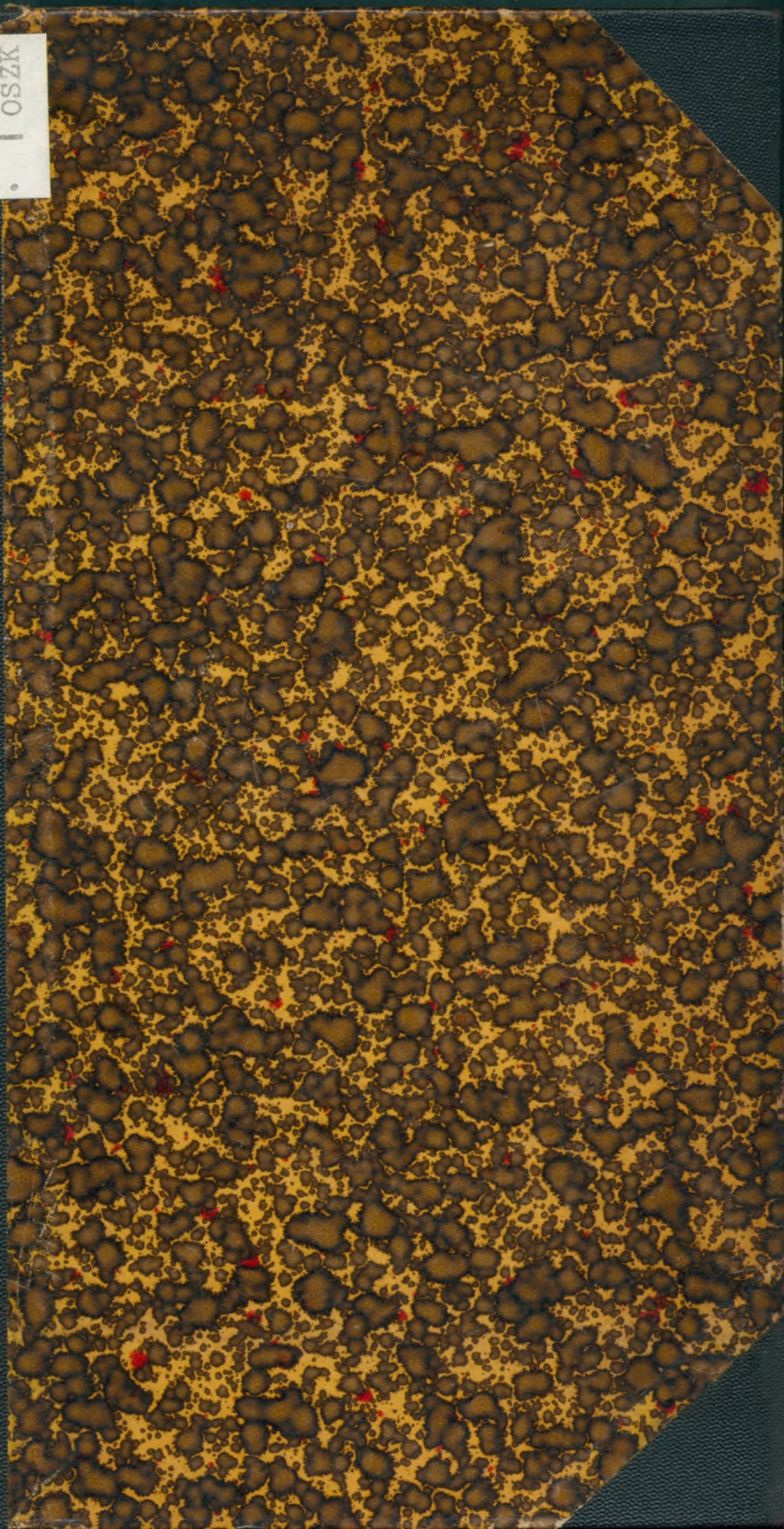
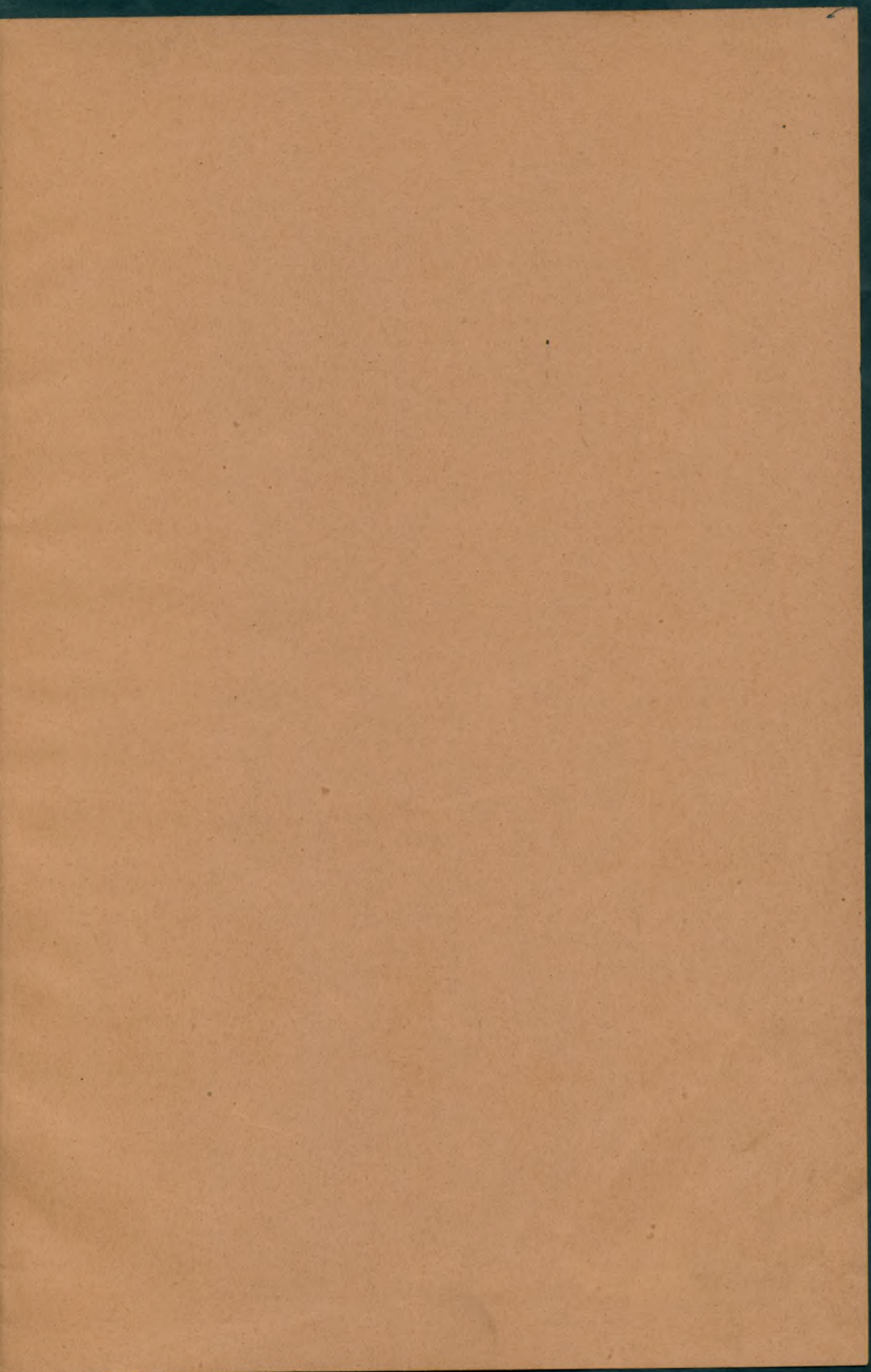


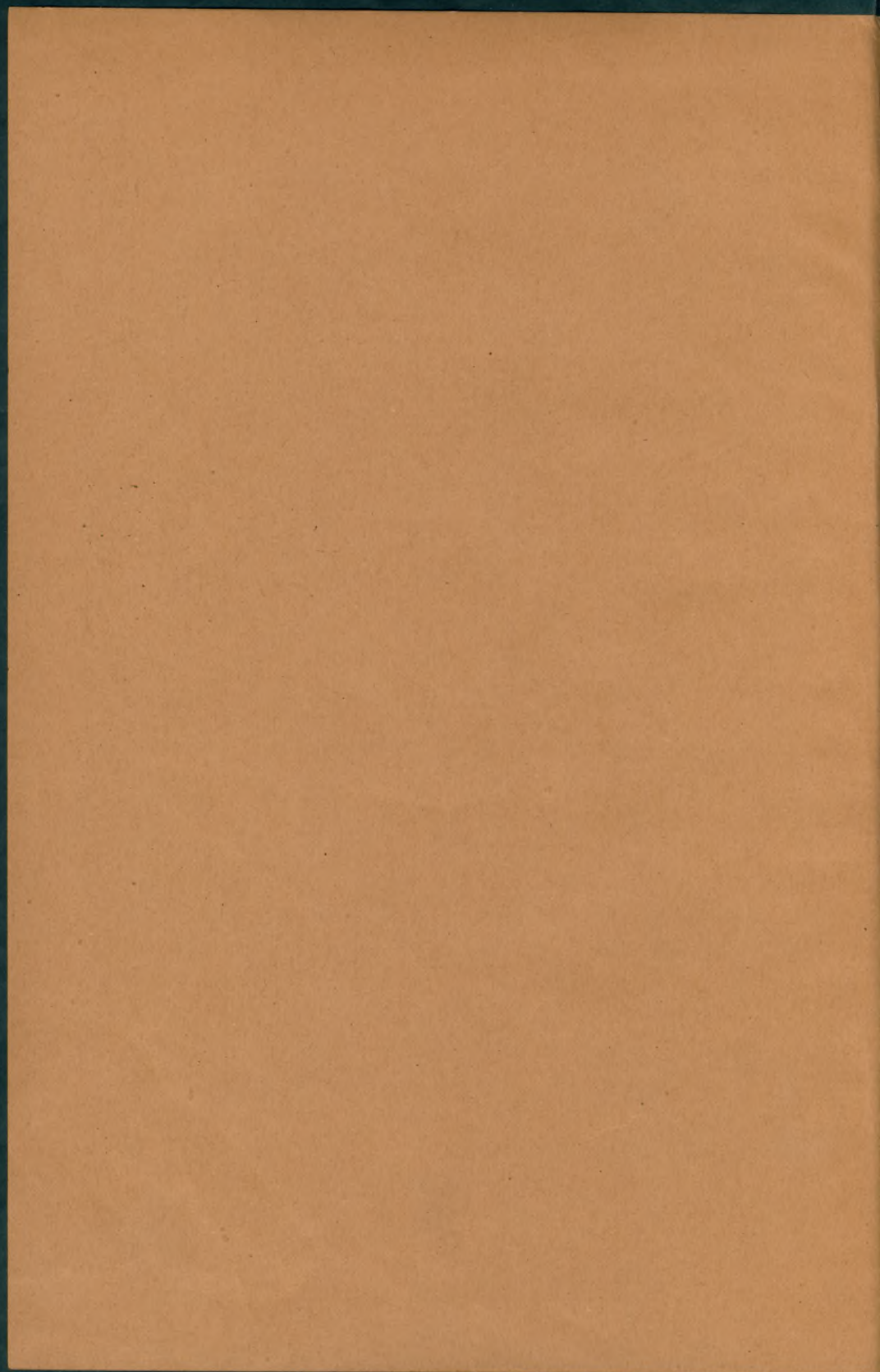
M
277.178

OSZK



19







19/
221

ÚJ, FEHÉRJEBONTÓ
ÉS
VAJSAVAS ERJEDÉST LÉTESÍTŐ
BAKTERIUM

(CLOSTRIDIUM PROTEO-SACCHAROLACTICUM)

IRTA

FETTICK OTTÓ

Állatorvosi főiskolai tanársegéd



TIZENHÁROM FÉNYKÉPPEL A MELLÉKLETEN

ÁLLATORVOS-DOKTORI ÉRTEKEZÉS

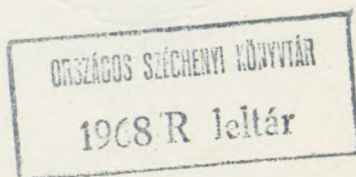


BUDAPEST, 1907

A m. kir. Állatorvosi Főiskola tanártestülete 1906. évi december hó 14.-én tartott ülésében jelen dolgozatot doktori értekezésül elfogadta.



M 277. 178



Heves kollégáimnak Vaga
Lipót úrnak biztatója jeléül

szorgo.

M. - vára, 1907. II. 5. év

Bevezetés.

A tulajdonképpeni vajsavbakteriumokon kívül, melyek bizonyos szénhydrátok (vagy magasabb alkoholok) elerjesztésére képesek és rendszerint erős gázképződéssel kapcsolatban nagyobb mennyiségű vajsavat produkálnak, vannak olyan bakteriumok is, melyeknél a vajsav képződése a fehérjék mélyebbreható megbontásának következménye. Az utóbbiakat, szemben a vajsavbakteriumokkal, fehérjeszétéset előidéző, fehérjebontó vagy rothadásos bakteriumoknak is nevezzük.

Úgy a fehérjeszétés, mint a vajsavas erjedés, már régebb idő óta igen szorgos bakteriologiai és vegyi vizsgálatok tárgya volt; mindazonáltal, csak az újabban végzett morphologiai és pontosabb vegyi biologiai vizsgálatok vezettek az erjedési és a rothadási folyamat, valamint az ezeket előidéző bakteriumok pontos megismerésére.

A vajsavas erjedés különösen igen beható vizsgálatok tárgya volt; az érdem itt is Pasteur¹-t illeti meg, ki 1861-ben felfedezte a vajsavas erjedés lényegét. Pasteur¹ vizsgálataiból tudjuk azt, hogy a tejcukor bizonyos mikroorganizmusok életműködése közben elerjed és hogy az így létrejövő tejsav további megbontásának folyamánya a vajsavképződés. Pasteur² az általa látott és vajsavas erjedést létesítő mikroorganizmust igen élénk mozgása miatt infusoriának tartotta és „*Vibrion butyrique*”-nek nevezte el. Ezen kísérletek vezettek egyszersmind Pasteur³-nek azon korszakot alkotó felfedezésére, hogy bizonyos élő lények oxigén nélkül és képesek megélni.

Pasteur nyomán igen sokan foglalkoztak a vajsavas erjedés-

sel és többen leírtak vajsavbakteriumokat. (*Amylobacter clostridium Trécul*,⁴ *Bacillus amylobacter Tieghem*,⁵ *Bacterium navicula Reinke* és *Berthold*⁶), melyekről azonban később kiderült, hogy nem egyebek mint a *Pasteur*² által látott és „*Vibrion butyrique*“ néven már leírt bacillus különböző fejlődési alakjai (*Tieghem*⁷).

Olyan szerző is akadt, ki figyelmen kívül hagyva a vajsavas erjedés lényegét, olyan bakteriumot írt le vajsavbakteriumnak, mely jóllehet termelt vajsavat, de nem szénhidrátokból, hanem a fehérjék megbontása következtében (*Bacillus butyricus Hueppe*⁸).

A *Koch*-féle tenyésztési eljárással lényegesen megkönnyebbülven a tiszta tenyészetek előállítása és miután egyszerűbb és jobb módokat feltaláltak az anaërob bakteriumok tenyésztésére, rövid időn belül igen nagyszámú új vajsavbakterium vonult be az irodalomba.

Az a dicséretes törekvés, hogy a leírt spéciesek most már pontosabban körülírandók és a nem odatartozók elkülönítessenek, arra az eredményre vezetett, hogy egyes tényleg nem tiszta fajokat egymástól elválasztottak, viszont azonban olyan bakteriumokat vettek önálló spécieseknek, melyekről csakhamar kitűnt, hogy csak a származási hely, a táptalajok és egyéb külső körülmények hatottak módosítólag azok morfológiájára. Így pl. a *clostridium butyricum Prazmowski*, *Gruber M.*⁹ vizsgálatai során három spéciesre osztott, melyekről későbbben azonban kiderült kettőnek összetartozandósága és így tovább.

A nagy zavarban és bizonytalanságban *Hilber*¹⁰ kísérlette meg, 15 anaërob bakteriumon végzett vizsgálatai alapján, a helyes utat kijelölni. *Hilber*¹⁰, valamint legújabban *Grassberger* és *Schattenfroh*¹¹ vizsgálatai azután lehetővé tették a vajsavbakteriumoknak egy biztosabb alapon való rendszerezését. Utóbbi szerzők ugyanis, az eddig körülbelül ismeretes anyag egy részének figyelembe vételével, vizsgálataik alapján arra az eredményre jutottak, hogy tulajdonképpen csak kétféle vajsavbakterium, a mozgásra nem képes és a mozgó vajsavbakterium létezik, melyek magukba foglalják az eddig leírt vajsavas és más amaërob bakteriumok legtöbbjét.

*Grassberger*¹² vizsgálatai alapján kimondja, hogy a mozgásra nem képes vajsavbacillus (*Granulobacillus saccharobutyricus*

immobilis liquefaciens) a serczegő üszők bacillusának denaturált és nativ alakja. Denaturált jelzővel illeti ugyanis *Grassberger*¹² a serczegő üszők bacillusának spórát nem képző, csillangók nélküli, nem pathogén alakját, míg a nativ jelző a spórát képző csillangókkal ellátott, pathogén alakot illeti meg. *Grassberger*¹² felfogása szerint a serczegő üszők bacillusának csak részben denaturált alakja volna a *Beijerinck*¹³ által leírt *Granulobacter lactobutyricum*, valamint a *Fränkel*¹⁴-féle *phlegmonebacillus*, a *Bacillus enteritidis sporogenes* *Klein*¹⁵ és a *Bacillus aerogenes capsulatus* *Welch*¹⁶.

A mozgó vajsavbacillus (*Granulobacillus saccharobutyricus mobilis non liquefaciens*) *Grassberger* és *Schattenfroh*¹¹ szerint éppen olyan nagy mértékben van elterjedve a természetben, mint a nem mozgó vajsavbacillus. Azonosak vele a korábban ismertetett és vajsavas erjedést előidéző mikroorganizmusok közül a *Bac. amylobacter* I. és II. *Gruber*⁹, *Granulobacter saccharobutyricum* *Beijerinck*¹³, *Bacillus saccharobutyricus* *Klecki*¹⁷. Éppen úgy igen közel áll a mozgó vajsavbakteriumhoz a *Tissier* és *Gasching*¹⁸ által leírt *Bacillus lactopropylbutyricus* is.

Az ezen értelmezés szerint adott legújabb csoportosítása a vajsavbakteriumoknak, *Grassberger* és *Schattenfroh*¹¹ vizsgálatai szerint, a következő:

Serczegő üszők és a gázphlegmone bacillusának nativ valamint denaturált alakja (mozgásra nem képes vajsavbacillus). Exquisit (?) erjedést létesítő bakterium, kénhydrogént is termel, ritkán vezet mélyrehatoló fehérjeszétetésre. Nativ alakjai a szénhydrátokból főleg vajsavat, denaturált alakjai főleg tejsavat képeznek.

Mozgó vajsavbacillus, exquisit erjedést létesítő bakterium, a fehérjékkel szemben közömbös; szénhydrátokból főleg vajsavat termel.

Az *oedema malignum bacillusa*, erjedést és gyakran rothadást létesítő bakterium. Szénhydrátokból túlnyomólag tejsavat és rendszeren aethylalkoholt képez.

A *Bienstock*¹⁹-féle *hullabacillus* erjedést, de rendszerint rothadást is előidéző bakterium. Szénhydrátokból (?) túlnyomólag tejsavat és rendszerint aethylalkoholt képez.

Ha az elmondottakon végig tekintünk, láthatjuk, hogy az

akadályok, melyek a vizsgáló útjában állottak, nem is az erjedési és rothadási folyamat bonyolódottságában és különféle külső körülményekben állottak, mint inkább az ezen folyamatokat létesítő bakteriumok morphologiai hasonlatosságából eredő zavarokra, valamint arra a körülményre voltak visszavezethetők, hogy a vajsavas erjedés fogalmát és lényegét nem tartották szigorúan szem előtt, továbbá, hogy az egyes bakteriumok vegyi-biológiai sajátosságai nem voltak pontosan ismeretesek.

A morphologiai hasonlatosság, valamint az ezen két csoportba tartozó bakteriumok nagy variabilitásokra való hajlamosága hozta magával kétségtelenül azt, hogy egy és ugyanazon bakterium különböző fejlődési alakja mint különböző species szerepelt az irodalomban és hogy a nem eléggé pontosan ismert vegyi biológiai tulajdonságok mellett főleg a morphológiára támaszkodva, a vajsavas bakteriumok csoportjába rothadási bakteriumok kerültek és megfordítva.

Nagyban növelte a zavarokat még az erjedési folyamat fogalmának nem eléggé szigorú elbírálása is, a minek azután következménye lett, hogy az erjedési bakteriumok közé rothadási vagy főként fehérjeszétesést előidéző bakteriumok is kerültek, melyek azonban melleleg bizonyos szénhidrátokra sem voltak egészen közömbösek.

Kétségtelenül az utóbb említett körülményre vezethető vissza az is, hogy a legújabbban *Grassberger* és *Schattenfroh*¹¹ által adott rendszeresítése a vajsavbakteriumoknak sem mondható tökéletesnek, mert abban a típusos vajsavbakteriumokon kívül főleg fehérjebontó sőt notorius rothadási bakteriumok is szerepelnek.

A vajsavas erjedés és a rothadási folyamat pontos tanulmányozására igen alkalmasnak bizonyult egy általam sterilizált tejből kitenyésztett, nagymérvű fehérjeszétesést előidéző bakterium, melynek morphológiája több tekintetben egészen közeli rokonságot tüntetett fel egy típusos vajsavbakteriummal. A bakterium közelebbi megismerése annál érdekesebbnek is ígérkezett, mert az általa elbontott tejjel végzett vegyi vizsgálatok eredménye annak demonstrálására mutatkozott alkalmasnak, hogy fehérjeszétesést előidéző bakteriumok melleleg egyszersmind erjedést létesítő tulajdonságokkal is rendelkezhetnek;

továbbá hogy a vegyi biológiai tulajdonságok pontos megismerése és az erjedési és rothadási folyamat lényegének szigorú szem előtt tartása mennyire szükséges a bakterium tulajdonképpeni hivatásának megállapítása alkalmával.

A bakterium ismertetésével kapcsolatban a vajsavbakteriumoknak új csoportosítását is megkísérlem; hogy mennyiben sikerült ezen feladatokat megfejtenem, azt bírálói szíves ítéletére bízom.

A bakterium alakja, tenyésztése és festése.

A bakterium morfológiájának egységes ismertetése nehézségekbe ütközik, mivel az a különböző táptalajok szerint némileg eltérő alaki sajátosságokat tüntet fel: czélszerűbbnek ígérkezik a bakterium alakját agar szűrési tenyészetekből vett egyedeken vizsgálni, mert ezen táptalaj a bakterium tenyésztésére igen alkalmas, benne a spórafelforrás aránylag leggyorsabban bekövetkezik és e fejlődés egyes részletei jól követhetők. Az ettől való eltéréseket azután az egyes többi táptalajokban fejlődő tenyészetek ismertetésével kapcsolatban fogom kiemelni.

Tejczukrot vagy szőlőczukrot tartalmazó, úgyszintén czukormentes agar-agar mély rétegébe szűrve a bakteriumot, 34° C hőmérséklet mellett, már 12—14 óra múlva a szűrési vonal legalsó részéből kezdődőleg, kevésbé jellemző, sárgásfehér, fonalalakú kolónia fejlődése észlelhető. Az agar összeállása szerint a kolónia felső vége hol messzebb, hol közelebb van az agar felületéhez. Néhány nap múlva, ha a fejlődött gázak megöltik a kémcső felső üres részét, a vegetatio egészen az agar-agar felületéig is emelkedhet, de olyan gyenge fejlődést mutat, hogy egyes esetekben csak nagyító segítségével ismerhetők fel a telepek. Ezzel szemben a legmélyebb és a mélyebb rétegekben legerősebb a telep (1. ábra).

12° C hőmérséklet kedvezőtlen befolyást gyakorol a bakterium fejlődésére, a mennyiben az csak a 4—5-ik napon indít meg telepfejlődést és az egyes telepek mindvégig gyengébbek is maradnak. 7—8° C hőmérséklet mellett telepek fejlődése nem volt észlelhető. Szobahőmérséklet mellett azonban éppen

olyan gyorsan képződnek a telepek, mint a költökemen-
czében.

Czukortartalmú, de közönséges agar-agar mély rétegében is a második vagy harmadik napon úgyszólván mindig észlelhető volt mérsékelt gázfejlődés; köles-, egész lencse-, ritkábban bab-nagyságú, lapos, erősen fénylő hólyagok fejlődtek, melyek legtöbbször a kémcső falához tapadtak és ritkábban voltak a telepek közelében vagy azok közvetlen szomszédságában láthatók. Legkorábban a szűrési vonal közelében levő gázhólyagok vesztették el fényüket, zavarosakká lettek és 7—10 nap múlva eltűntek: volt helyöket csak az agar elhomályosodása mutatta.

A kémcső felnyitása alkalmával rothadó káposztára emlékeztető szag volt érezhető.

14 órás agartenyészetből készült festett készítményben (carbolfuchsin vagy methylenkék) legtöbbször $2.25-3.5\mu$ hosszú és $0.7-1\mu$ széles egyenletesen vastag, lekerekített végű, egyenes vagy ritkábban gyengén hajlott pálczikák láthatók; a látszólag hosszabb pálczikák kettőspálczikák az egyedek tökéletlen osztódásával. A pálczikák legtöbbször egyesével, de elég gyakran mint kettős pálczikák (2. ábra) és kivételesen 3—4 tagból álló fonalakat képezve fordulnak elő.

Az egyenletesen vastag pálczikákon kívül nagyszámmal már elgömbölyödő, továbbá tojás- vagy orsóalakú sejtek (3. ábra), ritkábban egyik végén kistokban duzzadt, a dobverő alakjára emlékeztető hosszabb pálczikák is láthatók. Az egyenletesen vastag pálczikák, sőt azok is, melyeken már az előbb leírt alaki elváltozások felismerhetők, anilin-festékekkel még egyenletesen és intenzíven festődnek; kivételesen olyan sejtek is láthatók, melyeknek protoplasmája helyenkint kevésbé jól veszi fel a festőanyagot, minek következtében a sejtest kistokú foltozottságot mutat. Olyan egyszerű vagy kettős pálczikák is akadnak, melyeknek végei valamivel erősebben festődnek.

Az említett alaki elváltozásokat feltüntető sejtekben, a sejtest egyik végében kevésbé jól festődő, kerekded, mély beállításnál valamivel világosabb és erősebben fénytörő helyet lehet felismerni (3. ábra). Egyik-másik esetben az egyenletesen vastagnak látszó pálczikák egyik végében is lehet már a környezetnél valamivel világosabb, kerekded helyet felfedezni. Nem-

sokára ezen jelenségek fellépése után, a sejttest már kevésbé intenzíven, még később pedig egyenlőtlenül festődik; világosabb és sötétebb helyek váltakoznak, miáltal a protoplasma saját-szerű márványozott kinézést nyer. Erősebb nagyítás mellett a sejttest rekeszes vagy szivacsos tömeghez hasonló. Az ilyen sejtekben a spóra már mint erősen fénytörő, polár elhelyezett, ovalis képlet látható. Valamivel később a sejttest alig észre-vehetően festődik, homogén. Ezzel szemben a sejthártya még aránylag jól festődik, minek következtében a sejt megtartja éles körvonalait (4. ábra).

Az ovális $1.5\ \mu$ hosszú spóra haránt átmérője $1.1\ \mu$ tesz ki; a spóra egészen közel fekszik a sejt egyik végéhez, hosszten-gelyével mindig párhuzamosan a sejt hosszten-gelyével. A spóra fala erősen festődik és az alig festődő spóra körül sötétebb udvart képez (4. ábra).

Ezen a sejteken kívül 20 órás agartenyészből készült praeparatumban már nagy mennyiségben olyan sejtek is látha-tók, hol az igen finom sejthártya, a sejtnak a spórával szem-közt levő végében egyszer vagy többször behasított és széles nyílással bír. A spóra ilyenkor a folytonosságában megszakadt, tasakszerű sejthártya végében fekszik (4. ábra a). A sejthártya behasadása legnagyobb valószínűség szerint az elhalásban levő, száradó sejthártya megrepedése által jön létre és nem e sejtplasma erős duzzadásának következménye, mint azt *Winogradsky* az alakilag nagyban hasonló *Clostridium pastoria-num*-ról felveszi. Utóbbi esetben a nyílásban vagy a körül a nagy nyomás alól felszabaduló sejtplasma egy része fellel-hető volna.

24 órás tenyészetben helylyel-közzel már kicsirázó spórák is találhatók. A spóra fala, a fiatal bacillus álta¹, a zacskószerű sejthártya nyitott vége felé tekintő pólusán átfuratik és a fiatal pálczikaalakú baktérium a spórafalat hátrahagyva, abból és a zacskószerű sejthártyából kilép (5. ábra a).

Elég gyakran észlelni azt, hogy a spórából kicsirázott bacillus már a zacskószerű sejthártyában indul egyszer vagy többször oszlásnak, miáltal a zacskószerű sejthártyából kettős pálczika vagy 5—8 tagból álló hosszabb lánczolat indul ki (6-ik ábra). Olyan csirázó spórák is láthatók, melyek közül már csak a

sejthártya maradványai láthatók és nem tartozik a ritkaságok közé, hogy egészen szabadon fekvő spórák vannak a csirázás szakában (7-ik ábra a).

A spóra magatartása a csirázás közben és az után igen különböző; a legtöbb esetben a csirázási folyamat közben elveszíti a spóra az éles határt, alig látható, míg más esetekben élesen körülírt marad; ez utóbbi esetben nem ritkán láthatóvá lesz azon nyílás is, a hol a fiatal pálczika elhagyta a spórát. A festett készítményekben az üres kicsirázott spórákon kívül, széteső félben levő alig festődő sejthártyarészletek is találhatóak.

A bakteriumot függő cseppben vizsgálva, még azon egyedek is igen élénk kigyózó mozgást tüntetnek fel, melyek már a spórafejlődés jeleit mutatják. A kigyózó mozgás egy fél óra múlva lassúbbá lesz és egy óra múlva megszűnik. Az ilyen-egy-órás vagy még régibb készítményekben azután a bakteriumok csoportokká egyesülve találhatóak fel. A függő csepp készítéséhez mindig közönséges vizet használtam, melylyel a platintüvel kivett bakteriumokat óvatosan eldörzsöltem; hogy azonban az ilyen közönséges vízben levő oxigén mégis gátló hatást fejt ki a bakterium életképességére, az abból is kitűnik, hogy evakuált bouillonnal vagy előzőleg felforralt és lehűtött vízzel készített függő cseppben a bakterium mozgása élénkebb és tartósabb volt.

Csillangófestéssel 15—20 erőteljes, peritrich elrendeződést feltűntető csillangó lesz láthatóvá (8-ik ábra). Leggazdagabbak csillangókban az egészen fiatal és az oszlásban levő pálczikák; kisebb számmal találhatóak fel a csillangók olyan egyedeken, melyek már tojás vagy orsó alakot kezdenek felvenni. A kevéssé vagy úgyszólván alig festődő *clostridium* alakú egyedeken csillangók jelenléte egy esetben sem volt megállapítható. A *Zettnow*-féle festési eljárással készített készítményekben sokszor találhatóak egyenletesen vastag vagy már elgömbölyödő pálczikák, melyeken fonatszerű csomókban vannak a csillangók elhelyezve; ilyen pamatokká, vagy hullámos lefutású fonatokká egyesült csillangók nem egészen óvatosan készített praeparátumokban, a bakteriumok szomszédságában is találhatóak igen nagy számmal. Említésre méltó, hogy egy-néhányszor, közön-

séges carbolfuchsinnal megfestett készítményekben is láthatók voltak a csillangók.

Gyenge *Lugol*-féle oldattal festett készítményekben az egészen fiatal, de az idősebb, már orsó vagy tojás alakot feltüntető, sőt a már érett spórát tartalmazó egyedek is, egyenletesen világos sárgára festődnek. A fejlődésben levő, úgyszintén az érett spóra is csak sárgás árnyalatot vesz fel. A baktérium tehát nem képes a szénhidrátok csoportjába tartozó tartalékanyagot testében felhalmozni; vagy más szavakkal hiányzik a közönségesen „*granula*” vagy újabban *Meyer*²⁰ által „*jogén*”-nek (miután nagy valószínűség szerint nem azonos a keményítővel) nevezett anyag, mely jóddal kékre festődik. Keményítő-szerű anyagnak lerakódása még keményítőt tartalmazó táptalajban való tenyésztés után sem volt észlelhető, sőt a *Beijerinck** által éppen amylobakter baktériumok tenyésztésére ajánlott eljárás sem vezetett jóddal kékre festődő szemecskék lerakódására.

A *Gram*-féle festési eljárással szemben igen különbözőképpen viselkedik a baktérium. Fiatal pálczikák és olyanok, melyekben a spórafejlődés már megindult, még abban az esetben is, ha az alkohollal való kivonás hosszabb ideig tartott, jól és egyenletesen festődnek. Ezzel szemben idősebb sejtek, melyekben a fejlődő spóra már jól felismerhető, kevésbé jól és egyenetlenül festődnek. A még zárt vagy éppen megnyílt orsóalakú baktériumok sejthártyája gyengén festődik; a már régebben nyitott orsóalakú baktériumoké alig vagy egyáltalán nem festődik. Ebben leli magyarázatát azon körülmény, hogy idősebb kultúrákból készített praeparatumban igen sok a látszólag szabadon fekvő spóra. A spórafal jól festődik.

Még folyékony agar-agar mély rétegébe keverve a baktériumot, majd a megdermedés után thermostatba téve a kémcsövet, már a második napon indul meg a telepfejlődés. A kémcső aljához közel nágymennységű tűszűrásnyi fehéres sárgás kerek telepek és kevés, igen apró gázhólyag képződik; a tenyésztalaj magasabb felületesebb rétegében elszórtan néhány

* Beijerinck amylobakter baktériumokat rizsliszt — vagy zabdarapépben tenyészt.

szabad szemmel alig észrevehető telep és kölesnagyságu gáz-hólyag volt látható. A táptalaj egészen felületen részében telep-fejlődés nem volt megállapítható.

A következő napokban a tápanyag mélyében fejlődött telepek jóval nagyobbak voltak, köles- egész kendermagnagyságot értek el. A kémcső felnyitásakor igen intenzív, rothadó káposztára emlékeztető szag volt érezhető.

Czukortartalmú vagy közönséges agar-agar lemezeken, anaërob, viszonyok között 34°C hőmérséklet mellett már a negyedik usque hatodik, napon igen különböző alakú telepek fejlődnek.

Legtöbbször egy középpontból kiindulólag csillagszerűen elágazódó, szürke, igen finom mellékágakkal ellátott, mohaszerű, felületen telepek fejlődnek, melyek mikroszkóp alatt finom szemecskézettséget tüntetnek fel (9-ik ábra *a*). Ritkábban a középpontból kiinduló ágak és mellékágak vastagabbak ujszerűek (9-ik ábra *b*), sőt olyanok is fejlődnek olykor, hol a középpontból kiinduló nyélszerű ágon levélszerűen elterülő, széles, csipkézett vagy mélyebben behasogatott vegetatív fejlődik (9-ik ábra *c*).

Ezek a kolóniákon kívül elég gyakran olyanok is fejlődnek, melyek makroszkópos megtekintéskor sárgás-fehér, kölesnagyságú képleteknek tűnnek fel; nagyító segítségével, sokszor azonban már szabad szemmel is bennök egy fehérebb centrális rész ismerhető fel (9-ik ábra *d*). Mikroszkóp alatt kis nagytással (obj. A, ocular 8.) a szabálytalanul kerek telep közepén egy sötétebb, sárgás-barna szemecskézett rész látható, melyből a tér minden irányába hajszálszerű nyulványok indulnak ki. Az ilyen telep a fejlődés ezen szakában hasonló a *Bacillus subtilis* telepéhez. Néhány nap múlva azonban eltűnik a fonalszerű szerkezet és az egész telep finom szemecskézettséget mutat (10-ik ábra).

A kétféle típust feltűntető telepeket I. és II. számmal jelöltem meg és agar szűrési tenyészeteket készítettem belőlük annak megállapítása céljából, hogy nem mutatnak-e más-más fejlődést a szűrési vonal mentén fejlődő telepek. A kísérletekből kitűnt, hogy a kétféle telepből vett baktériumok, már a szűrési tenyészeteknél ismertetett (1-ső ábra), kevésbé jelleg-

zetes telepfejlődést indítják meg. Az alakra különböző agarlemez telepek nagyobbbrészt pálczika alakú bakteriumokból állottak, de igen sok orsóalakú (részben zárt, részben már nyitott) is volt található. A számarány a pálczika- és az orsóalakú bakteriumok között a kétféle fejlődési típust feltüntető agarlemez tenyészetekben nem volt feltűnően különböző.

A lemeztenyészetekben kerek, fénylő, köles-, egész lencse-nagyságú gázbuborékok is fejlődtek mérsékelt (2—8) számban. A gázhólyagok részben a telepek közvetlen közelében, részben azoktól távolabb voltak fellelhetők.

Említésre méltó, hogy mikroszkóp alatt a tenyésztalajban kéveszerűen elrendezett, finom kristályok voltak láthatók, melyek közül a nagyobbak már szabad szemmel is jól felismerhetők voltak. A kristályokat tű segítségével kiemelve és egy homoruan csiszolt tárgylemezen összegyűjtve, melegítéskor nem olvadtak meg, sósav hozzáadása után azonban eltűntek. A kristályokat vízzel és *Millon*-féle reagenssel melegítve, rózsaszín színeződés állott elő (*tyrosin*-reakció).

Az agarlemez tenyészeteket tartalmazó *Petri*-féle csészék felnyitása alkalmával erős, a valeriánsav szagára emlékeztető szag volt érezhető.

Bővebb és gyorsabb telepfejlődés létesítése céljából a bakteriumot a *Grassberger* és *Schattenfroh*²¹ által is használt anaërob tenyésztési eljárással (steril izomdarabkákon) is tenyésztettem. Evégből apró izomdarabkákat, melyek egy éppen megölt tengeri malaczból vették steril viszonyok között, 4 *Petri*-féle csészébe elosztottam. Három csészébe gondosan sterilizált és körülbelül 45°C hőmérsékletre lehűtött czukortartalmú agart öntöttem, mely háromféle hígításban tartalmazta a bakteriumot. A negyedik csészében levő steril izomdarabkákra csak steril czukros agart öntöttem.

A 6-ik napon a húsdarabkákon és azok közvetlen közelében kölesnagyságú telepek fejlődtek, melyek kinézésüket illetőleg, semmiben sem különböztek a már a közönséges agarlemezekeken is fejlődött, kezdetben a *Bac. subtilis* telepeire emlékeztető koloniáktól. Egynehány, az előbbenieknél jóval kisebb telep, a húsfoszlányoktól távolabb is fejlődött. A negyedik csésze steril maradt. Az egyes telepek e szerint nem fejlődtek gyorsabban mint a

közönséges agarlemezeken, mindazonáltal a húsfoszlányok és azok közvetlen közelében bújja fejlődés volt észlelhető. A telepek nagymennyiségű pálczikákból és clostridium alakokból állottak. A bakteriumok nagyságukat illetőleg semmiben sem különböztek a közönséges agarlemezekon fejlődött bakteriumok nagyságától.

Közönséges vagy czukortartalmú gelatina mély rétegében a bakterium elég jól tenyészik. 14—16°C hőmérsékletben, aërob viszonyok között tartott gelatinában, az 5—7 napon, a szűrési csatorna legmélyében, kicsiny, tűszúrásnyi és ennél valamivel nagyobb, sárgás, gömbalakú, telepek fejlődnek; a nem egészen szorosan egymás mellett fejlődő telepek mikroszkop alatt sajátosságos kinézetet tüntetnek fel. A sötétszürke szemecskézett középpontból ugyanis, a gömb minden irányába előrenyomuló fonálszerű, rövid nyulványok veszik eredetüket.

A telepek körül a következő 24 órában homályos udvar keletkezik, a gelatina elfolyósódása következtében, mely folyton nagyobbodik és csakhamar összefolyik a szomszédossal. Ennek következtében a szűrési vonal alsó harmadában egy tömlőszerű zavarosodás jön létre, melynek közepén a most már egymással összefolyt telepek tengelyt képeznek (11-ik ábra *a*). A gelatina elfolyósódása következtében létrejött tömlőszerű zavarodás fel és lefelé, valamint oldalt is terjeszkedik, miáltal kokon alakot nyer (12-ik ábra), melyben a most már pelyhes vagy darabos tömeget képező, szabálytalanul elosztott telepek lebegnek (13-ik ábra). Körülbelül két hét elteltével a gelatina egész tömege elfolyósodott. Ebben az időben a gelatina ismét tiszta, átlátszó és csak a kémcső alján látható pehelyszerű csapadék. Ritkábban, ha az egyes telepek messzebb egymástól fejlődnek, az elfolyósodott gelatina egy ideig a gömbalakot is megtarthatja (11-ik ábra).

Gázbuborékok gyér számmal a gelatina felső rétegében fejlődnek egyes esetekben.

Az elfolyósodott gelatinának rothadó káposztára emlékeztető szaga van; vegyhatása alkalis.

9 napos tenyészetben nagyobbára 1·8–6 μ hosszú és 0·75–1·5 μ széles egyenes vagy kissé hajlott, de elég gyakran erősebben

görbült egész patkóalakú, vagy csak egyik végén hajlott pálczikák találhatók, melyek legtöbbször egyesévei, de elég gyakran mint kettős pálczikák vagy 4—5 tagból álló fonalakat képezve találhatók fel. Egyik-másik pálczikában, mely egyik végén már valamivel vastagabb, a fejlődésben levő spóra látható. Valamivel régebbi tenyészetekben (11—12 napos) csekély számmal zárt clostridiumok is találhatók. Az erősen fénytörő, nem egészen polár elhelyezett spóra gyengén festődik; jóval erősebben festődik a spóra fala. A spóráképződés tehát jóval később indul meg és lassabban megy végbe mint agartenyészetekben; a pálczikák alakja és nagysága sem oly állandó. 3 hetes tenyészetben igen nagyszámú clostridium (zárt és nyitott) és szabadon levő spóra található. 4—5 hetes tenyészetben, hol a gelatina néhány nap óta már egészen folyékony, a pelyhes csapadék legalsó részében úgyszólván kizárólag szabadon levő sporák és csak kevés pálczika található, melyek közül egyesek már az elfajulás tüneteit (egyenlőtlenül vastagak, duzzadtak) mutatják; az ilyen pálczikák egyenlőtlenül is festődnek, egyes esetekben a plasma csak a végeken vagy a széleken vette fel a festőanyagot. Az üledék felső részéből készített praeparatumban úgyszólván csupa pálczika és kevés szabadon fekvő spóra van. A pálczikák legtöbbször a leírt elfajulásos tünetek ismerhetők fel.

Gelatin-lemezekén sem aërob, sem anaërob viszonyok között nem sikerült a bakteriumot tenyészteni.

Koagulált fehérjében a bakterium eléggé jól fejlődik. Melegítő kemenczében, anaërob viszonyok között (*Buchner*-féle kémcsőben) a 9—10. napon indul meg a fehérje feloldása; az oldódás legtöbbször a kémcső legalján, ritkábban az alvadt fehérje alsóbb részében indul meg. A tejfehér alvadt fehérjéből lassankint egy homogén áttetsző kocsonyaszerű anyag lesz, melyben sok gázhólyag látható. A kémcső felnyitása alkalmával rothadó káposztára emlékeztető szag érezhető. Ebben az időben az áttetsző kocsonyaszerű anyagban igen nagy mennyiségben vannak 2·5—6 μ hosszú és 0·5—0·7 μ széles pálczikák, melyek legtöbbször egyesben, de igen gyakran mint kettős pálczikák vagy 3—8 tagból álló fonalakat képezve találhatók. 3 hetes tenyészetben még hosszabb, egész 15 tagból álló fonalak és clostridium alakok is vannak.

Eközben a fehérje feloldása fokozatosan terjed és az említett szagon kívül a kénhidrogén jellegzetes szaga is érezhető.

Burgonyán sem aërob, sem anaërob tenyésztési eljárásokkal nem sikerült a bakteriumot tenyészteni; a burgonyára ojtott bakteriumok azonban hosszabb ideig, 8—9 hétig is megtartották életképességüket.

Közönséges húsleves anaërob körülmények és 34° C hőmérséklet mellett már az ojtás utáni 2—3. napon megzavarosodik és sajátságos, a friss gomba szagára emlékeztető szagot vesz fel. Gázfejlődés nem észlelhető. Ebben az időben rövid, vaskos és valamivel hosszabb és nyulánkabb, 2·25—3·0 μ hosszú és 0·75—1·2 μ széles pálczikák vannak jelen, melyek lüggő cseppben igen élénk mozgást tüntetnek fel. A pálczikák legtöbbszörre egyesével, de elég gyakran kettesével, sőt 3—4 tagból álló fonalakat képezve lelhetők fel.

A következő napokban a zavarosodás fokozódik és lassankint kevés pelyhes üledék halmozódik fel a kémcső alján. Az üledékben már sok tojásalakú és nem egészen kifejezett orsóalakot feltűnítő bakteriumok vannak. Az ezután következő napokban, miközben a húsleves kissé feltisztul, egy az edény aljától a felület felé emelkedő nyúlós fátyolszerű zavarosodás képződik és a folyadék igen intensív rothadó káposztára emlékeztető szagot vesz fel. Ebben az időszakban már körülbelül egyforma arányban találhatók pálczikák és kifejezett clostridiumok; szabadon fekvő spórák sem ritkák. 20 napos bouillontenyészet már csak alig észrevehető módon zavaros; a kémcső alján látható kevés nyúlós üledék, melyben az említett formákon kívül még 4—6 tagból álló fonalak is vannak és a folyadék kellemetlen szaga képezik az összes így megállapítható elváltozásokat.

Tejczukrot — vagy szőlőczukrot — tartalmazó húslevesben a bakterium egészen hasonló módon tenyészik; az ilyen húslevesben is a második napon zavarosodás áll elő, mely gyorsan fokozódik és a 3—4. napon már kevés pelyhes üledék, majd felhőszerű csapadék képződésére vezet; gázfejlődés itt sem észlelhető, szaga is megegyezik a közönséges húsleves tenyészet szagával.

Közönséges vagy czukortartalmú húslevesben, aërob viszonyok között, egyáltalában nem fejlődik a bakterium; még akkor sem, ha húsleves nagy tömegébe történik az ojtás. A bevitt bakteriumok azonban a nélkül, hogy a legcsekélyebb zavarodást idéznék elő, még hosszabb idő (3 hét) múlva is életképeseknek bizonyulnak.

A húslevesen kívül még más folyékony táptalajba is ojtatott a bakterium. A *Beijerinck* által bakteriumok tenyésztésére ajánlott folyadékban (5 gr. glycase, 5 gr. pepton, 100 gr. víz) csak egy esetben sikerült rövid ideig tartó fejlődést észlelni; az ojtás utáni 5-ik napon ugyanis gyenge zavarosodás állt elő, mely többé nem fokozódott.

A *Fränkel* és *Voges* szerint készített fehérjementes tenyésztalajban (5 gr. konyhasó, 2 gr. közömbös natriumphosphát, 6 gr. tejsavas-ammoniak, 4 gr. asparasin, 100 gr. víz) 34° C hőmérsékletben és anaërob viszonyok között a fejlődés rendkívül lassan és hosszú idő múlva indult meg. Az ojtás utáni 24-ik napon alig észrevehető, kevés, tejfehér, opaleskáló csapadék jelent meg, mely a következő napokban kis mértékben szaporodott; az ojtás után 1½ hónap múlva sem volt több a csapadék. A csapadéokban legtöbbszörre pálczikák, de orsóalakú sejtek is voltak.

Egy másik, *Meyer* szerint készült fehérjementes folyékony táptalajban (1·0 gr. monokaliumphosphát, 0·1 gr. chlorcalcium, 0·3 gr. magnesiumpulphát, 0·1 gr. chlornatrium, 0·01 gr. vaschlorid, 1000 gr. víz) egészen hasonló módon fejlődött a bakterium.

A bakterium chemiai-biológiai sajátosságai.

Igen fontos volt a bakterium physiologiájának megismerése czéljából a fehérjék bizonyos bomlástermékeinek a húslevesben való kimutatása. Főleg a phenol, indol, kénhydrogen, merkaptán és ammoniak kimutatása bírt fontossággal.

Phenol kimutatása czéljából a czukormentes húslevestenyészetet $\frac{1}{5}$ -rész sósavval keverve, 100° C hőmérsékletű vízgőzzel pároltam. Az átpárolt folyadékban *phenol nem volt kimutatható*; brómvíz hozzáadása után ugyanis elmaradt a pelyhes csapadék.

kiválása, szintúgy calciumkarbonattal való óvatos neutralizálás után az erősen hígított vaschlorid-oldat sem adta a phenolra jellegzetes színreakciót (viola színeződés).

Indolra való kémlelés; 9 napos czuķormentes bouillontenyészethez térfogatának fele mennyiségű 10%-os kénsavoldatot adva és 80° C-ra felmelegítve, az indolra jellegzetes rózsaszín színeződés nem állott elő. Az *indolreakció*, a főleg indolképző bakteriumok tenyésztésére alkalmas folyékony táptalajban (chlornatrium és pepton aa 1.0 gr., víz 100 gr.), szintén *negatív volt*.

Kénhydrogén kimutatása; a 7 napos húslevestenyészetet tartalmazó *Erlenmeyer*-féle palaczk nyakába szorított ólomacetat-oldatba mártott papirszelet kezdetben barnás, később fekete színeződést vett fel. Az *Ernst* által ajánlott *kénhydrogen reakció* szintén *positív volt*; a bórsavas vasoxynátronoldattal készült gelatina a bakterium beajtása utáni 12-ik napon megfelekedett.

A *Rubner**-féle *merkaptan reactio positiv volt*. A húslevestenyészetnek thermostatba való helyezése után, 5 óra múlva, az isatinkénsav által vörössézárgára festett üveggyöngyök megzöldültek.

Az *ammoniák quantitativ meghatározása*; 500 ccm. húslevesből, mely 2.5 gr. konyhasó és 5 gr. pepton hozzáadásával készült, 400 grammot használtam fel tenyésztalajnak. Ebbe a 400 gr. húslevesbe azután előzetes alkalizálás után (27.8 ccm. $\frac{n}{4}$ Na OH oldattal) beleajtottam a bakteriumot és anaërob viszonyok között, 34° C hőmérséklet mellett állani hagytam. 5 nap múlva, az erősen megzavarosodott és pelyhes üledéket tartalmazó húslevestenyészet 100 ccm.-ét, körülbelül 300 gr. destillált vízzel való hígítás után 5 gr. magnesia ustával és kevés zinkreszeléssel párolásnak vetettem alá. Felfogó folyadéku 60 ccm. $\frac{n}{4}$ H₂ SO₄ oldat szolgált.

A visszatitrálásnál a felfogó folyadék közömbösítéséhez 26.3 $\frac{n}{4}$ Na OH oldat volt szükséges, a miből következik, hogy

* *Rubner* a húslevestenyészetet tartalmazó palaczk nyakába U alakban megörbített üvegcsövet helyez, melyben isatinkénsavval megnedvesített üveggyöngyök vannak.

33·7 ccm. $\frac{n}{4}$ H₂ SO₄ oldatot az ammoniák kötött le (indikátorul kongóvörös szolgált).

Ismeretes azonban, hogy ammoniák és ammoniákszarmazékok már a közönséges savanyú kémhatású húsleves párolása alkalmával is keletkeznek, miért is a még ojtatlan húsleves ammoniaktartalmát is meg kellett határozni, hogy azt levonásba hozzassuk a fenti (33·7) összegből.

100 gr. közönséges, még nem ojtott, gyengén savanyú (8·70 $\frac{n}{4}$ Na OH igényelt 100 gr. ojtatlan húsleves közömbösítése) kémhatású húsleves párolása alkalmával az átpárolt folyadék közömbösítésére 4·8 ccm. $\frac{n}{4}$ H₂ SO₄ oldat volt szükséges. Ezt levonásba hozva a 33·7 ccm.-ből, a nyert 28·9 ccm. $\frac{n}{4}$ H₂ SO₄ oldatnak 0·12326 gr. ammoniák felel meg. 1000 ccm. húsleves-tenyészetben tehát 1·2326 gr. ammoniák foglaltatik.

Nem kevésbé fontos volt a bakterium nitrátredukáló képességét is megállapítani. A nitrátoknak nitritekké való redukálására ugyanis több fehérjebontó bakterium képes. *Petri* és *Maassen*²² az általok vizsgált 6 bakteriumféleségnél úgyszólván kivétel nélkül erős nitritképződést észleltek. *Rubner*²³ szerint csak kivételes esetekben hiányzik nitrit a tenyészfolyadékban. *Warington*²⁴ pedig az általa vizsgált 25 bakterium közül 18-nál észlelt nitritképző tulajdonságot.

A nitrátredukáló képesség megállapítása céljából a bakteriumot a következő összetételű tenyészfolyadékba ojtottam: chlornatrium, kaliumnitrát és pepton aa 1·0 gr., 1000 gr. vízre. Az anaërob viszonyok között és thermostatban tartott folyadékban az ojtás utáni 7-ik napon gyenge zavarosodás jelentkezett, mely a következő napokban még fokozódott. A tenyészetből 10 ccm.-t kémlöcsőbe véve, néhány csepp szintelen jódkaliumkeményítő-oldat ($\frac{1}{2}$ °/o-os jódkaliumot tartalmazó híg keményítő pép) hozzáadása után a nitrit jelenlétére jellemző sötétkék, egész sötét barnavörös színeződés nem jött létre. A bakterium tehát nem képes a nitrátokat nitritekké redukálni.

Tejbe ojtva a bakteriumot, az ojtás utáni 2—10-ik napon (aërob viszonyok között, 34° C hőmérséklet mellett) gyenge, alig észrevehető, rothadó káposztára emlékeztető szag jelent-

kezik, a nélkül azonban, hogy a tej kinézése megváltoznék. Másnap, ritkábban az első jelenségek megállapítása utáni második vagy harmadik napon a tej sűrűbb lesz, miközben a már észlelt kellemetlen szag fokozódik. A tej összeállása ebben az időszakban a sűrű tejszín összeállására emlékeztet. A következő napokban a sűrűsödés mindinkább fokozódik, míg végre az első jelenségek megállapítása utáni 4—12. napon a tej egyenletesen megalvad. A kivált casein összeállása lágy, kenőcsszerű és ilyen is marad mindvégig; tömörségét illetőleg meg sem közelíti a tejsavbakteriumok behatása következtében kivált casein összeállítását. Ebben az időben a tejkellemetlen szaga már igen kifejezett.

A megalvadás után már néhány óra múlva megindul a casein feloldása; a megalvadt tej felületén kevés zavaros folyadék jelenik meg, mely gyorsan szaporodik, miközben a kivált caseinoszlop fokozatosan kisebbedik; 24—30 óra muva a kémcsőben tartott 30 ccm. alvadt tej felületén 5 ccm. folyadék van már.

A bakterium erős fehérjeoldó hatása még a tejsérum gyorsan növekvő N tartalmából is kitűnik, a mennyiben a N egy $2\frac{1}{2}$ napos tenyészetben 0.412%-ról 2.005%-ra emelkedett.

Az éppen megalvadt tej színe a rendes tej színétől semmiiben sem különbözik; szintúgy a megalvadt casein felületén felgyülemelő folyadék színe is megegyezik a tejsavó színével. Néhány nap múlva azonban a kivált casein szürkés árnyalatot vesz fel, a felgyülemelő folyadék pedig sárgás színűvé lesz és egyszerűsmind kissé feltisztul. 16—20 napos tenyészetben a kivált casein az edény alján sűrű pelyhes csapadékot képez, mely felett tiszta, borsárga színű folyadék van. Eközben a tej kellemetlen szaga igen intenzívvé lesz, úgy, hogy 500—700 gr. megbontott tejet tartalmazó üveg felnyitása után a dolgozó helyiségek megtelnek vele.

Szobahőmérséklet mellett tartott tejkulturákban mérsékelt gázfejlődés észlelhető; a folyadék felületén csak kevés, kicsiny gázhólyag látható és az üveg felnyitása alkalmával a nyomás is csekély. Thermostatban tartott tenyészetekben a gázfejlődés azonban élénkebb; a folyadék felszínén számos kisebb-nagyobb gázhólyag látható és az üveg felnyitása alkalmával a gázak nagy feszüléséről lehet meggyőződni.

A tej kémhatása kezdetben közömbös. A közömbös kémhatás néhány nap múlva azonban gyorsan növekvő aciditásnak ad helyet. Thermostatban tartott 3 napos tenyészetben a sav mennyisége — 100 ccm. tejre vonatkoztatva — $7\cdot0\frac{n}{4}$ Na OH oldatnak felelt meg, mely az 5-ik napon 11·8, a 6-ik napon 20·6, a 7-ik napon 20·8, a 8-ik napon 20·9, a 9-ik napon 21·0, a 11-ik napon 21·2, a 15-ik napon 25·2, a 16-ik napon 25·3, a 17-ik napon 25·4, a 18-ik napon 25·4, a 20-ik napon pedig 25·4 ccm. $\frac{n}{4}$ Na OH oldatnak megfelelő mennyiséget tett ki.

A mint azt a számadatok is mutatják, a savtartalom kezdetben igen gyorsan emelkedik, majd lassúbodik és még később megállapodik. A változtató folyamat gyorsasága bizonyára nagyon is változó lesz az egyes tenyészetekben és a baktériumok mennyiségén és virulenciáján kívül, főleg a hőmérséklet nagyságától fog függni.

A kérdés most már csak az volt, hogy a gyorsan fokozódó aciditás milyen savak által van feltételezve? Evégből 500 ccm. 7 napos tejkulturát párolatnak vettem alá; az 500 ccm. erősen megbontott tej savtartalma 178 ccm. $\frac{n}{4}$ Na OH oldatnak felelt meg. A párolás 100° C hőmérsékletű vízgőzzel történt és addig tartott, míg a *Liebig*-féle hűtőn átment folyadék a kék lakmus-papirosra már közömbös volt.

A 400 ccm.-t kitevő átdestillált folyadék közömbösítésére csak 6 cm. $\frac{n}{4}$ Na OH-oldat volt szükséges, a miből következik, hogy *a gyorsan fokozódó aciditásban az illó savak csak igen korlátozott mennyiségben vesznek részt.* A kvalitatív vizsgálatok az átdestillált folyadékban tejsav, vajsav és isovaleriansav jelenlétét állapították meg. Az a körülmény, hogy az átdestillált folyadékban tejsav kimutatható volt, megerősíti *Utz*²⁵ azon tapasztalatait, hogy a tejsav vízgőzzel könnyen átdestillálható.

A tejsav kimutatása az *Uffelmann*-féle reagenssel (10 ccm. 20%-os vizes phenol-oldat és néhány csepp vaschlórid) történt. Az átdestillált folyadék, az ametisztkék reagens hozzá cseppenésekor citromsárga színt vett fel.

Vajsav kimutatása céljából az átdestillált folyadékból 300 ccm.-t, előzetes közömbösítés után, néhány ccm.-re bepárolog-

tattam. Az ilyen módon nyert folyadékhoz néhány csepp híg kénsavoldatot adva, melegítéskor a *vajsavas-aethylaether* ($C_3H_7 - CO.O C_2H_5$) igen jellemző ananászszaga igen kifejezetten volt érezhető.

A bepárolt és közömbösített folyadék másik részét kénsavval és amyl-alkohollal kezelve, melegítéskor az „*almaolaj*“ (*Isovaleriansav-isoamylaether* $C_4H_9 - CO O C_5H_{11}$) jellemző szaga kifejezetten volt érezhető.

A lombikban maradt, még át nem párolt tejkulturát, phosphorsavval való megsavanyítás után tovább pároltam. Az átpárolt folyadékot 5 részletben fogtam fel. Az első részlet 100 ccm.-ének közömbösítésére 18 cm. $\frac{n}{4}$ Na OH-oldat volt szükséges; a második részlet 5·6, a harmadik 4·2, a negyedik 3·4 és az ötödik részlet 2·2 ccm. $\frac{n}{4}$ Na OH-oldatot igényelt a pontos közömbösítéshez. Az átpárolt folyadék összesen $2\frac{1}{4}$ litert tett ki és 196 cm. Na OH-oldat volt szükséges a közömbösítéshez.

Ebből következik, hogy az illó savaknak igen tekintélyes része basisokhoz kötve, mint nem illó sók voltak jelen.

Az átpárolt folyadék, valamint a belőle eltávozó gázak a merkaptán jellemző szagán kívül még kénhydrogén szagot is terjesztettek. Az átpárolt folyadék felfogására szolgáló palaczk száját és a *Liebig*-féle hűtő végét ólomacetát-oldatba mártott papirossal körülvéve, az csakhamar megfeketedett; jeléül annak, hogy tetemes mennyiségű kénhydrogén képződik. Merkaptán jelenléte már a bouillonkulturák párolása alkalmával is megállapíthatott.

Említésre méltó, hogy az átpárolt folyadék első részletében még tetemes mennyiségű tejsav volt; az *Uffelmann*-féle reagens hozzáadása után igen intensív citromsárga színeződés állott elő, mely az átpárolt folyadék második részletében már kevésbé intensív és a harmadikban alig észrevehető volt. A negyedik részletben az *Uffelmann*-féle reakció negatív volt; a kísérleteknek ez az eredménye is megerősíti *Utz*²⁵ azon tapasztalatait, hogy a tejsav illékony, illetve, hogy vízgőzzel könnyen átpárolható.

A tejsavon kívül mind az öt folyadékrészletben ecetsav és hangyasav is volt; a folyadéknak hígított vashloridoldattal való

kezelése után ugyanis eczetsavas vasoxyd vált ki és a folyadék megvörösödött. A vörös szín sósav hozzáadása vagy a folyadék felforralása után eltűnt. Eczetsav jelenléte mellett bizonyított továbbá azon körülmény is, hogy a vízfürdön bepárolt folyadéknak néhány csepp kénsavval való kezelése után az igen jellegzetes eczetsavszag vált érezhetővé, melyet kevés alkohol hozzáadása után igen kifejezett eczetsavaetherszag váltott fel.

Hangyasav kimutatása; az ezüstnitrát-oldattal kezelt és felmelegített folyadékban a hangyasav redukáló hatása következtében színezüst vált ki, mely a folyadékot megfeketítette.

A tejsavon, eczetsavon és hangyasavon kívül még vajsav és isovaleriánsav is kimutatható volt. A tejsav, vajsav és isovaleriánsav egy része tehát basisokhoz volt kötve úgy, hogy csak a phosphorsavval való kezelés után váltak szabaddá. Borostyánkősav kimutatására*) irányuló vizsgálatok negatív eredményre vezettek. Skatolkarbonsav sem az átpárolt folyadékban sem pedig a párolás után visszamaradt folyadékban nem volt kimutatható; még a Salkowski²⁷ által legérzékenyebbnek tartott vaschlorid reactio is negatív volt. A kísérletek ez utóbbi eredménye kapcsolatban azzal a körülménnyel, hogy az erősen elbontott húsléves tenyészetben phenol és indol sem volt kimutatható, a mellett szól, hogy a baktérium létesítette fehérjeszétés ezen aromatikussá végtermékek keletkezése nélkül megy végbe.

A fehérjeszétés mértékéről közelebbi felvilágosítást adnak a tejserummal végzett vegyi vizsgálatok. Öthetes tejkultúra felületéről pipettával leemelt borsárgaszínű serum, felfőzés közben jelentékenyen megzavarodott; a zavarosodás eczetsavval való megsavanyítás után sem tűnt el (*albumin*). Az így kezelt serumot megszűrve, az egészen kristálytiszta szűrlet néhány csepp tömény konyhasóoldat hozzáadása után újból megzavarosodott; a zavarosodás felmelegítés után eltűnt, a folyadék lehűlése után pedig újból megjelent (*albumose*) 20 ccm savóhoz 30 gr. ammonsulfátot adva és 80° C-re felmelegítve bő csapadék keletkezett. A folyadék megszűrése után a szűrletet káliluggal erősen alkálizálva, rézsulfátoldat hozzácseppentésekor gyenge rózsaszín színeződés állott elő (*pepton*.) Ezáltal a casein

*) Borostyánkősav kimutatására a Simmützki-féle²⁶ eljárást használtam, mely lehetővé teszi a borostyánkősavnak tejsav jelenlétében való kimutatását.

megbontása egészen a pepton képződésig be volt igazolva. A kérdés most már csak az volt, hogy még mélyebbre hatoló fehérjeszétesést nem idéz-e elő a baktérium?

A mélyreható fehérjeszétesést igazoló amidosavak kimutatása a tejben még a legújabban *Stritter**) által ajánlott eljárással sem voltak az erősen megbontott tejben kimutathatók. Ezzel szemben azonban a *tryptophánreakció* (brómvíz hozzáadásakor a tejben vagy tejszumban ibolyaszínű csapadék jelentkezik) *mindig pozitív volt a mi* az eddigi tapasztalatok szerint, melyeket újabban *Kalischer*²⁹ is megerősít, *mindig igen mélyreható fehérjeszétesésre és különösen amidosavak (leucin, tyrosin) jelenlétére utal*. Hogy ennek dacára amidosavak a *Stritter*-féle eljárással még sem voltak kimutathatók, annak oka esetleg a tejcukor zavaró hatására vezethető vissza. *Kalischer*²⁹ észlelte ugyanis, hogy míg tiszta caseint tartalmazó tápfolyadékban egy peptonisalo tejbaktérium beoltása után a szokásos eljárásokkal amidosavak mindig kimutathatók voltak, addig ugyanazzal a baktériummal ojtott és elbontott tejben amidosavak ugyanazokkal az eljárásokkal nem voltak kimutathatók; a tryptophán-reakció azonban pozitív volt. *Kalischer*²⁹ a tejcukor zavaró hatására vezeti vissza az amidosavak kimutatására irányuló eljárások negatív eredményét.

A baktérium mélyreható fehérjebontó hatása mellett bizonyít azon körülmény is, hogy az agar-agar lemezekben tyrosin jegecek voltak kimutathatók. Ez utóbbi körülmény *Kalischer* nézetének helyessége mellett is bizonyít.

Mielőtt a baktériumnak a szénhidrátokra való hatását tárgyalnám, még egyszer visszatérek a baktérium fehérjebontó hatása következtében létrejött illó savakra. Láttuk ugyanis, hogy az illó savak közül vajsav, tejsav, isovaleriansav, hangyasav és ecetsav volt a párolásnak alávetett tejben kimutatható. Igen érdekes kérdés volt az, hogy ezen savak közül a vajsav és a többi illó savak, mennyiségüket illetőleg, milyen arányban vannak egymáshoz? A kérdés megfejtése céljából következőképpen jártam el: 500 gr. 7 napos

*) *Stritter*²⁸ ugyanis az eredetileg *Ignatowski* által adott és *Fischer* továbbá *Perjel* által klinikai célokra alkalmassá tett eljárást. „Az amidosavak kimutatása a vizeletben“, az amidosavak tejben való kimutatására is alkalmasnak tartja, némi módosítással.

tejkulturát phosphorsavval való megsavanyítás után párolásnak vetettem alá. Az átpárolt folyadékot, mely körülbelül $2\frac{1}{2}$ liter volt, barytvízzel való pontos közömbösítés után, vízfürdön, 20 ccm-re bepárologtattam. Az így nyert baryumsók mennyisége, szárítás után 1.0380 gr-ot tett ki. Ezt az egész mennyiséget vajsavasbarytnak véve, annak 0.457 gr. fémbarymot kellett volna tartalmaznia. A vizsgálatok azonban mást állapítottak meg. A fémbaryum tényleges mennyisége ugyanis 0.66 gr-ot tett ki.

Ebből következik, hogy ha a talált baryumsók (1.0380 gr.) főleg vajsavasbaryumból állottak volna, azoknak — a talált fémbaryum mennyiségéből következően — tetemesen többnek kellett volna lenniök. Ebből azután még az is következik, hogy a baryumsók képzésében nem is olyan jelentéktelen mennyiségben, a vajsavasbaryumnál alacsonyabb molekulasúlyú savak (tejsav, valeriansav, hangyasav, eczetsav) vettek részt.

Igen fontos volt a bakterium physiologiájának pontos megismerése céljából azt is eldönteni, hogy a bakterium az erős fehérjebontó hatás mellett a tejezukorral szemben miként viselkedik. A kérdés eldöntése csakis sorozatos quantitativ tejezukor-meghatározások útján volt remélhető.

A tejezukor quantitative (*Allihn* *) módszerével) egy és ugyanabban a tejben a bakterium beajtása előtt, valamint a bakterium beajtása után, a már különböző mértékben megbontott tejben határozottatott meg és a következő eredményre vezetett. A tejben a tejezukor mennyisége, a bakterium beajtása előtt 0.3422 gr = 5.1512% volt, majd a beajtás utáni negyedik napon 0.3433 gr = 5.1688%-ra, a kilencedik napon 0.3447 gr = 5.1912%-ra és a háromhetes tejkulturában pedig 0.3478 gr = 5.2424%-ra emelkedett.

*) 25 ccm tejhez 400 ccm párolt vizet, 10 ccm *Fehling*-féle rézsulfát-oldat és 6.5—7.5 ccm Na OH oldatot adunk (a Na OH oldat úgy van készíve, hogy 1000 gr víz 10.2 gr nátronlugot tartalmaz), majd 500 ccm-re való kiegészítés után megsűrjük. A szűrletből 100 ccm-t, 50 ccm forrásban levő *Fehling*-féle oldathoz adunk és azt az újból megindult forrástól számítva 6 percig főzzük.

Az eközben kivált rézoxydult egy *Allihn*-féle csőben asbestszűrőn összegyűjtjük, majd for.ó.ízzel, alkohollal és aetherrel való mosás után megszáritjuk; a száraz rézoxydult H áramban fémrézzé redukáljuk.

1 mg fémréz 0.73 mg tejezukornak felel meg.

A számadatok azt mutatják, hogy a lemért fémréz mennyisége a tej elválkozásának foka szerint kis mértékben bár, de fokozatosan emelkedik. A mi csak úgy lehetséges, ha a régibb, erősebben megbontott tejben, a tejcukor mellett még más, a *Fehling*-féle oldatot szintén redukáló vegyület képződik.

Könnyen belátható, hogy ilyen körülmények között a fenti súlyanalitikai eljárás a kérdés eldöntésére nem volt alkalmas, annál inkább sem, mert újabb vizsgálatokból kitűnt, hogy az elbontott tej párolása után az átpárolt folyadék tényleg redukáló képességgel bír.

További vizsgálatok megállapították, hogy az átpárolt folyadék redukáló képessége kénhydrogén jelenlétére vezetendő vissza és hogy a kénhydrogén eltávolítása czeljából ólomfehér-porral kezelt tejkulturákban az *Allihn*-féle eljárással a fémréz mennyiségének csökkenését lehet megállapítani.

Ilyen módon kiküszöbölve a zavaró hatású kénhydrogént, a nyert fémréz mennyiségéből kiszámított tejcukor az elbontott tejben mindig kevesebb volt, mint a friss tejben, a bakterium beajtása előtt. Így pl. 0·3448 gr. = 5·1600% tejcukrot tartalmazó friss tejben a bakterium beajtása utáni negyedik napon 0·3417 gr. = 5·1426%, a tizedik napon 0·3402 gr. = 5·1162%, a huszonegyedik napon pedig 0·3391 gr. = 5·1140% volt a tejcukor mennyisége.

A vizsgálatok tehát megállapították, hogy a bakterium a tejcukrot bár kis mértékben de mégis megbontja.

Szükséges volt még megállapítani a bakteriumnak más cukrokra és magasabb alkoholokra való hatását is. E végből a bakteriumot a következő tenyészfolyadékba ojtottam: 1000 gr vizet, melyben 70 gr finoman eldörzsölt keményítőmentes élesztő volt, 15 perczig főztem 98° C. mellett. A lehült folyadékot agyagszűrőn átszűrve, apró *Erlenmeyer*-féle lombikokba töltöttem; sterilizálás után hozzáadva az illető cukrot, titrálás útján meghatároztam a folyadék savtartalmát. Az eredmény a következő volt.

A tenyészfolyadékban van	100 gr. tenyész- folyadék alkalizálá- sára szükséges vol- a bakterium beoj- tása előtt a $\frac{n}{4}$ Na OH oldatból	8 nappal ké- sőbb szük- séges volt a $\frac{n}{4}$ Na OH ol- datból	Megjegyzés
30/o Arabinose ---	2·8 ccm.	2 9 ccm.	34° C. hőmérséklet és anaërob visz- nyok között a 8-ik napon a tenyész- folyadék erősen megzavarodott.
" Galaktose ---	5·0 "	5·3 "	A 8. napon gyengén zavaros.
" Raffinose ---	2·4 "	2·7 "	A 9. napon gyengén zavaros.
" Xylose ---	3·0 "	—	Tiszta maradt.
" Maltose ---	2·8 "	—	" "
" Mannit ---	0·4 "	0·5 "	A 7. napon meg- zavarosodott.
" Dextrose ---	1·0 "	1·3 "	A 10. napon gyen- gén zavaros.
" α Methylglycosid	0·4 "	0·4 "	A 10. napon gyen- gén zavaros.
" Lactose ---	3·0 "	6·6 "	A 6. napon erősen zavaros.

A mint az a táblázatból látható, a bakterium az arabinoset galaktoset, raffinaset, mannitot, dextroset és az α methylglycosidot nem képes megbontani. Xyloset és maltoset tartalmazó tenyészfolyadékban ugylátszik egyáltalán nem képes fejlődni: egyedül csak a tejezukrot volt képes megbontani.

A tejezukrot tartalmazó erősen zavaros folyadékot párolásnak alávetve az átpárolt folyadékban tejsav és vajsav volt kimutatható. Az Uffelmann-féle reagens hozzáadása után igen gyenge ezitromsárga szineződés állott elő. Az átpárolt folyadéknak besűritése és híg kénsavval való megsavanyítása után alkohollal melegítve, gyenge ananászszag érezhető (vajsavas aethylaether). Isovaleriánsav, eczetsav, hangyasav nem volt kimutatható. A tejezukor erjedési termékei közül, tehát csak kevés tejsav és vajsav volt megállapítható.

A bakterium szívóssága, elterjedése a természetben és kórhatása.

A mint értekezésem első részéből kitűnik, a bakterium daczára annak, hogy főleg fehérjeszétesést idéz elő, nem szigoruan anaërob, a mennyiben agarba és gelatinába szűrva, valamint tej mély rétegében aërob viszonyok között is tenyész és önálló mozgásra is képes; sőt ilyen viszonyok között agar szűrési tenyészet mélyében gyorsan és bőven fejlődik.

A hőmérséklet, melynél a bakterium fejlődése még lehetséges, meglehetősen nagy ingadozásoknak lehet kitéve a nélkül, hogy a bakterium fejlődését valami különös módon akadályozná. Jólehet a bakterium legjobban thermostatban, $34-37^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletben tenyészik, mégis szobahőmérsékletben is elég gyorsan fejlődnek a telepek. 12°C hőmérséklet már kedvezőtlen a fejlődésére, a mennyiben lassítja azt. $7-8^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletben pedig telepfejlődés többé nem volt észlelhető. Ez utóbbi hőmérsékletben tartva a bakteriumot, az korántsem veszíti el azonban életképességét. Így pl. agarba szűrva a bakteriumot, 7°C hőmérsékletben még a harmadik hét végén sem volt telepfejlődés észlelhető; thermostatba téve a kémcsövet, már másnap telepfejlődés indult meg a szűrési vonal mentén, miközben élénk gázfejlődés is volt észlelhető. Egy másik esetben — 3 egész $+ 2^{\circ}\text{C}$ között váltakozó hőmérsékletnek voltak kitéve az agarba ojtott bakteriumok három héten keresztül a nélkül, hogy telepfejlődés indult volna meg; thermostatba téve a kémcsövet már másnap apró kolóniák voltak láthatók a szűrési vonal mentén.

Említésre méltó, hogy thermostatban fejlődött tenyészetekből vett egyedek éppen olyan sokáig átojthatók maradtak, mint az alacsonyabb hőmérsékletben lassan fejlődött bakteriumok. Ez utóbbi körülmény azért érdemel figyelmet, mert *Schattenfroh* a mozgó vajsavbakterium tenyésztése közben azt tapasztalta, hogy az alacsonyabb hőmérsékletben lassan fejlődött tenyészetekből vett egyedek ellentállóképessége jóval nagyobb volt, mint a thermostatban tenyésztett bakteriumoké. Míg az előbbiek sokáig átojthatók maradtak, addig az utóbbiak 2—4 nap alatt tönkre mentek. A bakterium resistentiájáról különösen

az agar szűrési tenyészetekből vett egyedeken lehetett meggyőződni; 2 hónapos thermostatban fejlődött tenyészetekben, hol a száradás következtében az agar a szűrési vonal mentén ketté vált, a bakterium életképessége nem szűnt meg; új tenyésztalajba ojtva azokat, gyors és bő telepfejlődés indult meg.

A bakterium spórája nagy resistantiával bír a magas hőmérséklettel szemben is. Már egymaga az a körülmény, hogy a bakterium, 98° C hőmérsékletben 10 perczig sterilizált tejből tenyésztetett ki, a spóra nagy ellentálló képessége mellett bizonyít, magas hőmérsékletekkel szemben. Spóratartalmú bakteriumokat 5 perczig 110° C hőmérsékletű áramló vízgőzben tartva azok életképesek maradtak; az említett hőmérsékletnek 10 perczig tartó behatása ölte csak meg azokat.

A bakterium tenyésztésére az egyes táptalajok nem egyformán alkalmasak. Bizonyos anyagoknak hiánya csak lassú, gyenge fejlődést enged meg. A bakterium mindenekelőtt nitrogéntartalmú szerves anyagokat igényel, melyek közül a fehérjéket úgy látszik legnehezebben nélkülözi, míg a szénhidrátok hiánya éppenséggel nem befolyásolják fejlődését. Nitrogénmentes tenyészfolyadékokban még akkor is, ha az aspiragint tartalmaz, csak hosszabb idő múlva indul meg a fejlődés és csakhamar megakad. Éppen így az egyszerűbb tenyészfolyadékokban is, mint a milyen a *Beijerinck*-féle folyadék (5 gr. glycose, 5 gr. pepton, 100 gr. víz), mely kevés fehérjén kívül csakis a bakteriumra hasznavehetetlen szénhidrátokat tartalmazza, már gyengébb fejlődés észlelhető, mint fehérjedús és sókat is tartalmazó táptalajban.

A bakterium úgy látszik igen el van terjedve a természetben, a mennyiben azt különféle anyagokban (tejben, porban, földben, szarvasmarha- és lóbélsárban) sikerült kimutatni. A bakterium kimutatásánál rendszerint úgy jártam el, hogy bouillont kisebb *Erlenmeyer*-féle lombikokban forrásba hoztam, majd a még forró folyadékba belekevertem a vizsgálandó anyagot. A 37° C hőmérsékletben anaërob viszonyok között tartott folyadékban rendszerint már másnap erős zavarodás jelentkezett, élénk gázfejlődés kíséretében. A 4—5-ik napon azután a folyadékból különböző hígítású agárlemez tenyészeteket készítettem, melyekből azután többszöri átojtások után a bakterium

tiszta tenyészeit sikerült megkapnom. Két ízben sterilizált forró tejhez kevertem a vizsgálandó anyagot és ilyen módon is sikerült a bakteriumot a későbben öntött agarlemezekről kitenyésztenem.

A bakterium nem pathogen tengeri malaczra és fehér egerre. A hasüregbe, valamint a bőr alá fecskendezett bouillontenyészetek nem betegítették meg a kísérleti állatokat.

Összehasonlítás más erjesztő bakteriumokkal.

A bakterium differentiálása alkalmával a következő, alakilag több tekintetben hasonló mikroorganizmusokat kellett tekintetbe venni:

1. *Granulobacillus saccharobutyricus mobilis non liquefaciens* Grassberger-Schattenfroh¹¹. 3—5 μ hosszú 0.6—1.0 μ széles pálczika, mely gyakran kettésével is fellelhető, spórát termel és önálló mozgásra képes (peritrich elrendezett csillangók). A spórafejlődést bőséges granulaképződés előzi meg. A kifejtett spóra a bőséges granulaképződés következtében megduzzadt, orsóalakú sejtplasmájában, nem egészen polár helyeződik el. A kifejezetten anaërob bakterium gelatina szűrési tenyésze 3 typus szerint fejlődik, melyek mindegyikének gelatin lemezen más, de szintén jellegzetes telepfejlődés felel meg. A gyöngysorszerű szűrési tenyészetnek, kumulus-szerű telepek, a fonalszerű oldalágakat feltüntető szűrési tenyészetnek hasonló nyújtványokkal ellátott telepei vannak a gelatin lemezen, a diffus zavarosodást feltüntető szűrési tenyészetből pedig a gelatin lemezeken tulajdonképpen nem is fejlődnek telepek, csak fátyolszerű zavarosodás jön létre. Czukortartalmú agarban bõ gázfejlődést indít meg, miközben a vajsav tipikus szaga érezhető. Burgonyán 48 óra múlva bõ, teher, habos bevonat fejlődik erős vajsavszag kíséretében. Tejbe ojtva már korán bõ gáz és savfejlődés indul meg, miközben a casein kiválik. A casein kezdetben egy-egy tömegét a fejlődő gázak feldarabolják; a casein törmelék azonban nem oldódik fel.

2. *Clostridium foetidum lactis* Freudenreich²⁰; exquisit anaërob pálczika, mely a spóráképződés folyamán orsóalakot vesz fel. Újabbban Weigmann²¹ kimutatta, hogy a Freudenreich-féle clostridium a *Paraplectrum foetidum*-nak tisztátalan tenysze volt.

3. *Clostridium butyricum* Prazmowski²². 3—10 μ hosszú és körülbelül 1 μ vastag pálczika, mely a spóráképződés folyamán többnyire orsóalakot vesz fel; ritkábban csak egyik végén duzzad meg. A spóra fejlődése idejében a plasma finoman szemecskézett és Lugol-féle oldattal kezelve megkékül (amylobakter). A kifejtett spóra a sejtplasmában fekszik. A bakterium szigorúan anaërob viszonyok között tenyész, a szénhidrátokat nagy eréllyel bontja meg; szilárd tápanyagokon tisztán nem tenyészthető.

4. *Clostridium foetidum* Liborius³³. Körülbelül 1 μ vastag igen különböző hosszúságú pálczika. A spóráképződés idejében a pálczika orsóalakot, ritkábban husángalakot vesz fel. Szigorúan anaërob. A fehérjéken kívül a szénhidratokra sem közömbös; cukortartalmú tenyésztalajban élénk gázfejlődést indít meg, miközben a vajsav szaga kifejezetten érezhető.

5. *Clostridium Polymyxa* Prazmowski³². Rövidebb-hosszabb mozgásra képes pálczika, mely a spóráképződés folyamán orsó-, tojás- és békaporontyalakot vesz fel: anaërob viszonyok között spórát egyáltalán nem termel. Dextrint, keményítőt, celluloset elerjeszt. A plasma jóddal kékre festődik.

6. *Clostridium Pastorianum* Winogradsky³⁴. 1.5—2 μ hosszú és 1.2—1.3 μ széles pálczikákat képez, melyek a spóráképződés folyamán megduzzadnak, miközben orsóalakot vesznek fel; ebben az időben a sejtplasma szemecskézettséget mutat és jóddal kékre festődik. A sejtplasma szemecskézettsége a spóra érésével kapcsolatban mindinkább gyengül, míg végre egy homogen anyaggá változik át, mely körülfogalja az érett spórát. Igen jellegzetes a *Clostridium Pastorianum*-ra, hogy az érett spórát tartalmazó sejt hártájája nem megv tönkre, nem mutatja a szokásos ellágyulást, hanem megtartja éles körvonalait. Winogradsky szerint valószínűleg a homogen, hyalinszerű anyag duzzadása következtében az anyasejt hártájája az egyik pólusnak megfelelőleg megreped, miáltal széles nyílás jön létre. A spóra most a háromszegletes „spóratok”-ban fekszik, mely még mindig éles határvonalakkal bír és csak nyílásnak megfelelőleg mutat némi elmosódottságot. A spóra kicsírázása mindig polár a nyílás irányában történik. A *Clostridium Pastorianum* tipikus vajsavbakterium, a mennyiben dextroset, levulosest, raffinosest, inulint, galaktoset és dextrint elerjeszt, míg a fehérjékre hatástalan.

Jóllehet morphologia tekintetében bizonyos analogia állapítható meg az újonnan ismertetett és a fent leírt rokonfajok között, különösen a fiatal pálczikák alakja, azoknak clostridiumokká való alakulása, valamint a spóráképződés tekintetében, mégis az újonnan ismertetett bakterium több olyan sajátosságot mutat — eltekintve a ránézve egészen specifikus physiologiai tulajdonságoktól — melyek legfeljebb a *Clostridium Pastorianum*-nál találhatók részben fel.

A sejhártából képződő és a spórát zacskószerűen körülvevő tok, valamint az ezáltal feltételezett sajátos csírázási folyamat igen alkalmas arra, hogy *Clostridium Pastorianum*-ot és az újonnan ismertetett bakteriumot a többi rokonfajoktól megkülönböztesse és mindkettőnek határozott jelleget adjon.

Lássuk most azokat az alaki, tenyésztési és élettani különbségeket, melyek mégis indokoltá teszik, a *Clostridium Pastorianum* mellett még egy új speciesnek felállítását.

Az újonnan ismertetett bakteriumnál, a mint az a leírásból is kitűnt, az anyasejt hártájából képződött és az érett spórákat zacskószerűen körülvevő tok nem olyan állandó, mint azt *Winogradsky* a *Clostridium Pastorianum* spórátkjáról észlelte. *Winogradsky* megemlíti ugyanis, hogy a spórák éppen olyan állandó, mint maga a spóra. A spórák szívósságára pedig felhozza, hogy azok éveken keresztül változatlanul megtartják csirázó képességüket és alakjukat. Hét éves anyagban is éppen olyan változatlanok voltak a spórák és azok tokja mint a friss tenyészetben voltak.

Az új bakteriumnál a spórák korántsem mutatja azt az állandóságot, mint azt a *Clostridium Pastorianum* spórátkjáról láttuk. A bakterium alaki sajátosságainak tárgyalása folyamán láttuk, hogy egyes esetekben a spórátkból alig valami látható a spóra körül, jöllehet a spóra még nem csirázott ki; sőt vannak esetek, a midőn az egészen szabadon fekvő spórában áll be a csirázási folyamat (7-ik ábra a), továbbá, hogy az elfolyósodott gelatinában igen sok szabadon fekvő spóra található. *Winogradsky* egyetlen esetben sem észlelte szabadon fekvő spórában a csirázási folyamatot.

Az említett megfigyelések az új bakterium spórátkját illetőleg semmi esetre sem alkalmasak arra, hogy azokból a spórátk valami nagy állandóságára lehetne következtetni.

Lényegesebb különbség észlelhető a két bakterium mozgási képessége között. *Winogradsky* csak néhány esetben látta a *Clostridium Pastorianum* fiatal egyedeit mozogni és pedig akkor, a mikor anaërob, tiszta hydrogenben tartott, élénken erjedő tenyészetekből vitt gyorsan egy csepp folyadékot mikroszkop alá és azonnal vizsgálta. Kísérletei, melyek mozgásban levő egyedek tömeges feltűntetését czélozták, mindig negativ eredményre vezettek, Szintűgy egyetlen egy esetben sem sikerült a *Clostridium Pastorianum*-on csillangókat feltűntetni.

Ezzel ellentétben a leírt bakterium igen sokáig és élénken mozog; még azokban az esetekben is hosszú ideig megtartja mozgóképességét, ha a függőcsepp közönséges tehát oxygentartalmú vízből készült. A csillangó festési eljárások pedig tömeges csillangók feltűntetésére alkalmasak.

Az új bakterium plasmájában, még keményítőt tartalmazó

anyagokban való tenyésztés után, sem lehetett jóddal kékre festődő szemecskéket (granula, jogén) kimutatni, míg a *Clostridium Pastorianum*-ban tömeges granulafelhalmozódás észlelhető.

Lényeges különbség állapítható meg a két bakterium nagysága között is. Az új bakterium agarban $2.25-3.5 \mu$ hosszú és $0.7-1 \mu$ széles, gelatinában pedig $2.8-5 \mu$ hosszú és $0.75-1.5 \mu$ széles pálczikákat képez. A *Clostridium Pastorianum* jóval rövidebb és zömökebb ($0.5-2 \mu$ hosszú és $1.2-1.3 \mu$ széles).

Igen feltűnők a tenyészetbeli különbségek. A *Clostridium Pastorianum* burgonyán könnyen tenyészthető; szemölesszerűen kiemelkedő szürke-sárga telepek képződnek rajta. Czukros agaron nehezebben tenyészthető; a fejlődő telepek egyáltalában nem jellegzetesek. Gelatinában nem tenyészik úgyszintén húslevesben is alig fejlődik valami. Legjobban tenyészik 2% szőlőcukrot és felemennyiségű iszapolt krétát, valamint különféle sókat tartalmazó folyadékokban.

Ezzel szemben az új bakterium burgonyán nem tenyészik, gen bőven fejlődik agarba szúrva, vagy agar lemezen; ez utóbbin jellegzetes telepekkel. Gelatinában és húslevesben szintén jól tenyészthető.

A *Clostridium Pastorianum* exquisit anaërob bakterium; hydrogénszegény vagy hydrogenmentes czukoroldatokban csakis megfelelő aërob-bakteriumok társaságában tenyészthető. Az új bakterium facultative anaërob.

Legjellegzetesebbek és legérdekesebbek azonban az új bakterium élettani tulajdonságai. A leírásból láttuk, hogy a bakterium mélyrehatoló fehérjeszétésést idéz elő, e mellett azonban a tejezukorra sem közömbös. Ezzel szemben a *Clostridium Pastorianum* a dextroset, levulosest, raffinosest, inulint, galaktosest és dextrint elerjeszti, míg a fehérjékre teljesen közömbös. Ezek olyan lényeges különbségek, melyek az előbb említett alaki és tenyészetbeli különbségekkel együtt egy új species felállítását teszik indokolttá, a *Clostridium Pastorianum Winogradsky* mellett.

Azt hiszem, hogy találó nevet adok az új bakteriumnak, ha azt, tekintetbe véve igen jellemző élettani tulajdonságait, *Clostridium proteo-saccharolacticum* névvel jelölöm meg.

A vajsavbakteriumok új csoportosítása.

Az a körülmény, hogy a *Clostridium proteo-saccharolacticum*, vajsavbakteriumokkal, különösen a *Clostridium Pastorianum*mal alakilag több tekintetben hasonló, arra enged következtetni, hogy fehérjeszétesést előidéző bakterium, vajsavbakteriumokkal, morphologia tekintetében, igen közel rokonságban állhat. De nemcsak alaki, hanem vegyi-biológiai tulajdonságukat illetőleg is igen közeli a rokonság ezen bakteriumok között, a mit a fokozatos átmenet az egyik csoportból a másikba is bizonyít.

Ez utóbbinak illusztrálására igen alkalmas a *Clostridium Pastorianum*, továbbá néhány újabban kimerítően tanulmányozott, fehérjeszétesést előidéző bakterium, és ezekkel kapcsolatban a *Clostridium proteo-saccharolacticum* vegyi-biológiai sajátága.

A *Clostridium Pastorianum*, mint azt már említettem, elerjeszti a dextroset, levulosest, raffinosest, inulint, galaktosest és dextrint; igen érdekes azonban, hogy több más erjedésre alkalmas cukorféleséget és magasabb alkoholt, melyeket a valódi vajsavbakterium még erőlyesen elerjeszt, érintetlenül hagy. Ebből láthatjuk, hogy a *Clostridium Pastorianum* jölehe vajsavbakterium, mert a szénhidrátok közül sokat elerjeszt, miközben vajsavat termel és a fehérjékre közömbös, mégis már bizonyos hanyatlást mutat cukorbontó hatásában, miből kifolyólag már kevésbé polyphag vajsavbakteriumnak kell tekinteni.

Nagyon érdekesek e tekintetben *Kalischer*²⁹ vizsgálatai, ki egy a *Löffler*³⁵, *Hueppe*⁸ és *Flügge*³⁶ által leírt peptonisáló tejbakteriumhoz alakilag igen hasonló aërob tejbakterium biológiai sajátságait tanulmányozta behatóan. *Kalischer* ugyanis megállapította, hogy a bakterium a lactosest, raffinosest és dextroset elerjeszti és emellett már a fehérjéket is erőlyesen megbontja. A lactose mennyisége 4·73⁰/₀-ról fokozatosan 2·6⁰/₀-ra szállott alá, a nádcukorból pedig az eredeti mennyiség ¹/₂-ét, a szőlőcukornak pedig ³/₄ részét erjesztette el.

Jóval nagyobb hanyatlást látunk a cukorbontó hatás tekintetében a *Fränkel*¹⁴ által gázakat tartalmazó tályogokból, később hullákból is kitenyésztett *Bacillus perfringens*-nél, valamint a *Tissier* és *Martelly*³⁷ által rothadó húsból kitenyésztett *Bacillus*

bifermantans sporogenes-nél. Az előbbi már csak glycoset és laktoset, az utóbbi pedig csak glycoset képes elerjesztetni. Igen nevezetes jelenség azonban, hogy ezen bakteriumoknál a cukorbontó hatás hanyatlása mellett a fehérjékre való erőyes megbontás kezd érvényesülni. Ezen bakteriumok után említhető a *Clostridium proteo saccharolacticum*, mely már csak kis mértékben bontja meg a tejcukrot és főleg fehérjeszétesést idéz elő.

Az elmondottakból következik, hogy bizonyos esetekben csakis a pontos vegyi vizsgálatok és a vajsavas erjedés fogalmának pontos szemelőtt tartásával leszünk csak képesek egyik-másik bakteriumnak helyét kijelölni. Kétségtelenül nagy tévedésekre és zavarra vezetne, ha olyan bakteriumokat, melyek fehérjeszétesést idéznek elő és emellett kis mértékben bizonyos szénhidrátokat vagy magasabb alkoholokkal szemben sem közömbösek, vajsavbakteriumoknak tekintenénk. Pontos vegyi vizsgálatok mindenesetre még sok más eddig csak mint rothadást előidéző bakteriumot ismert mikroorganizmusról fogja kideríteni, hogy egyik-másik szénhidrátot kis mértékben megbontani képes.

A vajsavas erjedés fogalmából és lényegéből következik, hogy az olyan bakteriumok, melyek főleg a fehérjék megbontása közben termelik a vajsavat és ezzel szemben elenyészően csekély a szénhidrátokból képződő vajsav mennyisége, hogy azok a vajsavbakteriumok csoportjából kizárassanak.

Ebből kifolyólag nem is tartható meg a *Grassberger és Schattenfroh* által adott csoportosítása a vajsavbakteriumoknak, mert abban a valódi vajsavbakteriumon (mozgó vajsavbacillus) és a főleg erjedést létesítő szerzőző üszők bacillusán kívül olyan bakteriumok is vannak, melyek főleg fehérjeszétesést idéznek elő és olyan nincsen felvéve, mely exquisit szénhidrátbontó (*Clostridium Pastorianum Winogradsky*).

Semmiesetre sem helyes a főleg rothadást előidéző *Fränkel-féle phlegmone bacillust* azért, mert a glycosera és lactosera nem egészen közömbös vagy a *rosszindulatú vizenyőt előidéző bacillust* azért, mert erős fehérjebontó hatásán kívül még a dextroset, saccharoset és laktoset kis mértékben megbontja és e közben főleg tejsavat termel, vajsavbakteriumoknak tekinteni. Téves továbbá a *Bacillus putrificus*, mely leírója *Bienstock*³⁸

szerint a szénhydrátokkal szemben közömbös és notorius rothadásos bakterium, a vajsavbakteriumok csoportjába felvenni. Éppen ilyen joggal helyet foglalhatna a vajsavbakteriumok csoportjában a *Kalischer* által ismertett fehérjebontó bakterium, a *Tissier* és *Martelly* által rothadó húsból kitenyésztett *Bacillus bifermentans sporogenes*, valamint a *Clostridium proteo saccharolacticum* és mindazon rothadást előidéző bakteriumok, melyek vegyi-biológiai tulajdonságai eddig még nem ismeretesek kellőleg, de a melyekről majd kiderül, hogy egyik-másik ezukorra nem egészen közömbösek.

Ha a szerzegő üszök bacillusának vegyi-biológiai tulajdonságait szigorú bírálat tárgyává tesszük, látni fogjuk, hogy az sem nevezhető tipusos vajsavbakteriumnak. Ismeretes ugyanis, hogy a szerzegő üszök bacillusa a dextroset, saccharoet, lactoet és keményítőt elerjeszteni képes (legkisebb mértékben a lactoet), miközben tejsavat és vajsavat képez. Az is ismeretes, hogy a szerzegő üszök bacillusa a fehérjékre sem egészen közömbös és ennek megfelelőleg fehérjetartalmú anyagokban tenyésztve, mindig kimutatható azokban a kénhydrogén, sőt hogy gyakran igen erélyes fehérjebontó hatással bír. Steril húsdarabokon tenyésztve igen gyakran sajátyszerű kozmás szag érezhető, mely az izomfehérje erős megbontásának következménye és az izomzatban olyan elváltozások állapíthatók meg, melyeket csak a tipikus anaërob, rothadásos bakteriumok idéznek elő. Tény az, hogy a szerzegő üszök bacillusának fehérjebontó hatása bizonyos esetekben olyan fokot érhet el, hogy valóságos rothadásról kell szólnunk (*Schattenfroh*³⁹).

Az a körülmény, hogy az ilyen erős rothadást feltüntető tenyészetből származó következő generációk már ismét a ezukrokra hatnak erélyesebben, amellet bizonyít, hogy a szerzegő üszök bacillusa bizonyos külső körülmények által befolyásolva, egyszer főleg mint rothadást létesítő, máskor meg mint erjedési bakterium fog jelentkezni. Ebből mindenesetre az is következik, hogy a szerzegő üszök bacillusa hajlammal bír a fehérjék megbontására is.

Kérdés ezek után, hogy a szerzegő üszök bacillusa hová soroztassék? Az eldöntetlen kérdések közé tartozik az, hogy egyedül a kénhydrogén jelenlétéből szabad-e már rothadásra a

szó szoros értelmében következtetni. *Schattenfroh* és *Grassberger* inkább azon nézet felé hajlanak, hogy a fehérjemolekula könnyen hasadó, ként tartalmazó részének bomlása a tulajdonképpeni rothadástól különválasztandó. Ilyen felfogás mellett, tekintve azt, hogy a serczegő üszök bacillusa a dextroset, saccharoset, lactoset és keményítőt rendszerint nagyobb mértékben megbontja és eközben főleg vajsavat, tejsavat és más illó savakat produkál, azt vajsavbakteriumnak lehet tekinteni.

Szükségesnek tartom azonban kiemelni azt, hogy a serczegő üszök bacillusa nem typusos vajsavbakterium; ha a kénhydrogén megjelenése fehérjetartalmú tápanyagokban nem is bizonyít mélyebbre hatoló fehérjebomlás mellett, abból mégis a fehérjemolekulák részleges szétesésére kell következtetnünk.

Ezek szerint a vajsavbakteriumok a következők:

Granulobacillus saccharobutyricus mobilis non liquefacicus *Grassberger* és *Schattenfroh* (mozgásra képes vajsavbakterium).

Clostridium Pastorianum *Winogradsky*.

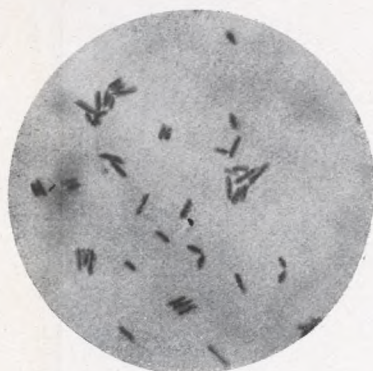
Bacillus gangraenae emphysematosae (serczegő üszök bacillusa).

Munkámat a kiel (Németország) tejkisérleti állomás bakteriologiai és chemiai laboratoriumában készítettem. Kedves kötelességet teljesítek, a midőn az intézet vezetőjének *Weigmann H. dr.* professor úrnak őszinte köszönetemet fejezem ki azért a sok jóakaró támogatásért és tanácsért, melylyel az ottan való dolgozásomat és munkám megírását lehetővé tette.

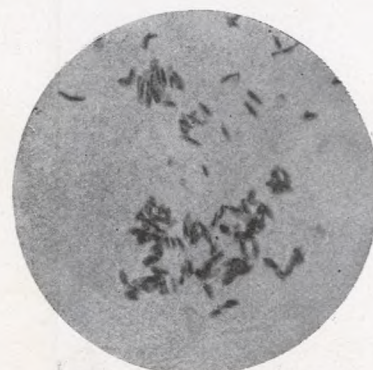
Irodalom.

1. *Pasteur*, Comptes rend. de l'Acad. LII. k., 344-ik és 1260. oldal.
2. *Pasteur*, Etudes sur la bière. 288. oldal.
3. *Pasteur*, Comptes rendus LII. k., 1861.
4. *Trécul*, Comptes rendus. LXI-ik és LXV-ik k., 1867. Annales des sciences natur. V. és VII. sorozat, 1867.
5. *Van Tieghem*, Bulletins de la Société botan. de France, XXIV. k., 1877.
6. *Reinke* és *Berthold*, Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Berlin 1879.
7. *Van Tieghem*, Comptes rendus. LXXXIX. k., 1879.
8. *Hueppe*, Mitteil. des kais. Gesundheitsamtes. II. k., 353. oldal.
9. *Grüher M.*, Centralbl. f. Bakteriologie. I. k., 367. oldal.
10. *Hibler*, Centralbl. f. Bakteriologie. I. rész XXV. k., 1889. 513. oldal.
11. *Grassberger* és *Schattenfroh*, Archiv f. Hygiene. XXXVII. k., 1900. 54. oldal. Ugyanott XXXXII. k., 1902. 219. oldal. Ugyanott XXXVIII. k., 1904. 100. oldal.
12. *Grassberger*, Archiv f. Hygiene. XXXVIII. k., 1. oldal.

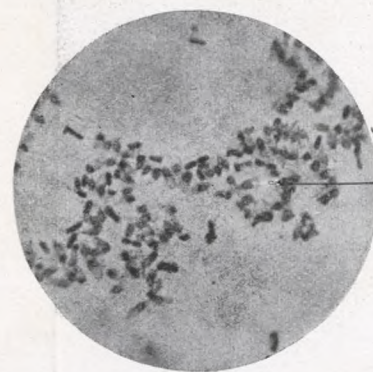
13. *Beijerinck*, Ueber die Butylalkoholgärung und das Butylferment. Amsterdam 1893.
14. *Fränkel*, Hygienische Rundschau. IV. k., 1894. 769. oldal.
15. *Klein*, Centralbl. f. Bakteriologie. I. rész XXIII. k., 1898. 542. oldal.
16. *Welch*, Centralbl. f. Bakteriologie. I. rész XXIX. k., 1901. 442. oldal.
17. *Klecki*, Centralbl. f. Bakteriologie. II. rész II. k., 1896. 169. oldal.
18. *Tissier és Gasching*, Ann. Pasteur. XVII. k., 1903. 546. oldal.
19. *Bienstock*, Zeitschr. f. klin. Medizin. VIII. k., 1883. 1. oldal.
20. *Meyer*, Flora LXVI. k., 15. füzet. 1889.
21. *Grassberger és Schattenfroh*, Archiv. f. Hygiene. XXXXVIII. k., 10. oldal.
22. *Petri és Maassen*, Arbeit. aus d. kais. Gesundheitsamt. VIII. k., 318. és 319. oldal.
23. *Rubner*, Archiv. f. Hygiene. XVI. k., 62. oldal.
24. *Warington*, Lehmann és Neumann Bakt. Diagnostik. 1899. 66. oldal.
25. *Utz*, Centralbl. f. Bakteriologie. XI. k., 600. oldal.
26. *Simnitzky*, Zeitschrift. f. phys. Chemie. 1903. 121. oldal.
27. *Salkowski*, Zeitschrift f. phys. Chemie. 1885. 8. és 23. oldal.
28. *Stritter*, Milchwirt. Centralblatt. 1905. 7. füzet.
29. *Kalischer*, Archiv f. Hygiene. XXXVII. k., 1900. 46. oldal.
30. *Freudenreich*, Centralbl. f. Bakteriologie. II. rész. I. k., 854. oldal.
31. *Weigmann*, Centralbl. f. Bakteriologie. II. rész. IV. k., 820. oldal.
32. *Prazmowski*, Untersuchung und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Lipce 1880.
33. *Liborius*, Zeitschrift f. Hygiene. I. k., 1886. 115. oldal.
34. *Winogradsky*, Centralbl. f. Bakteriologie. IX. k., 1902. 43. és 107. oldal.
35. *Löffler*, Berliner klin. Wochenschrift. 1887. 607. és 629. oldal.
36. *Flügge*, Mitteil. aus d. kais. Gesundheitsamt. II. k., 1884. 309. oldal.
37. *Tissier és Martelly*, Ann. Pasteur. XVI. k., 1902. 865. oldal.
38. *Bienstock*, Archiv f. Hygiene. XXXIX. k., 1901. 406. oldal.
39. *Schattenfroh*, Archiv f. Hygiene. XXXXVIII. k., 1904. 89. oldal.



2. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



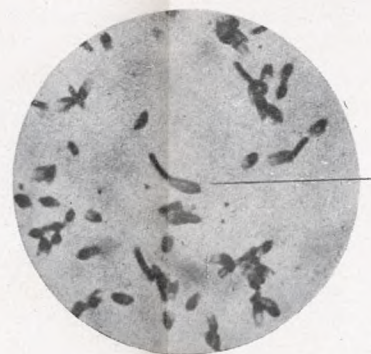
3. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



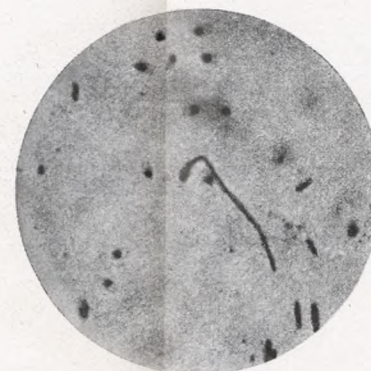
4. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



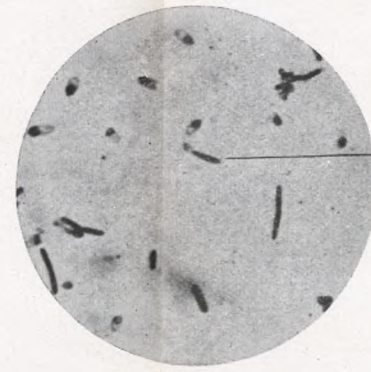
1. ábra.
Clostridium
proteo-saccharo-
lacticum agar-
szűrési tenyésztete.
Term. nagys.



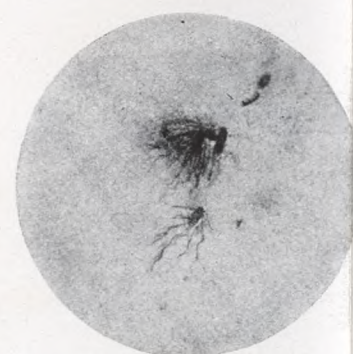
5. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



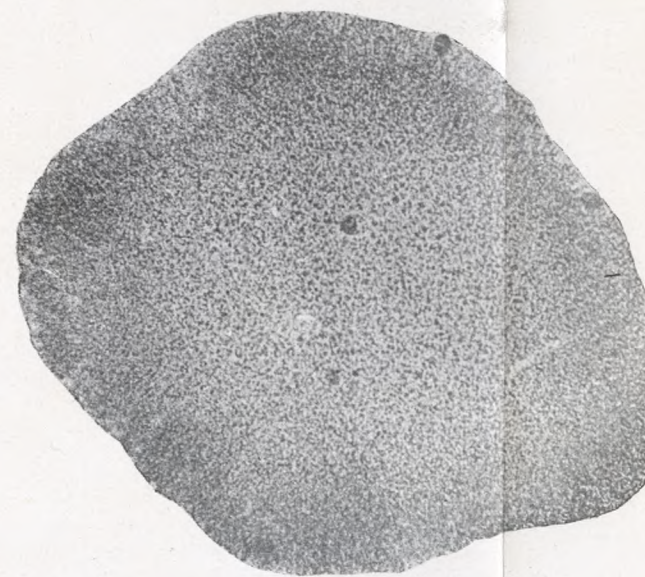
6. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



7. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



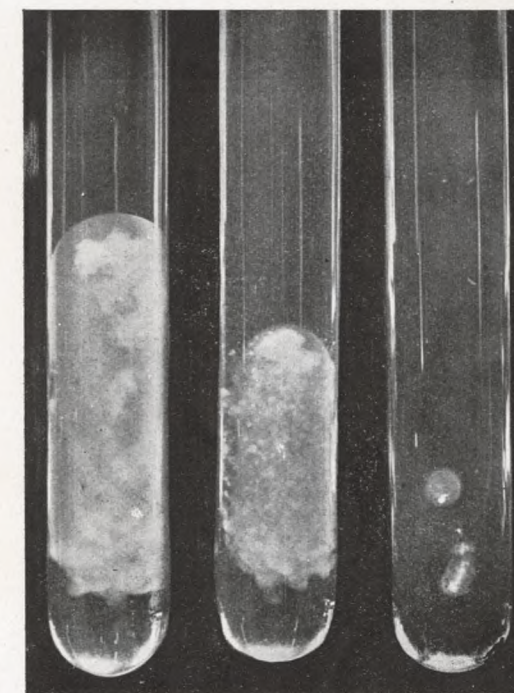
8. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacti-
cum. 1:1150.



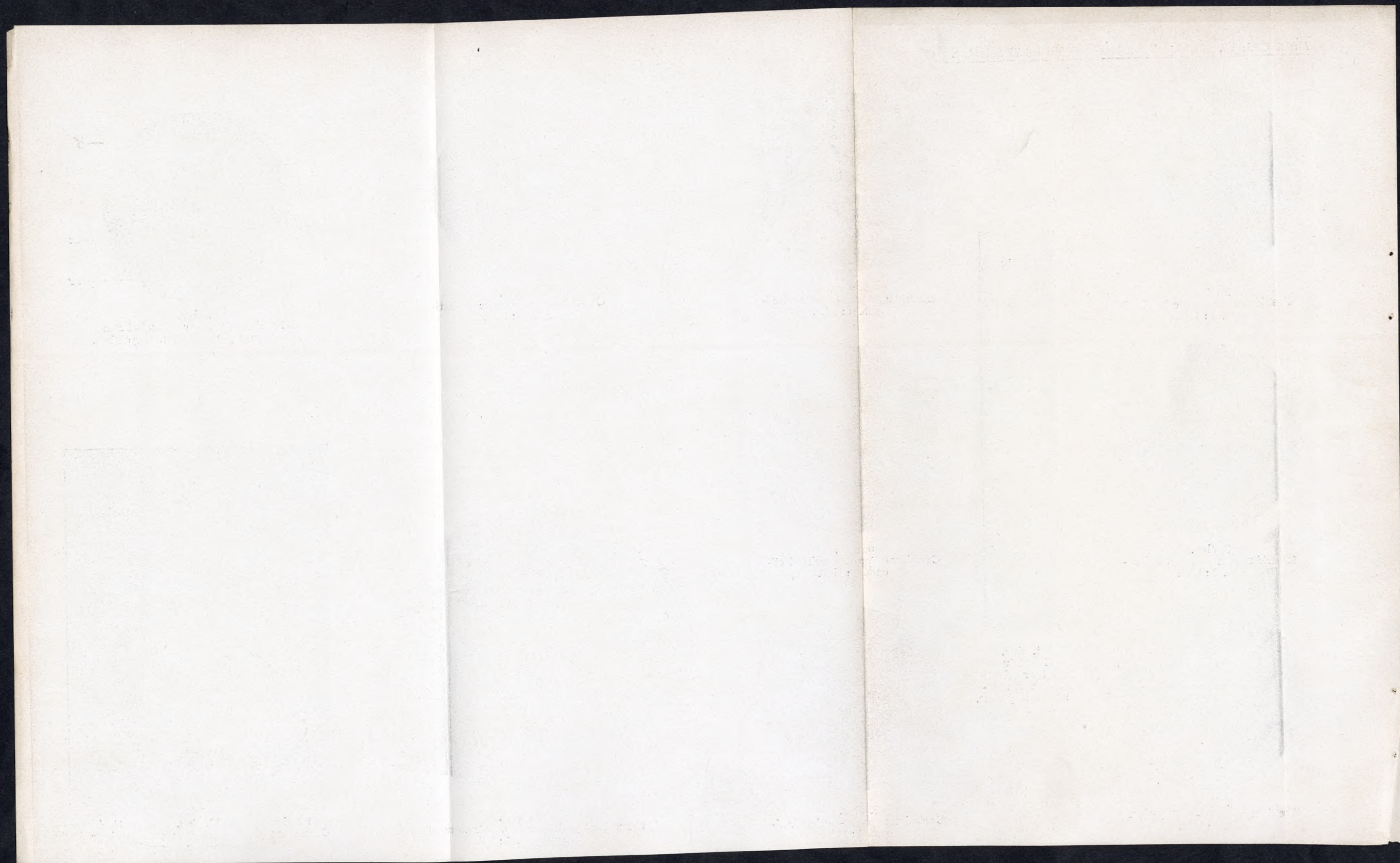
10. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacticum agarlemez-
tenyésztete. 1:100.

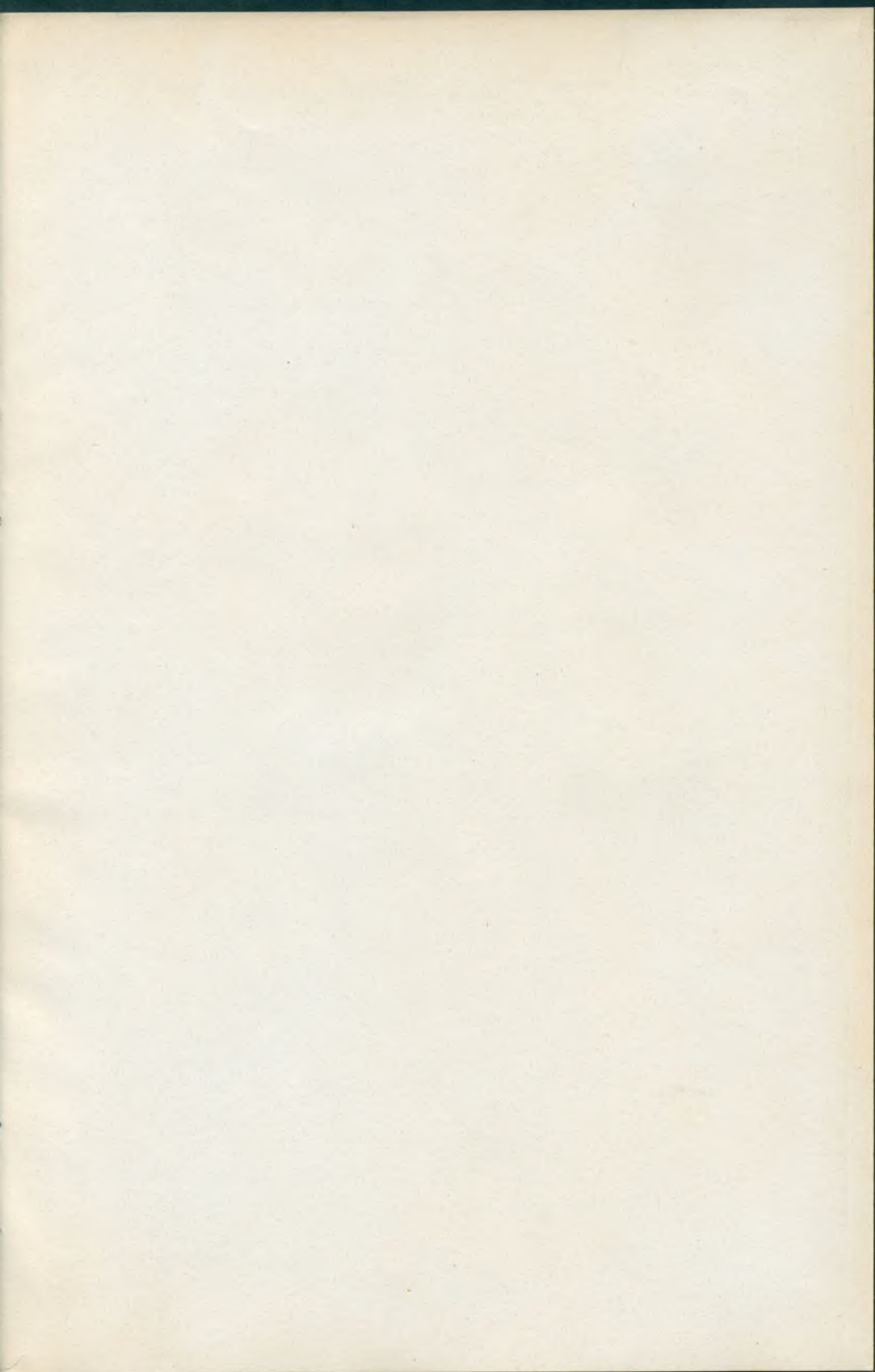


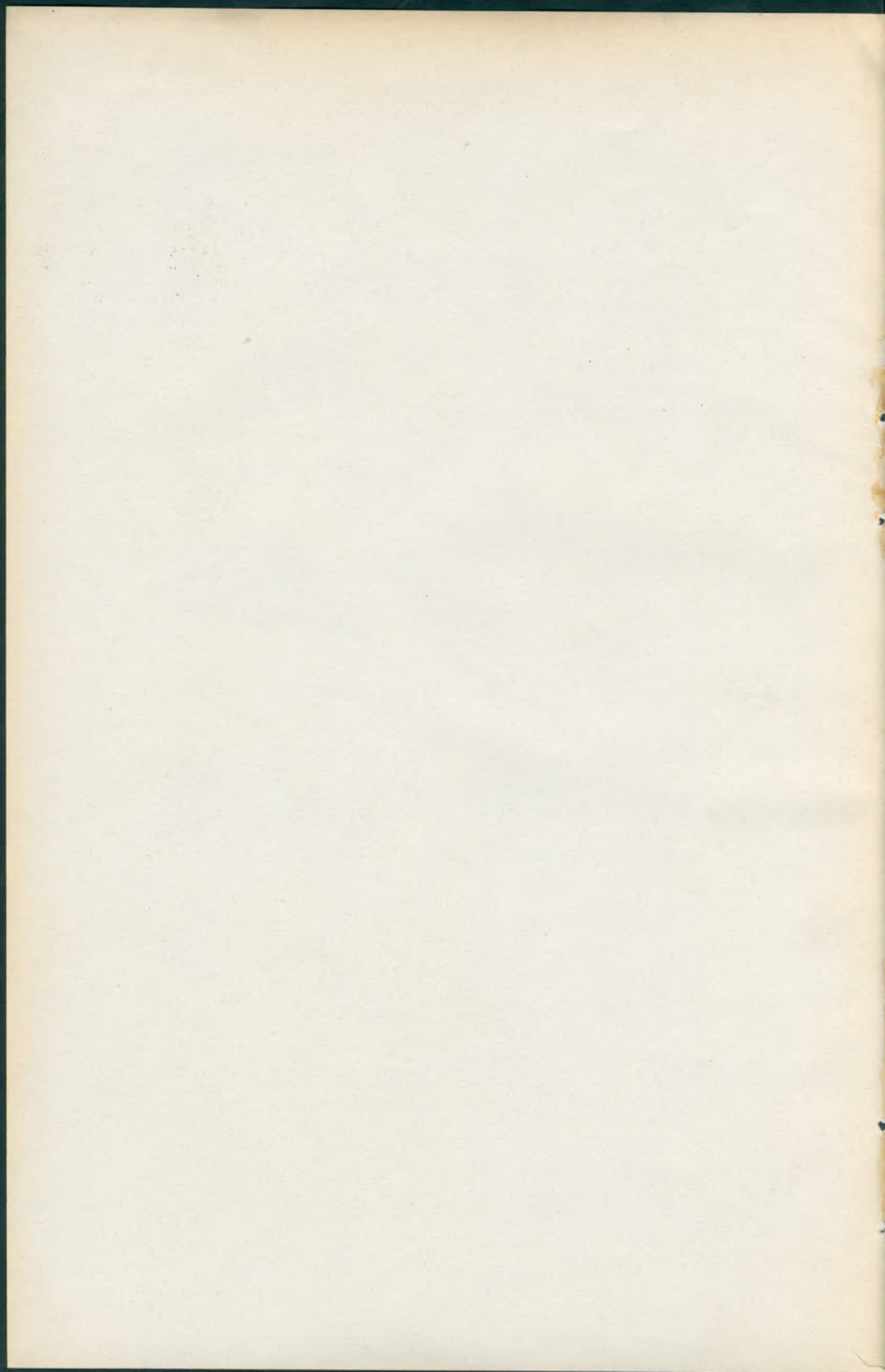
9. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacticum
agarlemez-tenyésztetei term. nagyságban.

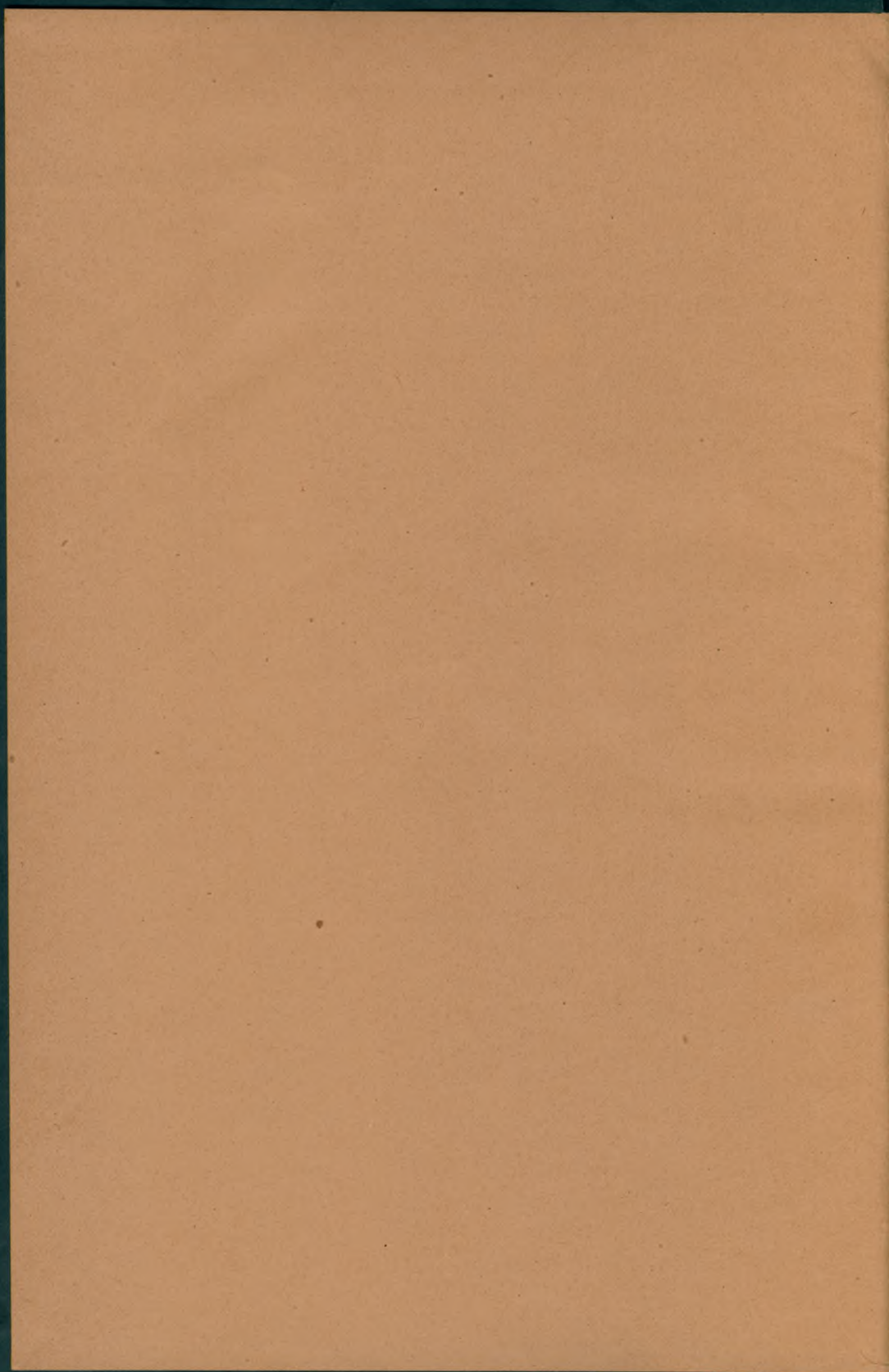


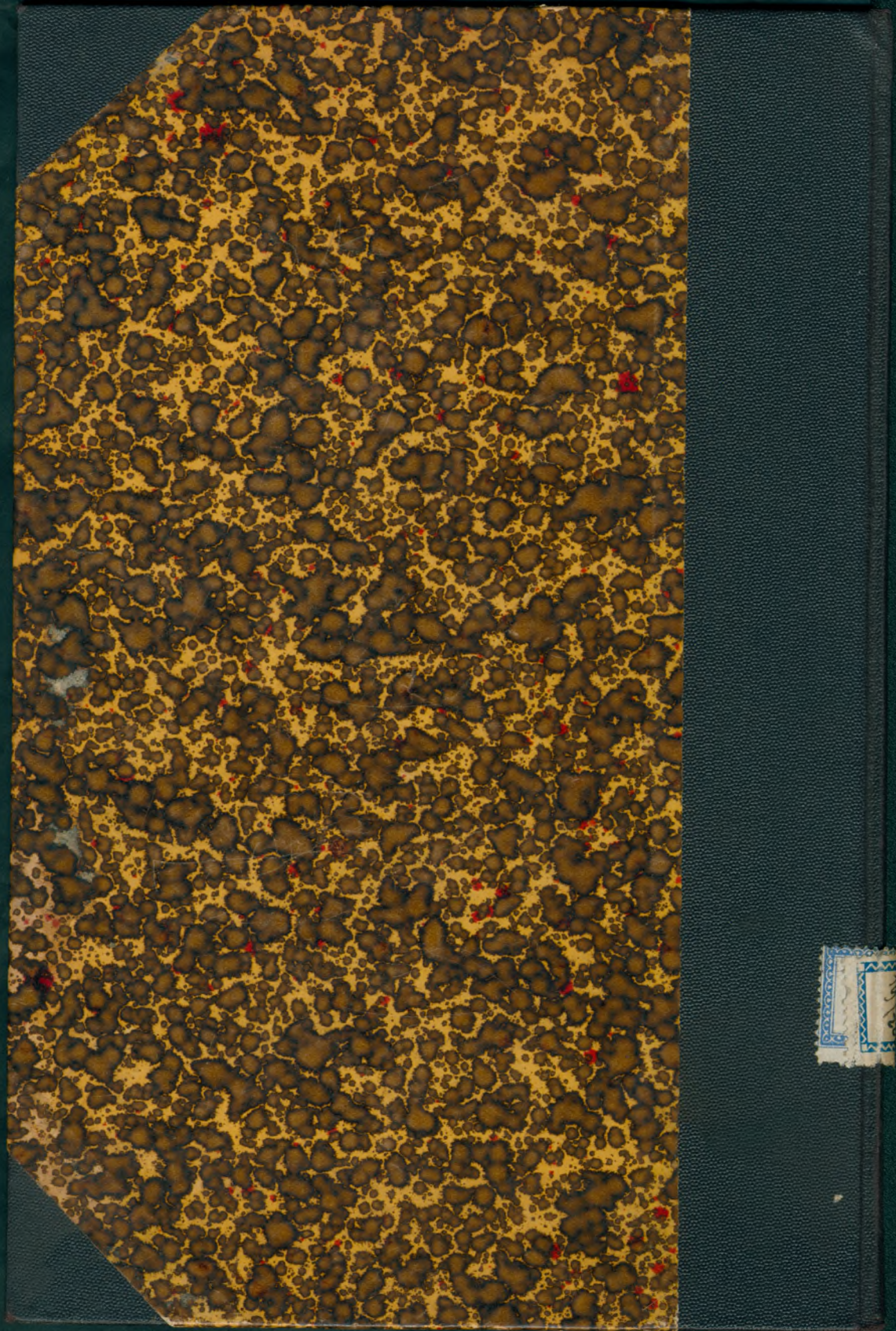
13. ábra. 12. ábra. 11. ábra.
Clostridium proteo-saccharolacticum gelatina-szűrési
tenyésztete term. nagyságban.











16/22