuściliśmy przez rurę, podczas analizy.

Zwykle powietrze mieszkalne w Warszawie, ma się rozumieć w pokojach o dobrej wentylacji, zawiera bakteryj niezbyt wiele, od 60–100 w 10 litrach, natomiast powietrze sali teatralnej, lub też sali wykładów po wyjściu słuchaczy, zawiera bakteryj 300 lub więcej. Powietrze wilgotnej sutereny w takiejże objętości zawiera ich przeszło 900. Podczas silnego mrozu ilość bakteryj spada do minimum, w 10 litrach znaleźć ich można zaledwie 14–20.

A teraz powiemy w krótkości, jak się dokonywają bakteryjologiczne analizy wody.

Do próbówki zawierającej 10 ctm. sterylizowanej żelatyny, rozpuszczonej przy 30°C, dolewamy 1 kub. ctm., t.j. około 20 kropel wody, którą zbadać mamy. Rozmięszawszy starannie wylewamy żelatynę na szklaną płytkę, umieszczoną poziomo na tafli oziębianej z dołu lodem, tak jakeśmy to robili uprzednio, gdyśmy chcieli nieczyste hodowle oczyścić; żelatyna zastyga, a na jej powierzchni po upływie 2–3 dni, rozwijają się znane już nam punkciki czyli kolonie bakteryj. Ile kolonij naliczymy na płytce, tyle bakteryj znajdowało się w 1 kub. ctm. wody, t.j. w ilości, jakąśmy do żelatyny doleli. Nie potrzebujemy chyba dodawać, że płytka z żelatyną po zastygnięciu, powinna być umieszczoną w kloszu szklanym z przykrywą, ażeby spadania zarodników bakteryjalnych z powietrza niedopuścić.

Czasami ilość bakteryj w 1 kub. ctm. bywa tak wielką, że kolonij na płytce potworzy się takie mnóstwo, iż z powodu blizkości jednej przy drugiej, policzenie ich stanie się niepodobieństwem. Ażeby to umożliwić postępujemy tak: Po wlaniu do próbówki z 9 kub. ctm. żelatyny, 1 kub. ctm. wody i po starannem zamięszaniu, bierzemy z niej 1 kub. ctm. i wlewamy do drugiej takiejże próbówki. Ponieważ w próbówce 1-ej było 9 kub. ctm. żelatyny i 1 kub. ctm. wody, a wzięliśmy 1 kub. ctm. czyli 10-tą część, w próbówce 2-ej zawierać się będzie 10-ta część kubicznego ctm. wody. Wówczas wylewamy zawartość obu próbówek na płytki. Rzecz prosta, że na płytce mieszczącej na sobie zawartość 2-ej próbówki kolonij wyrośnie 10 razy mniejsza ilość, zliczyć je zatem już będziemy w możności. Pomnożywszy otrzymaną cyfrę przez 10 dowiemy się ile bakteryj było w całym kub. ctm. wody.

Woda niefiltrowana z Wisły zawiera od 400 – 600 bakteryj, czerpana jednak poniżej ścieków, a raczej tuż za niemi, mianowicie na ul. Dobrej, tam gdzie zaopatruje się w wodę stary wodociąg – zawiera ich niekiedy 120000.

Woda wprost z filtrów na koszykach jest bardzo czystą, znaleźć w niej można zaledwie 60–100 bakteryj. Wody bez bakteryj przy zwykłem urządzeniu filtrów otrzymać niepodobna.

Są jednak filtry pomysłu PASTEUR'a wykonane przez MALIČ i CHAMBERLAND'a z glinki porcelanowej, dające wodę zupełnie czystą. Urządzone są w ten sposób, że umieszczane być mogą w rurach wodociągowych przy samym kranie: woda siłą ciśnienia przeciska się przez pory glinki i w ten sposób oczyszcza od wszelkich części stałych zawieszonych, oraz bakteryj.

Woda zawierająca dużo bakteryj, może być czasem szkodliwa z powodu rozkładów jakie pociągnąć może za sobą jej używanie. Obecność wielkiej ilości bakteryj, wskazuje również na obfite zanieczyszczenia, pomiędzy któremi mogą być i zarazki chorobotwórcze. Taka bardzo woda, przed użyciem winna być gotowana.

Woda ze studzien warszawskich zawiera bardzo mało bakteryj, gdyż ziemia przez którą przedostaje się na powierzchnię służy dla niej za filtr naturalny. W wodzie takiej znajdują się jednak produkta po bakteryjach pozostałe, dla tego też analiza chemiczna wodę ze studzien za nieczystą uważać każe, jednakowoż produkta te są najczęściej nieszkodliwe i dlatego woda taka używaną być może.

Komentarz do drugiego odczytu prof. Odona Bujwida

W odczycie II poświęconym „pracom bakteryjologicznym i ich wykonywaniu" nie znajdziemy dziś niczego, co mogłoby budzić zainteresowanie. Wówczas, przed 100 laty były to wskazówki bezcenne dla polskich bakteriologów uczących się nowej sztuki badania i diagnozowania bakterii. Warto zauważyć, że hodowlę w bulionie nazywa Bujwid metodą Pasteura, a hodowlę na podłożu stałym – metodą Kocha. W związku z tą drugą metodą opisuje ważny problem tzw. czystych kultur bakterii. W czasach Bujwida w użyciu były jeszcze hodowle na gotowanym ziemniaku, pochodzące z czasów przed Kochem. Na nich zauważono pierwsze kolonie bakteryjne. Bujwid opisuje już zestalanie podłoży żelatyną, ale także agarem. Nie znał natomiast jeszcze płytek Petriego, stosowanych już przez Kocha, ale nieco później. Początkowo podłoże z agarem lub żelatyną wylewano na płyty szklane i nakrywano także szklanymi kloszami. Powszechne natomiast były hodowle w próbówkach w bulionie, na mleku i na ziemniaku oraz w kolbkach, w tych ostatnich między innymi na otartym i zmielonym chlebie. Wzorem Kocha, który nauczył się tej metody od Ehrlicha, Bujwid opisuje metody barwienia bakterii, także zarazków gruźlicy. Bujwid opisał sposoby liczenia bakterii wyhodowanych z powietrza i z wody, także z warszawskich studni i z Wisły. Ciekawe byłyby porównania liczebności bakterii sprzed 100 lat z obecnymi. W Wiśle, przed ulicą Dobrą, gdzie wpadały do rzeki ścieki miejskie – w 1 ml było 400 – 600 bakterii !!!

Prof. dr hab. Zbigniew Kwiatkowski

Instytut Mikrobiologii
Uniwersytetu Warszawskiego
ul. Nowy Świat 67
00–046 Warszawa