# ÜLDINE MIKROBIOLOOGIA
JA
# IMMUUNSUSÕPETUS

PROF. KARL SCHLOSSMANN
TARTU ÜLIKOOLI BAKTERIOLOOGIAINSTITUUDI JUHATAJA

# ÜLDINE MIKROBIOLOOGIA JA IMMUUNSUSÕPETUS

IA
38468

KIRJASTUS OSAÜHING „LOODUS“
TARTU TALLINN

EESTI TEADUSTE AKADEEMIA JUURES OLEVA ÜLIKOOLIDE ÕPPERAAMATUTE KOMISJONI VÄLJAANNE NR. 2.

Kirjastatud Haridusministeeriumi toetusel.

2
Tartu Riikliku Ülikooli
Raamatukogu
89 337

Operatiivse Kirurgia Instituut Tartu Ülikool
53
176

K./Ü. „Looduse“ keeleline korrektor H. Pürkop.

K. Mattieseni trükikoda o.-ü., Tartu, 1940.

# Eessõna.

Mikrobioloogia rikastub iga aastaga rohkete uute väärtuslikkude andmetega, mis on laiali pillatud mitmesuguseis teaduslikes ajakirjus. Puht-teaduslikku otstarvet taotlevad uurimised, kus rakendatakse vahetpidamatult uusi täpseid menetlusi, selgitavad üha rohkem mikroorganismide ehitust, nende autonoomset elutegevust ning suhet teistesse organismidesse. Sääraste uurimiste tulemused ei jää meie päevil seisma ainult arhiivimaterjalina, vaid neid rakendatakse üha suuremal määral paljude eesmärkide saavutamiseks ja inimkonna eluhüvede teenistusse.

Teaduslikust mikrobioloogiast on hargnenud mitmesugused praktiliselt tähtsad eri-rakendusalad, millede tõhus õppimine eeldab teoreetiliste ja praktiliste teadmiste küllaldast valdamist üldise mikrobioloogia alal. Viimases leiavad käsitlemist peamiselt looduses esinevatele mikroobidele üldisemad omadused ja nende uurimismeetodid. Mikrobioloogilise tehnika omandamine võib toimuda süstemaatiliste harjutuste abil vilunud eriteadlaste juhtimisel, kuna üksikute meetodite kirjeldus saaks olla vaid üldjuhendiks praktilistel harjutustel.

Käesolev õpperaamat on püütud koostada sääraselt, et ta suudaks kokkusurutult pakkuda tarvilikke andmeid neile, kes asuvad mikrobioloogia süstemaatilisele õppimisele. Teisest küljest on raamatu koostamisel püütud ainet käsitella vajaliku lihtsusega, et seda kergesti loetavaks ja arusaadavaks teha neile, kes üldhariduse otstarbeks soovivad rikastada oma teadmisi loodusteaduste distsipliinide hulka kuuluva mikrobioloogia alal.

Teose koostamisel on isiklikkude kogemuste kõrval aluseks võetud uuemaid mikrobioloogia käsiraamatuid ja viimastel aastatel ilmunud jooksvat erikirjandust. Osaliselt on ka kasutatud sama iseloomuga õpperaamatu esimeses väljaandes kogutud materjale. Uurimismeetodeist on kirjeldatud peamiselt neid, mis on isiklikul proovimisel osutunud otstarbekohasemaiks, loobudes nende paljude modifikatsioonide esiletoomisest.

Raamatu sisukorra jaotusel on silmas peetud meie ülikoolis kahekümne aasta kestel kuhjunud kogemusi ja aine käsitlusel meie oludes kujunenud nõudeid ning otstarvet. Bakterite osas on kasutatud Ameerika

Bakterioloogide Komitee poolt soovitatud nomenklatuuri, mida tarvitatakse rahvusvaheliselt tuntud bakterite määramise 1939. a. ilmunud käsiraamatus Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Olgu mainitud, et see nomenklatuur ei ole veel ametlikult kinnitatud vastava rahvusvahelise kongressi poolt, kuid selle rakendamine on hädavajalik vastastikuseks arusaamiseks.

Autor on teadlik, et käesolevas töös võib leiduda puudusi, sest ettenähtud ruum ei võimaldanud laskuda pikematesse seletustesse, mis oleksid kergendanud lugejal teksti mõistmist. Autor on püüdnud käesoleva teose koostamisel pakkuda võimaluste kohaselt kõige tarvilikumat ja loodab, et esitatud materjal suudab rahuldada üldise mikrobioloogia õppimist arstiteaduse, loomaarstiteaduse, rohuteaduse, loodusteaduse ja põllumajanduse üliõpilastel ning olla neile ka lühikeseks teadmiste värskendamise käsiraamatuks pärastises praktilises tegevuses oma erialal. Raamatus esitatud materjal tohiks huvi pakkuda ka igale haritud inimesele, kes soovib tutvuda teda ümbritsevas looduses toimuvate paljude nähtustega.

Tänu Haridusministeeriumi toetusele ja Eesti Teaduste Akadeemia juures oleva Ülikooli Õpperaamatute Komisjoni otstarbekohasele korraldusele on raamat oma hinnalt kättesaadavaks tehtud laiematele ringkondadele.

Tööd lõpetades avaldan siinkohal tänu korrektorile härra H. Pürkop'ile ning K./Ü. „Loodusele", kelle kaasabil raamatu ilmumine käesoleval kujul võimalikuks sai.

Tartu, 1940.

Autor.

I osa.

# Mikroorganismide morfoloogia ja bioloogilised omadused.

## I peatükk.

### Mikrobioloogia arenemiskäik.

Iseseisva teadusharuna teotseb mikrobioloogia ehk pisikuteteadus looma- ja taimeriiki kuuluvate, enamasti ainult tugevasti suurendava mikroskoobi abil nähtavate, osalt aga nähtamatute, peamiselt ainuraksete, autonoomsete oleste, nende eluomaduste ja toimete igakülgse kirjeldamisega.

Juba eelmikrobioloogilisel ajastul oli inimkond tuttav paljude nähtustega, millede põhjustajaiks on varustamata silmale nähtamatud elusolesed. Piiblist ja teistest vanadest kirjadest loeme viina ja mitmekesiste nimetuste all tuntud jookide valmistamise kohta taimemahlade ja suhkrut sisaldavate vedelikkude käärimise teel. Samuti olid tuntud kaugeil hallidel aegadel haputaigna valmistamine, piima hapendamine ja hapude jookide valmistamine, kus silmale nähtamatud olesed põhjustasid suhkru käärimist ja orgaaniliste hapete tekkimist. Teisest küljest tunti juba varakult mikroorganismide ohtlikku toimet, mida katsuti mitmeti vältida. Näiteks Moosese raamatus soovitatakse käte pesemist, laipade põletamist ja pidalitõbiste eraldamist kui tarvilikku kommet haiguste tõrjeks.

Aafrikas elutsevad bušmannid kastsid nooleotsi looma või inimese roiskuvasse laipa ja mulda, et kiirendada vaenlase või

metslooma surma noolest saadud haavadesse. Me teame nüüd, et mainitud ained on rikkad väga ohtlikest mikroorganismest, mis noole küljest pääsevad haava ja põhjustavad kiiresti surmavat haigust.

Meie esivanemad tundsid katkusid, kuid nad ei tundnud viimaste tekitajaid ja arvasid, et Jumal nuhtleb katkuga patuseid inimesi. Rooma teadusmees Marcus Terentius Varro kirjutas, et soistes kohtades asuvad nähtamatud väikesed loomakesed, kes õhus liiguvad ja katku esile kutsuvad. Hippokrates arvas, et õhus asub haiguse-sekreet *(miasma)*, mis katku levitab. Galenos tõendas, et matmata jäetud laibad õhku mürgistavad ja katku põhjustavad.



1. joon. Antony van Leeuwenhoek (1632—1723).

Fracastorius Veronast kirjutas oma teoses „De Contagione et contagiosis morbis" (1546) silmale nähtamatuist, paljunemisvõimelisist väikesist seemneist *(contagium vivum)* kui võimalikest nakkushaiguste ja katkude tekitajaist, mida võib lugeda suureks ennustuseks, sest mikroskoop mikroorganismide vaatlemiseks ehitati alles 100 a. hiljem.

Esimest korda nägi ja kirjeldas 1659. a. üksikuid pisikuid õpetlane Athanasius Kircher (1601—1680). Luubi abil, mis kuni 32 korda suurendas, nägi ta väikesi „ussikesi" roiskuvas lihas, piimas, juustus ja veres.

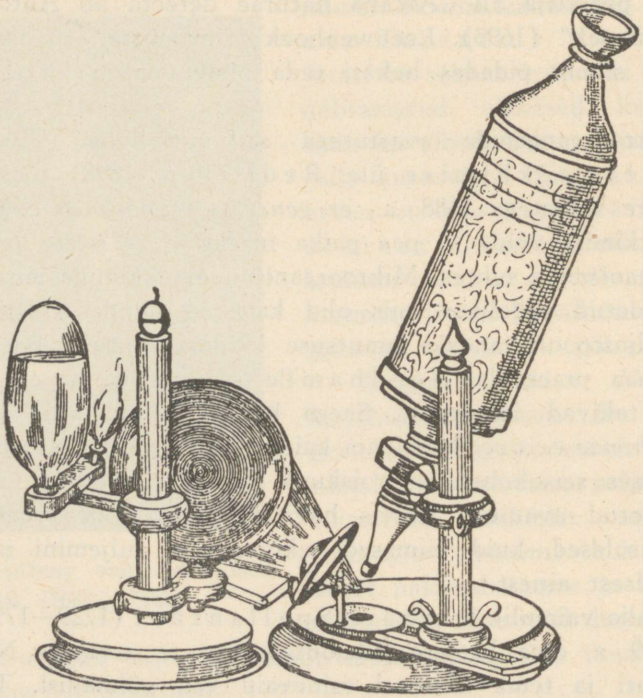
Mikroorganismide teadusliku uurimisega tegi algust hollandlane Antony van Leeuwenhoek (1632—1723) (1. joon.). Ametilt pesukaupmees, õppis ta klaasi lihvimist ja valmistas luubid, mis 40—160 korda suurendasid. Roiskuvat ja käärivat leotist *(infusum)* endaehitatud mikroskoobi abil uurides leidis

Leeuwenhoek, et need sisaldasid väikesi „ussikesi", mida ta infusooridеks nimetas. Sellised olesed leidusid ka roiskuvas lihas, piimas, juustus, vihmavees, mädas ja roojas. Tema kirjas 1683. a. leiame suus esinevate pisikute kirjelduse ühes kujutistega, mis meenutavad praegusel ajal hästituntud suumikroorganisme. Leeuwenhoek'i uurimused mikrobioloogia alalt ilmusid raamatuna pealkirja all „Arcana naturae detecta ab Antonio van Leeuwenhoek" (1695). Leeuwenhoek'i uurimuste originaalsust ja tähtsust silmas pidades hakati teda nimetama mikrograafia isaks.

Mikroorganismide avastusega sai uut hoogu kauakestnud vaidlus elu tekkimise üle. Redi (1626—1698) tõestas oma klassiliste katsetega 1688. a., et *generatio spontanea* ehk iseenesest tekkimise väide ei pea paika insektide ja teiste paljurakuliste organismide suhtes. Mikroorganismide tekkimine mitmesugustes keedetud vedelikes, mis olid kaitstud nende sissepääsemise eest väljastpoolt, andsid prantsuse loodusteadlasele Buffon'ile ja Iirimaa preestrile Needham'ile põhjust väita, et väikesed olesed tekivad iseenesest. Seega hüljati tunnustatud põhimõte *omne animae ex ovo*. Needham kaitses tema poolt 1745. a. avaldatud teoses seisukohta, et roiskuva vedeliku keetmine õhukindlalt suletud avausega kolvis hävitab selles kõik preeksisteerivad elusolesed, kuid viimased tekivad seal hiljemini iseenesest orgaanilisest ainest.

Itaalia vaimulik Lazzaro Spallanzani (1729—1799) avaldas 1769. a. oma katsete tulemused, kus ta arvustas Needhami seisukohti ja tema katsetel esinevaid vea võimalusi. Ta tõendas ühtlasi, et roiskuvas vedelikus, mida kuumutatakse pikema aja vältel tule peal õhukindlalt kinnijoodetud kolvis, ei teki elusoleseid, järeldades sellest, et väikesed loomakesed tekivad elusatest idudest (munakestest), mis on võrdlemisi resistentsed kuumusele ja hävivad vaid pikemat aega kestva keetmise tagajärjel. Needham väitis aga, et kinnijoodetud kolvis muutub õhu elastsus kestva keetmise toimel ja ühtlasi sellega hävib „vegetatiivne jõud", mis esineb õhus ja roiskuvas vedelikus. Spallanzani kordas oma katseid ja näitas, et väikesed loomakesed ei

teki ka siis keedetud vedelikes, kui kolb joota õhukindlalt kinni kohe pärast kestvat keetmist. Spallanzani arvamus, et väikesed olesed tekivad aines leiduvaist eluvõimelisist idudest (*omne vivum ex ovo*), leidis tol ajal enamiku teadlaste poolt tunnustamist, kuid lõppotsus *generatio spontanea* küsimuses jäi esialgu osalt siiski lahtiseks.



2. joon. Algeline mikroskoop.

Mikroorganismide uurimist jätkasid *en passant* mitmed loodusteadlased primitiivse mikroskoobi (2. joon.) ja puuduliku tehnika abil, kuid sellele vaatamata osutusid saadud tulemused mitmeti küllaltki väärtuslikeks.

Linné (1707—1778) ei saanud mikroorganisme süstematiseerida, sest tema ei tarvitanud oma uurimistel mikroskoopi; ta

nimetas kõiki nähtamatuid oleseid üldnimega „*chaos infusorium*", pidades neid elusolesteks.

Esimesena katsus mikroorganisme süstematiseerida taani teadusmees Otto Müller (1786). Tema kirjeldas ainult kahte liiki: *monas* ja *vibrio*.

Põhjalikumaid andmeid mikroorganismide süstemaatika üle leiame Ehrenberg'i (1838) kirjadest, kus esinevad esmakordselt nimetused: *spirillum, spirochaeta* ja *bacterium*. Ehrenberg kirjeldas ligemalt üksikuid liike ja leidis, et punased tähnid, mis ilmuvad tärklist sisaldavatel toiduainetel, ei ole veretähnid, nagu ebausklikud arvasid, vaid kattena kasvav bakter (*Serratia marcescens*).

Tol ajal pooldati arvamust, et hapniku puudumine keedetud vedelikus on peateguriks, mis takistab mikroorganismide resp. käärimise tekkimist. Schultze (1836) katsed näitasid aga sääraste väite ekslikkust. Kui õhku juhiti keedetud vedelikesse läbi kontsentreeritud väävelhappe või kaaliumhüdroksüüdi lahuse, ei põhjustanud see orgaanilise aine roiskumist ja mikroorganismide tekkimist. Schwann (1837) sai samasuguse tulemuse, juhtides õhku läbi klaastoru, mida kuumutati samal ajal kuumas segus. Mikroorganismid ei kasvanud ka sääraseis vedelikes, mis sisaldasid kõigile teistele elusoleseile mürgiseid aineid. Schultze ja Schwanni katsed olid veenvaks tõenduseks, et hapnik ei ole ainsaks põhjuseks mikroorganismide tekkimisel; nende eluvõimelised idud pidid viibima õhus.

Schroeder ja Dusch (1854 ja 1859) näitasid, et elu tekkimiseks tarvilikku printsiipi võib kõrvaldada õhust, juhtides viimast läbi puuvilla. Kui orgaanilist ainet keedeti vaid lühikest aega, ei vabanenud see iga kord nähtamatuist oleseist ja mõnikord tekkis aine roiskumine. Nad oletasid seepärast ekslikult kahesugust roiskumist: üht, spontaanset, milleks on vajalik ainult hapniku viibimine segus, ja teist, mis vajab õhust puuvilla abil kõrvaldatavat printsiipi.

Mikroorganismide tekkimise küsimuse selgitamisega käsikäes astuti ka esimesed sammud nende poolt põhjustatud haiguste uurimise alal. Plenciz (1762) uskus, et nakkushaigusi põhjus-

tavad spetsiifilised haigusidud, mis sigivad organismis. Bassi (1773—1856) avastas siidiussikeste haiguse puhul patogeense haigusidu, mis oli edasipoogitav eksperimentaalsel teel. Sellega sai Bassi parasitaarse teooria ja mikroorganismide spetsiifilise toime õpetuse rajajaks. Rayer ja Davaine (1850) avastasid esimestena siberi katku tekitaja *(Eac. anthracis)* sellesse haigusse surnud oina veres.

Petri (1852) kirjeldas esimesena mõnede mikroorganismide arenemiskäiku ja pani nende juures tähele eoseid (spoore).

Uut hoogu sai mikroorganismide uurimine taimeteadlaste Cohn'i ja Naegeli töödega. Cohn (1828—1898) pidas mikroorganisme lihtsamate vetikate sarnasteks ja andis neile nimeks *Schizophyta*. Naegeli (1817—1891) ei leidnud neist leherohelist (klorofülli), eraldas nad vetikaist ja andis neile üldnimetuse *Schizomycetes*, mis on tarvitusel käesoleva ajani. Cohn oli monomorfist ja oletas mikroorganismide tõu püsivust. Tema arvates on mikroorganismid mitut tõugu, üks tõug ei muutu teiseks, tõu omadused on päritavad.

Naegeli oli pleomorfist ja tunnistas, et mikroorganismide kuju oleneb elutingimustest. Ta arvas, et kerasarnane mikroorganism *(coccus)* võib vastavais tingimusis kepisarnaseks mikroorganismiks *(bacillus)* muutuda, viimased jälle kruvisarnaseks *(spirillum)*. Tema arvates muutuvad ühes kuju muutusega ka mikroorganismi füsioloogilised omadused.

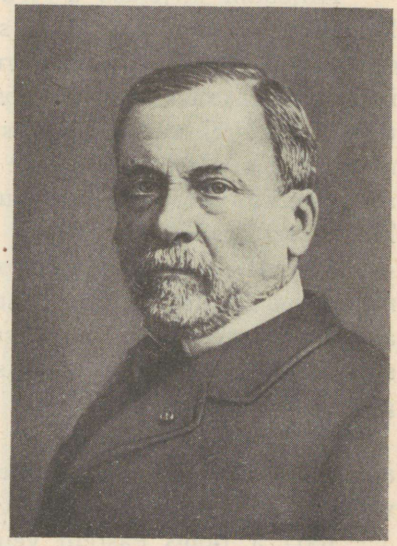
Cohn jagas mikroorganismid 4 pearühma: kerakujulised, lühikesed kepid, sirged niidid ja spiraalsed niidid.

XIX sajandi keskpaigani, kus lõpeb Pasteuri-eelne periood, jäi mikrobioloogia peamiselt kujuõpetuse (morfoloogia) kitsastesse piiridesse.

Pasteur (1822—1895) oli esimene, kes näitas, et morfoloogia uurimisest ei jätku teaduslikule mikrobioloogiale (3. joon.). Igakülgseks mikroorganismidega tutvumiseks peab tingimata uurima nende füsioloogiat ja bioloogiat.

Pasteur oma õpilastega oli see, kes asus mikrobioloogia põhiküsimuste uurimisele ja töötas välja tehnika, mis võimaldas bakterite kultiveerimist kunstlikes söötmeis. Pasteurist alates oli

enamik uurijaist rohkem huvitatud mikroorganismide toimetest ja nende osavõtust haiguste tekitamisel, kui nende ehitusest ja liigitusest. Tunti rohkem huvi selle vastu, kuidas kasutada mikroorganismide tegevust põllumajanduses, tehnoloogias ja teistel praktilistel aladel. Sellest oligi tingitud olukord, et mikrobioloogia arenes tol ajal peamiselt rakendusteaduse suunas, kusjuures mikroobe endid uuriti vaid möödaminevalt. Kuid peab mainima, et rakendusmikrobioloogilise iseloomuga uurimiste puhul kogutud teadmised mikroorganismide morfoloogiast, füsioloogiast ja nende uurimise tehnikast osutusid kahtlemata väga väärtuslikeks puhtteadusliku mikrobioloogia arenemisel.



3. joon. Louis Pasteur (1822—1895).

Pasteur uuris oma teadusliku töö alguses keemiat, kuid surnud looduse uurimine ei rahuldanud teda ja ta asus bioloogiliste küsimuste kallale. 1857. a. ilmus tema teos, mis lükkas ümber tol ajal fermentatsiooni suhtes domineerivad Liebig'i keemilised hüpoteesid ja pani aluse fermentatsiooni mikrobiaalsele teooriale. Tema avastas esimesena fermentatsiooni tekitaja — piimahappebakteri — ja jälgis selle sigimist suhkruvedelikes. A-il 1860—1862 näitas Pasteur oma katsetega, et mikroorganismid ei teki iseenesest, vaid nende alguseks on tarvilik eluvõimeline idu. Ta väitis, et kõiki orgaanilisi aineid võib vabastada elusatest idudest pikaajalise keetmise abil. Pasteuri eelkäijate viga seisis selles, et nad lühiajalise keetmisega ei suutnud surmata eoseid, milledest algas keedetud vedelikus sageli (eriti leelisese reaktsiooni korral) uuesti mikroorganismide sigimine.

Pasteur näitas, et verd ja teisi aineid võib kaitseda roiskumise eest ka ilma keetmata, milleks tarvis on neid säärasel viisil võtta ja alal hoida, et elusad idud ümbrusest sisse ei pääseks. Pasteur tarvitas esimesena steriliseerimiseks autoklaavi, kusjuures kuum aur, mille temperatuur kuni 120° C tõuseb, kõik mikroorganismid ja nende eosed surmab.

Hiljemini kirjeldas Tyndall (1877) oma tähelepanekut, et keetmisel võrdlemisi kiiresti surevad aktiivselt kasvavad mikroorganismid (vegetatiivsed vormid), kuid eluvõimelisteks jäävad inaktiivses astmes viibivad eosed. Kui lasta eoseid areneda vastava aja vältel vegetatiivseiks vormeks, siis surevad need keetmisel. Tema võttis tarvitusele praegusel ajal üldiselt tuntud steriliseerimise korduvate kuumutamiste abil soodsate ajavahemikkude järel (tündaliseerimine).

Pasteuri avastustest alates leidsid antiseptika ja steriliseerimismeetod laialist tarvitust arstiteaduses. Lister kirjeldas 1867. a. antiseptilist tehnikat kirurgiliste operatsioonide puhul, milleks ta sai tõuke Pasteuri töötulemusist ja mis avas ukse moodsale kirurgilisele tehnikale.

Pärast Pasteuri mainitud avastusi pääses lõplikult võidule arvamus, et mikroorganismid ei teki iseenesest, vaid tekivad eluvõimelistest eostest (*„omne vivum ex vivo"*).

1865. a. õppis Pasteur veini ja õlle „haigusi" tundma ja soovitas abinõusid nende vastu võitlemiseks. 1868. a. avastas Pasteur siidiusside haiguste põhjustajaina mikroorganismid ja töötas välja meetodi nende kõrvaldamiseks. 1881. a. näitas Pasteur, et kanade koolera ja siberi katku tekitajate nõrgestatud kultuuride (vaktsiinide) süstimine kutsub esile resistentsuse (immuunsuse) mainitud haiguste vastu. 1885. a. tutvustas Pasteur maailma marutõve (*lyssa*) vastu kaitsemise viisiga.

1888. a. asutati Pariisis Pasteuri-nimeline instituut, kus on pidevalt toimunud uurimised mikrobioloogia alal.

Silmas pidades Pasteur'i avastuste suurt tähtsust, võime teda nimetada mikrobioloogia isaks ja kooli loojaks sel alal.

Billroth (1874) pidas kõiki haava-infektsioonhaiguste korral leiduvaid baktereid ühe pleomorfse organismi (*Coccobacteria*

*septica)* variatsioonideks. Sääraseid ekslikke arvamusi leiame palju tolle aja kirjanduses, mis on arusaadavad, sest bakterite kasvatamiseks tarvitati vedelat kunstlikku söödet, kus segi kasvasid mitu liiki. Kui üks liik sigis söötmes kiiremini, siis jäid teised varju ja vaatleja sai mulje, otsekui muutuks üks liik teiseks.

Uuele alusele nihkus mikrobioloogia pärast Rob. Koch'i (1843—1910) põhjapanevaid avastusi (4. joon.). Töötades praktilise arstina Wollsteinis (Saksamaal) asus ta siberi katku uurimisele ja avaldas 1876. a. andmed *Bac. anthracis*'e kasvatamise kohta, millega algas uus ajajärk mikrobioloogias. Järgmisel aastal ilmus tema töö, mis käsitles bakterite värvimist aniliinvärvidega ja mikrofotograafiat, andes võimaluse mikroorganismide kuju (morfoloogia) täpsemaks uurimiseks. Tema teoses (1878) haavainfektsiooni üle leiame kokkuvõttes tingimused nakkushaigusi esilekutsuvate bakterite spetsiifilisuse kindlaksmääramiseks. Vaatamata sellele, et Koch'i poolt esitatud tingimused ei vasta täielikult praeguse aja mõistetele mikrobioloogias, said nad siiski, kindlaks aluseks eksperimentaalsele mikrobioloogiale. Koch kirjeldas 1881. a. tahkete söötmete valmistamisviisi, mis võimaldasid mikroorganismide puhaskultuuri isoleerimist ühest pesast. Selleks ta lisas vedelatele söötmetele proua Hesse soovitusel läbipaistvat ja hästi steriliseeritavat agaragarit või želatiini; viimast kasutati juba varemini tahke söötme valmistamiseks seente kasvatamisel.



4. joon. Robert Koch (1843—1910).

Koch avastas 1882. a. tuberkuloosi tekitaja *(M. tuberculosis)* ja avaldas 1882 ja 1884 oma klassilised artiklid tuberkuloosi-

batsilli kohta. 1883. a. avastas Koch koolera tekitaja (*Vibrio comma*). Ta määrati 1885. a. Berliini tervishoiu ning bakterioloogia professoriks ja 1891. a. seal asutatud nakkushaiguste uurimise instituudi direktoriks. Koch kogus enda ümber hulga andekaid õpilasi ja lõi oma kooli bakterioloogia alal. Teda võib õigusega nimetada mikrobioloogilise tehnika loojaks.

Pärast Pasteur'i ja Koch'i avastusi hakkas mikrobioloogia kiiresti arenema ja temast kujunesid välja mitmed eriharud. XIX sajandi lõpul avastati paljude nakkuseliste haiguste tekitajad ja uuriti nende levimisteid. Patogeensete mikroorganismide uurimine omandas kord-korralt suurema tähtsuse arstiteaduslikus bakterioloogias ja selgitas mõnegi varemini arusaamatu nähtuse patoloogias.

Roux, Yersin, Behring ja Kitasato leidsid, et mõned patogeensed bakterid valmistavad toksiini, mis organismi mürgistab. Säärase toksiini süstimise tagajärjel tekib looma veres antitoksiin, mis võib toksiini kahjutuks teha. Sellest ajast (1889—1891) alates hakkas kiiresti arenema seroloogia ühes seroteraapiaga ja seroprofülaktikaga, mis võimaldas sadade tuhandete inimeste ja loomade elu päästa.

Metšnikov'i (1846—1916) ja Ehrlich'i (1854—1915) uurimiste tulemused rajasid kindla aluse immuunsusõpetusele.

Laveran (1880) avastas malaaria plasmoodiumi ja näitas esimesena, et algloomade hulka kuuluv mikroorganism võib esile kutsuda infektsiooni.

Burrill (1878) ja Wakker (1883) kirjeldasid taimehaigusi, mida põhjustasid bakterid. Seda tööd jätkasid innuga Ameerika bakterioloogid (E. Smith jt.).

Vinogradski leidis (1887—1889) sääraseid mikroorganisme, mis anorgaanilisest ainest võivad sünteseerida orgaanilist ainet, ja isoleeris 1890. a. puhaskultuurina nitrifikatsiooni tekitajad bakterid. Beijerinck, Hansen, Omeljanski ja teised uurisid põhjalikult käärimisprotsesse ja tõendasid, et mõned bakteriliigid võivad siduda õhus leiduvat vaba lämmastikku. Need avastused said aluseks põllumajanduslikule ja tehnoloogilisele mikrobioloogiale, mis praegusel ajal evib suurt praktilist tähtsust.

Juba Pasteur ja Roux oletasid sääraste väikeste mikroorganismide olemasolu, mida võimatu on näha mikroskoobi abil. Loeffler ja Frosch näitasid 1898. a., et need mikroorganismid ehk viirused pääsevad läbi portselankurna. Käesoleva sajandi uurimised (Landsteiner, Flexner, Levaditi jt.) näitasid, et paljud nähtamatud mikroorganismid etendavad suurt osa patoloogias.

Tähtsamaks saavutiseks mikrobioloogias võiks nimetada ensüümi avastamist Buchner'i poolt pärmseente rakkudes, mis esile kutsub käärimise suhkruvedelikes, ilma et pärmseente rakud ise sellest osa võtaksid.

Alates XX sajandi esimese veerandiga on uurimised mikrobioloogia alal muutunud silmapaistvalt süstemaatilisemaks ja saadud tulemused on mitmeti suutnud parandada varem tekkinud puudusi. Nad on täitnud olulise tähtsusega lünki varemini-avastatud mikroorganismide morfoloogia, füsioloogia, levimise ja liigitamise kirjeldustes. Viimase kümne aasta vältel on kiiresti kasvanud mikrobioloogia eriteadlaste arv.

Niihästi Pasteur'i kui ka teiste bioloogide katsed ei suutnud vastust anda küsimusele, kuidas tekkisid esimesed mikroorganismid maakera pinnal. Thomson ja Richter oletavad, et meteoorid kandsid lihtsamaid elusoleseid teistelt planeetidelt maakera pinnale. Arrhenius väidab, et mikroorganismid võisid edasi liikuda päikesekiirte rõhumise mõjul.

Et mikroorganismid maakera pinnal viibisid juba selle kujunemise varakuil ajajärkudel, seda näitavad van Tieghem'i ja Renaux' poolt toimetatud paleontoloogilised uurimised, kes leidsid mikroorganismide jälgi kivistunud taimede ja loomade jäänustes.

Naegeli oletas, et elusa ja elutu mateeria vahel esinesid siduvad lülid, mida ta nimetas probiontideks. Viimased kujutasid Naegeli arvates homogeense protoplasma tilku.

Maakera kujunemise käiku uurides selgub, et alul tekkisid mitmesugused mineraalollused, mis kõlbasid toiduks ainult lihtsaile organismidele. Peab arvama, et elu pioneerid olid niisugused olesed, kes suutsid orgaanilist ainet sünteseerida süsihappest, hapnikust, õhulämmastikust ja anorgaanilistest sooladest. Säärast

omadust leiame paljudel bakteritel, nagu seda näitas Vinogradski oma uurimistega.

Keemilise sünteesi abil on juba saadud niisuguseid aineid, mille tekkimist varemini seoti ainult elusa organismi tegevusega: süsivesikuid, ksantiinkehasid, kusihapet, polüpeptiide jne. Koguni valgu süntees laboratoorsel teel paistab olevat aja küsimus. Kui meie aja laboratoorium ei suuda veel elusat protoplasmat sünteseerida, siis ei tõenda see, et elu algus pidi olema tingimata seoses loodusteadlasele arusaamatu imeteoga — loomisega. Peab oletama, et need tingimused, mida me oma laboratooriumis lihtsa seadise abil loome, põhjalikult erinevad nendest, mis looduse suures laboratooriumis esinesid tol ajal, kui tärkas ürgelu.

Mikrobioloogia ülesanded on puhtteaduslikud ja praktilised. Arstiteadusliku mikrobioloogia ülesandeks on inimesel ja loomadel nakkushaigusi põhjustavate mikroorganismide uurimine ja abinõude leidmine nende vastu võitlemiseks. Praegusel ajal on praktilisel arstil võimatu seista ajakõrgusel ilma algteadmisteta mikrobioloogiast.

Tehnoloogile annab mikrobioloogia tarvilikke näpunäiteid, kuidas võimalik oleks kasutada mikroorganismide mitmekesist ja võimelist toimet praktiliseks otstarbeks.

Põllumajandusteadlasele annab mikrobioloogia juhendeid, kuidas ära kasutada maapinna viljakuse tõstmiseks mikroorganismide elutegevusest olenevaid mitmesuguseid protsesse. Ta õpetab põllupidajat võitlema paljude taimehaigustega, mis põllumajanduses sagedasti lõpmata suurt kahju tekitavad.

Mikrobioloogia tutvustab meid maakera minevikuga ja nende geoloogiliste protsessidega, mida mikroorganismid maakoores esile kutsuvad.

Mikrobioloogiaga tutvumine on tarvilik mitte ainult ühele või teisele eriteadlasele, vaid igale haritud inimesele, sest suur loodus peitub mitte ainult suurtes asjades, vaid ka kõige pisemates; seega on mikrobioloogia rikas tähiseist, mis meid juhivad tõe otsimisel.

## Bakterite morfoloogia ja sigimine.

Mikroorganismide ehk mikroobide (Sédillot 1878. a.) kuju on kõrgemate loomade ja taimede kujuga võrreldes äärmiselt lihtne ja sageli ebastabiilne. Üldiselt peab mainima, et mikroorganismide kuju ja ligema ehituse kirjeldustes puudub alles soovitav ühtlus, mis on seletatav osalt mikrobioloogilise tehnika puudulikkusega ja lähtekohtade erinevustega algkuju määramisel. Paljude mikroorganismide morfoloogilised omadused on kergesti mõjustatavad välistest teguritest ja mikroobiraku füsioloogilistest talitustest. Mida lihtsam on mikroorganismi ehitus, seda rohkem on ta morfoloogia sõltuv mitmekesiseist välistegureist. Kui mikroob kasvab inimese või looma organismis, siis võib tema kuju tihtipeale enam või vähem erineda sellest, mis esineb samal mikroobil kunstlikel söötmeil kasvades. Muutused söötme koostises, samuti ka kasvutemperatuuris, põhjustavad paljude mikroobide kujumuutusi.

Mainitud ebastabiilsus on suureks raskuseks mikroorganismide identifitseerimisel. Ühtlasemate ja võrreldavate morfoloogiliste andmete saamiseks ühe või teise mikroobiliigi kohta on tarvilik alati mainida kultuuri kasvutingimusi ja kasvukestust, kust on saadud mikroobid uurimiseks. Kunstlikel söötmeil kasvavate mikroorganismide (bakterid, pärmseened jt.) morfoloogia määramisel peab esmajoones kirjeldama neid mikroobirakke, mis esinevad noortes kultuurides, jälgides nende muutusi paljude generatsioonide vältel.

Ei ole kahtlust, et määratust hulgast looduses esinevaist mikroorganismest tuntakse praegusel ajal vaid piiratud arvu liike, kusjuures paljude liikide uurimine on mitmeti puudulik. Üldises mikrobioloogias kirjeldatakse lühidalt järgmisi mikroorganisme ja nende talitusi: 1) bakterid laiemas mõttes ehk *Schizomycetes*, 2) seened ehk *Mycetes (Fungi)*, 3) algloomad ehk *Protozoa* ja 4) determineerimata ehk filtreeruvad viirused.

B a k t e r i d on ainuraksed, ilma tõeliste oksteta, autonoomsed, taimeriiki kuuluvad, liikuvad ja mitteliikuvad olesed, mis- peamiselt mittesuguliselt pooldumise teel kiiresti paljunevad, ilma klorofülli abita elavad ja parasiitidena või saprofüütidena looduses esinevad.

Et spirohheedid *(Spirochaetaceae)* ja kiirikseened *(Actinomyces)* morfoloogiliselt ja bioloogiliselt märksa erinevad bakterite all tavaliselt mõistetavatest organismidest, siis on didaktiliselt otstarbekam neid mikroorganisme kirjeldada iseseisvate rühmadena lahus bakteritest.

Bakterite s u u r u s kõigub laiades piirides. Nende läbimõõt on 0,5—1,0 $\mu$[1] ja tavaline pikkus 3—6 $\mu$. 10—12 $\mu$ pikkusi baktereid nimetatakse lühikesteks niitideks ja 20—100 $\mu$ pikkusi pikkadeks niitideks. Peale üksikute erandite võib baktereid näha mikroskoobi abil, mis suurendab 900—1800 korda. Kõige väiksemaks senituntud bakteriks, mida võib näha säärase mikroskoobi abil, peetakse *Bac. indigoferus*'t, läbimõõdult 0,06 $\mu$, pikkuselt 0,18 $\mu$. Kõige suurematest senituntud patogeensetest bakteritest võiks nimetada *Clostr. sporogenes*'t, läbimõõt 1 $\mu$, pikkus 9 $\mu$.

Olgu mainitud, et uuemal ajal ehitatud elektronmikroskoobi abil, kus tavalisi klaasläätsi asendavad erilised magnetilised läätsed ja valgustusena kasutatakse väikese lainepikkusega valgustust (elektronide kiired), on võimalik näha senisest palju väiksemaid organisme. Säärased mikroskoobid suurendavad kuni 30 000 korda ja suurendades mikroskoobis nähtavat pilti optiliselt, võib saada kuni 100 000-kordse suurenduse.

Mikroobide morfoloogias tehakse vahet kolme põhikuju vahel: 1) k e r a s a r n a s e d ehk k e r a s p i s i k u d (kokid), 2) p u l g a s a r n a s e d ja 3) k r u v i s a r n a s e d ehk k r u v i p i s i k u d, kusjuures leidub väga palju üleminekuvorme. Kõige selle juures on maksev bakterite põhivormi püsivuse seadus, et kera-

[1] 1 $\mu$ = 0,001 millimeetrit.

sarnasest saab pooldumisel ümmarik ja pulgasarnasest vaid pulgasarnane bakter.

Kui kerasarnased bakterid lähevad kohe pärast pooldumist üksteisest lahku, siis kannavad nad mikrokoki (*micrococcus*) nimetust. Jäävad nad aga pärast pooldumist paaristikku, siis nimetatakse neid kaksikkokkideks (*diplococcus*). Helmetaolisteks ridadeks koondunud kokke nimetatakse ahelkokkideks (*streptococcus*). Neljakaupa koosnevaid kerajaid mikroobe nimetatakse nelikkokkideks (*tetracoccus*), kaheksast kokist koosnevaid pakke kaheksikkokkideks (*sarcina*). Jäävad kerasarnased mikroobid pärast pooldumist kobarasse, siis nimetatakse neid kobarkokkideks (*staphylococcus*) (tahv. I, 1.—5. joon.).

Mõned kokkide liiki kuuluvad bakterid ei ole täpselt kerakujulised; nad võivad olla ovaalsed, ühest küljest välja veninud (*lanceolatus*) või neerukujulised (*Neisseria gonorrhoeae*). Mõnel liigil on kokid ümbritsetud želatinooskestaga, mis neid seob kogudesse (*Leuconostoc mesenteroides*).

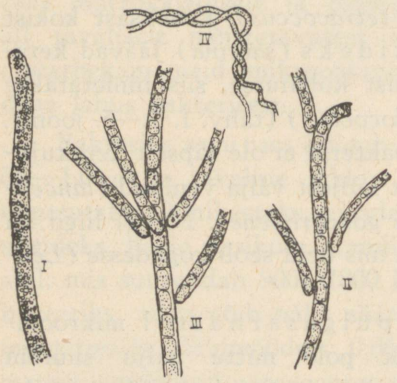
Väga mitmekesist pilti näeme pulgasarnastel mikroobidel. Kui mikroobiraku pikkusmõõt pole mitte palju suurem läbimõõdust ja selles ei teki eost, siis nimetatakse säärast mikroobi sõna kitsamas mõttes pulkpisikuks ehk bakteriks (*bacterium*); paistab aga nende mõõtude vahe õige vähesena, siis antakse mikroobile sageli nimeks *coccobacterium*. On mikroobiraku pikkusmõõt märksa suurem läbimõõdust ja rakud võivad tekitada eoseid, siis nimetatakse mikroobi kepp-pisikuks ehk batsilliks (*bacillus*). Seesugune jaotus on sageli väga subjektiivne. Batsillide pooldumisel võib: 1) iga batsill eraldi seista; 2) kahekaupa otsakuti ühenduses olla (*diplobacillus*) ja 3) mitu batsilli ahelikuna ühendusse jääda (*streptobacillus*) (tahv. I, 6.—10. joon.).

Pulgasarnased mikroobid ei ole alati ühtlase läbimõõduga kogu raku pikkuses, mille tõttu nad paistavad deformeerunutena ja saavad vastavalt sellele erinimetused: 1) rakk kohati pundunud, kõver, mõnikord okslik (*mycobacterium*), 2) otsad nuiasarnased (*corynebacterium*), 3) otsad välja veninud, teravad (*fusiformis*), 4) rakk on endospoori kohalt märksa paksem (*clostridium*) jne.

Otsa väliskuju on iseloomulik paljudele batsillidele. Mõnel

liigil on otsad järsult lõigatud (*Bac. anthracis*), teistel on nad ümmarikud (*Bac. subtilis*).

Kruvisarnaste mikroobide kuju on väga mitmesugune, kuid üldiselt võiks kolme peakuju nimetada: 1) komasarnased (*Vibrio*), kui pulk on pisut kõver, 2) spirillid (*Spirillum*), kui pulk teeb vähemalt ühe keeru kesktelje ümber, ja 3) spirohheedid (*Spirochaetaceae*), pikad mitme keeruga ja loogeldusega mikroorganismid (tahv. I, 11.—14. joon.).



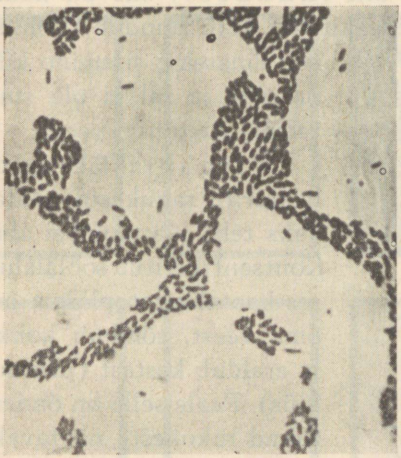

5. joon. I — *Beggiatoa;* II — *Sphaerotilus;* III — *Crenothrix;* IV — *Spirothrix.* (Puntoni järgi.)

Ülalmainitud bakterid on ainuraksed organismid — *haplobacteria.* Üksikuil liikidel leiduvad mõnel juhul okslikud vormid (*M. tuberculosis, Malleomyces mallei, Phytomonas tumefaciens*).

Vees ja inimese suus asuvate organismide hulgas leiduvad erilised, batsillidele sugulased *trichobacteria*, mis on alati pika niidi sarnased. Siia kuuluvad perekonnad: *Leptothrix*, mis esineb suus ja vees, *Sphaerotilus*, mis esineb peamiselt vees, ja teised (5. joon.). Üldine kihn ümbritseb rakkudesarnasteks segmentideks jagunenud niidi protoplasmat. Need organismid moodustavad teataval määral vahelüli vetikate ja bakterite vahel. Mõned niidisarnastest bakteritest on okslikud, enamik aga oksteta. Õigemini on nende puhul tegemist ebaokstega, mis tekivad sel teel, et üksikud segmendid teiste segmentide rõhumisel kõrvale kasvavad peaharust, ilma et nad jääksid orgaanilisse ühendusse viimasega (*pseudoramificatio*). Osa trihhobakteritest liigub vabalt vees, teine osa neist on kinnitatud üht otsa pidi veealuste taimede ja esemete külge. Suus esinevad neist organismest mitmed liigid.

Kui bakterid kasvavad neile mittesoodsais tingimusis, siis ilmuvad kiiresti mitmesugused degeneratsiooni- või involutsioonivormid. Näiteks värskes kultuuris esineb *Proteus*

*vulgaris* lühikeste pulkadena, kuna nad paar tundi vanemas kultuuris on juba märksa pikemad. Iseäranis silmapaistvad on bakterite kujumuutused vanades kultuurides, kui söötme reaktsioon ei vasta enam mikroobi nõuetele ja kui sööde sisaldab vähesel määral tarvilikku toiteainet (6.—8. joon.). Sama mõju avaldavad söötmes esinevad mürgised ained, mida kasvavad bakterid ise



6. joon. *Rhizobium leguminosarum* noorest kultuurist.



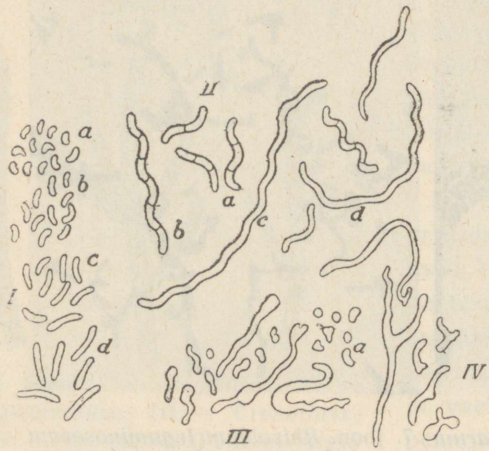
7. joon. *Rhizobium leguminosarum* vanast kultuurist.

võivad valmistada (autointoksikatsioon), ja ebasoodus kasvutemperatuur. Involutsioonivormide tekkimist seletatakse mikroobide eluenergia kahanemisega, kuid involutsiooni võib näha ka kiirendatud kasvu aegu, kus mikroobi raku kasv ja selle jagunemine ei pea sammu. Võiks mainida kaht involutsioonitüüpi: progressiivne, kui bakteri raku mõõdud normaalsetest suuremaks muutuvad, ja regressiivne, kui nad normaalseist mõõtudest väiksemaks muutuvad. Involutsioonivormide tekkimisega käivad harilikult käsikäes mitmesugused bakterite bioloogiliste funktsioonide muutused.

Kui külvata degenereerunud baktereid soodsale värskele söötmele ja kasvatada neid optimaalseis tingimusis, siis omandavad nad

kiiresti oma algkuju ning endised bioloogilised funktsioonid. Korduvad aga involutsiooni tekkimise tingimused, siis võib bakter püsivalt kaotada osa oma funktsioonidest (variatsioon). Ulatub bakterite degeneratsioon veel kaugemale, siis võib juhtuda, et degenereerunud rakk katkeb terasarnasteks osakesteks (fragmentatsioon).

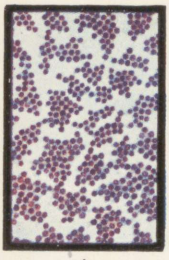
Bakterit ümbritseb elastiline õrn rakukest, mis on kahekordne: välimine kiht imeb enesesse kiiresti vett, pundub ja muutub limaseks; sisemine kiht on tihe ja tal ei ole suuremat sugulust veega.

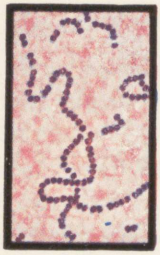



8. joon. *Vibrio comma.* I — noorest kultuurist; II—IV — vanast kultuurist (skeem).

Fischer'il läks korda bakterite rakukesta nähtavaks teha plasmolüüsi abil. Kontsentreeritud soolalahuses kaotab protoplasma osa oma veest, tõmbub kokku ja eraldub kestast (plasmolüüs). Peale selle on õnnestunud rakukesta nähtavaks teha eriliste värvimisviiside abil aniliinvärvidega ja joodilahusega. Bakterite kest on ehitatud lämmastikku sisaldavaist aineist; ta sisaldab tärklist, sageli pektiinollust ja mõningail juhtumeil rauda.

Kui mõne bakteriliigi (*Diplococcus pneumoniae, Bac. anthracis* jne.) kesta limastumisprotsess on kiirendatud, siis võib tekkida bakteri ümber paksem limakiht, mida seesugusel korral bakteri kihnuks (*capsula*) nimetatakse (9. joon.). Suhkruvabrikutes võib näha, kuidas puhastamata suhkrusiirup muutub ühe päeva jooksul limaseks seguks, mis koosneb paksu limakihnuga kaetud bakterite (*Leuconostoc mesenteroides*) kogust. Paljudel bakteritel tekivad limakihnud alles siis, kui nad kasvavad elusas organismis, kuna surnud organismis või kunstlikul söötmel kasvades ei ole


1


2


3


4


5


6


7


8


9

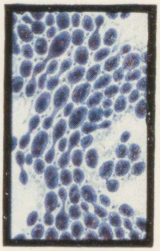

10

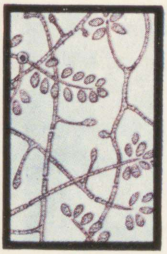

11


12


13


14


15


16


17


18


19


20

Joonistanud Hilda Kamdron.

Mikroorganismid. 1) *Staphylococcus*, kultuuris. 2) *Streptococcus*, mädas. 3) *Tetracoccus*, mädas. 4) *Diplococcus pneumoniae*, rögas. 5) *Neisseria gonorrhoeae*, mädas. 6) *Shigella dysentheriae*, kultuuris. 7) *Eberthella typhosa*, viburitega. 8) *Bacillus anthracis*, eostega. 9) *Corynebacterium diphtheriae*, kultuuris. 10) *Mycobacterium tuberculosis*, rögas. 11) *Vibrio comma*, kultuuris. 12) *Spirillum undula*, kultuuris. 13) *Bacillus fusiformis* ja *Spirochaeta*, kurgulimas. 14) *Treponema pallidum*, koemahlas. 15) *Saccharomyces*, kultuuris. 16) *Sporotrichum beurmanni*, kultuuris. 17) *Actinomyces*, terake (druus) mädas. 18) *Entamoeba histolytica*, sooltelimas. 19) *Trypanosoma gambiense*, veres. 20) *Plasmodium vivax*, veres.

neil märgata kihnu tekkimist. Kunstlikest söötmeist võiks nimetada vereseerumit, piima ja röga, kus mõnede bakterite ümber tekib limakihn.

Bakteri kihnu võib näha läbipaistva tsoonina värvimata raku ümber, samuti ka vastava meetodiga värvitud mikroobi ümber, kus tumedamat bakterit ümbritseb õrnalt värvitud rõngas. Kihnude tekkimise küsimus ei ole veel täielikult selgitatud. Võib



9. joon. *Bac. anthracis* (kihnud).



10. joon. *Zoogloea ramigera.* (Zopf'i järgi.)

tähele panna, et kaht või mitut bakterit ümbritseb üks üldine limakihn. Kihnu limas võime leida polüsahhariide, mutsiini, kitiini jne. Arvatakse, et mõnda bakterit ümbritseb vahaollusest kest, mis raskelt värvub (*M. tuberculosis, M. leprae* jne.). Eritingimusis võib mõnel mikroobiliigil tekkida kihn sellele vaatamata, et normaalolukorras see puudub. Kihnu ülesande kohta arvatakse, et see kaitseb patogeenseid mikroobe organismi enesekaitse tegurite vastu ja suurendab mikroobi virulentsust.

Mõned mikroobid (*Diplococcus mucosus*) valmistavad suuremal hulgal struktuurita limasarnast ainet (mukoidsed tüübid). Teistel juhtumeil tekib limast ainet säärasel määral, et see moodustab põhiaine, millesse on sängitatud mikroobid (*Zoogloea*

(10. joon.). Viimased nähud esinevad peamiselt vedelates, suhkruaineid sisaldavates segudes (*Acetobacter aceti* ja *xylinum* jt.).

Klaasile määritud aine värvimisel võib juhtuda, et koemahl või söötmeaine varem ära kuivab kui bakterirakud, mille tõttu viimased hiljemini kokku tõmbuvad ja enda ümber tühja, mittevärvitava rõnga moodustavad, mis simuleerib kihnu (pseudokihnud).

Liikumise suhtes jagunevad bakterid kahte liiki: ühed liiguvad iseseisvalt, teistel puudub iseseisva liikumise võime. Osa baktereist liigub ilma eriliste liikumisorganite — viburite — kaasabita rütmiliste kontraktsioonide abil. Liikumise viburid esinevad suuremal osal spiraalsetest bakteritest, umbes kolmandikul tuntud pulgataolistest bakteritest ja ainult vähestel kokkidel (*Micrococcus agilis* jt.). Viburid on loogelised, niidikujulised, mitmesuguse pikkusega (vahel kuni 20 korda pikemad baktereist), peenikesed (läbimõõt ainult 0,02—0,03 $\mu$) moodustised, mis on lõdvalt seoses rakukehaga. Arvatakse (Fuhrmann), et vibur tungib läbi bakteri kesta ja on ühendatud nööbisarnase kromatiinmoodustisega. Nad murduvad kergesti bakteri küljest ja tekivad ainult raku vegetatiivses arenemisastmes.

Viburite funktsiooni kohta on teada, et nad võivad kokku tõmbuda (kontraktsioon), põhjustades seega mikroobi edasiliikumist ja rotatsiooni. Ühe viburiga bakteril (*V. comma*) liigub vibur ees või järgneb mikroobile. Mitme viburiga mikroobide liikumine on suunalt väga varieeruv. Viburitega varustatud mikroobid reageerivad välistele ärritustele vastava liikumisega, kus säärasel korral räägitakse positiivsest või negatiivsest *taxis*'est (*chemotaxis, aerotaxis, osmotaxis, phototaxis, thermotaxis, geotaxis, galvanotaxis* jt.). Bakterite liikumiskiirus on väga mitmekesine. Ühed liiguvad kiiresti, 20—40 $\mu$ sekundis (*Vibrio comma*), teised pikkamisi, 10—12 $\mu$ sekundis (*Bac. subtilis, Clostridium tetani*).

Kuumus (juba 49—55° C), külm ja kuivamine pidurdavad ajutiselt või jäädavalt liikumist. Vanades kultuurides võivad mõned bakterid liikumisvõime hoopis kaotada. Iseseisvat bakterite liikumist ei tohi ära segada Brown'i molekulaarliikumisega, mis on mikroobide või aineterakeste hõljumine koha peal.

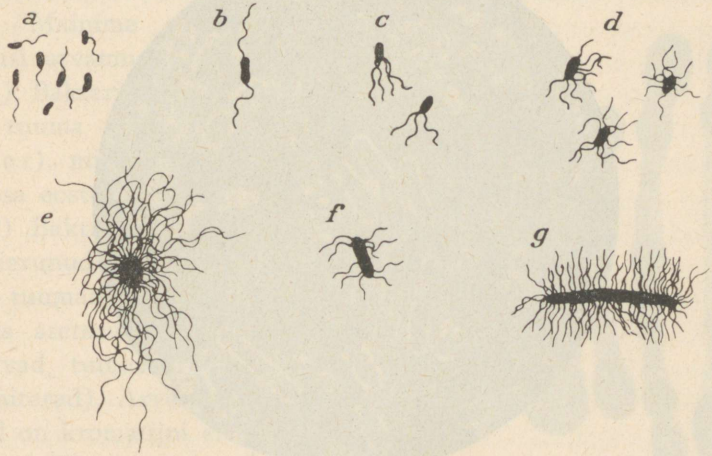
Eriliste värvimismeetodite abil on võimalik vibureid värvida.

Ultramikroskoobi tarvituselevõtmine võimaldas viburite uurimist elusate bakterite küljes.

Silmas pidades viburite hulka ja nende kinnituskohta raku külge, jagunevad bakterid (11. joon. ja tahv. I, 7. joon.):

1) *Monotricha* — ühe viburiga ühes otsas (*Vibrio comma*).

2) *Lophotricha* — viburite kimp bakteri ühes või mõlemas otsas (*Spirillum undula, Spirillum serpens*).



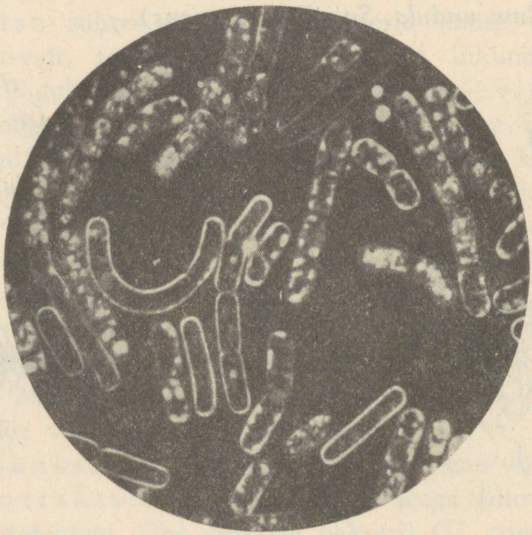

11. joon. Viburid: a — *monotricha;* b — *amphitricha;* c — *lophotricha;* d—g — *peritricha.*

3) *Peritricha* — hulk vibureid bakteri raku ümber (*Proteus vulgaris, Eberthella typhosa, Bac. subtilis*).

4) *Amphitricha* — üks vibur raku mõlemas otsas (mõned vibrioonid). Viimaste kohta oleks põhjust arvata, et pooldumise eel ilmuvad viburid bakteri mõlemas otsas, enne kui raku jagunemine on lõppenud.

Viburites esinevad ained erinevad keemiliselt rakukehas leiduvatest ainetest. Näiliselt aitavad viburid oma suure pinna tõttu siduda spetsiifilisi aglutiniine. On tähele pandud, et mõnedel bakteritel puuduvad pikema aja jooksul viburid ja liikumine, mis aga teadmata põhjustel korraga ilmuvad (variatsioon).

Bakterite rakukeha (protoplasti) peenema struktuuri üle puuduvad alles kindlamad andmed. Rakukeha olulisteks osadeks on protoplasma (tsütoplasma), vakuoolid, tuuma elemendid ja mitmesugused sisaldised. Nende osade uurimine on arenenud viimasel ajal, sest kasutades rakukeha fotografeerimist ultravioletse valgus-



12. joon. *Bac. megatherium.* Pimeväljal, ultravioletse valgustusega fotografeeritud (× 2500). (Topley ja Wilson'i järgi.)

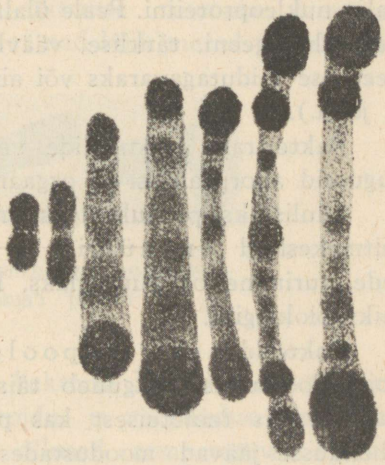
tusega ning kvartsläätsedest optilise süsteemiga mikroskoobi (Barnard) ja ultramikroskoobi abil on korda läinud fotografeerida osakesi läbimõõduga 0,075 $\mu$ (12. joon.). Mõjustades mikroobirakke eriliste värvidega, biokeemiliste reaktiividega (tsütokeemia) ja ekstraktides neid eetritega, alkoholidega, hapetega jt. on juba osalt õnnestunud selgitada mikroobirakes esinevaid aineid.

Seniseist uurimisist selgub, et rakukeha protoplasma kujutab poolvedelat homogeenset ainet, mis sageli sisaldab väikesi teri (plasmosoome). Värvitud protoplasmas näeme kärjelist struktuuri ühes väiksemate või suuremate vakuoolidega. Schaudinn kir-

jeldas protoplasma liikumist ühes suures bakteris (*Bacillus Bütschli*). Rakupinnale ligemal olevat tihedat protoplasmat nimetatakse ektoplasmaks, keskmist vedelamat osa endoplasmaks.

Mõnedes bakterites koondub tihe protoplasma raku otstesse, mis kogud värvuvad intensiivsemalt ja paistavad bipolaarsete teradena (13. joon.).

Bakterite rakutuuma (*nucleus*) kohta puudub alles lõplik otsus. Mainime siinkohal vaid järgmisi arvamusi:



13. joon. *Corynobacterium diffindens* (× 10 000). (Enderlein'i järgi.)

1) Bakterirakud sisaldavad 1—5 tuuma (Schottelius ja Meyer), mis jagunevad ja võtavad osa eoste tekkimisest.

2) Bakterid sisaldavad diferentseerunud tuuma asemel väikesi tuumaterakesi. Alveoolide seintes asetsevad terakesed, mis värvuvad tuumavärvidega (kromatiiniterad). Arvatakse, et bakteritel on kromatiini elementidest ehitatud difuusne tuum. Schaudinn ja teised nimetavad säärast kromatiinisüsteemi kromidiaalseks võrguks. Bakteri rakus puudub tuum morfoloogilises mõttes ja tuuma substants on hajunud kogu rakukehas. Bakteriraku protoplasma ja tuuma substantsi vahel on keemiline, kuid mitte morfoloogiline erinevus.

3) Bakterirakk on tuum ilma plasmata (Ambroz jt.).

4) Bakterites ei leidu tuumasubstantsi. Kromatiiniterade sarnased moodustised on ainult toidu-tagavara.

Topley ja Wilson mainivad kokkuvõttes, et tõenäoselt on bakterid tuumaga, kuid nende tuumaaparaat erineb suurel määral teiste ainu- ja paljuraksete organismide tuumast.

Babes leidis paljudes bakterites üksikult või hulgana tera-

kesi, milledest suurem osa olid rasvaterad, kuna teisel osal esines väga suur afiinsus tuumavärvidele ja nad värvusid purpurpunakaks mõnede siniste ja violetsete aniliinvärvidega (metakromaatilised terad). Viimaseid tuntakse Babes-Ernsti ehk volutiiniteradena ja arvatakse, et nad ei koosne mitte raku elusatest komponentidest, vaid raku metabolismi substantsidest (metaplasmaatilised terad). Nende terade arv ja suurus olenevad söötmest ja kultuuri kasvu kestusest; nad sisaldavad palju nukleoproteiini. Peale ülalmainitute on leitud bakterite rakkudest glükogeeni, tärklise, väävli ja oblikhappe-soolade teri, mida peetakse toidutagavaraks või ainetevahetuse produktideks (tahv. I, 9. joon.).

Bakteriraku vakuoolide vedelik (rakumahl) sisaldab mitmesuguseid anorgaanilisi ja orgaanilisi aineid.

Olulisteks produktideks, mis bakterites tekivad, on väga mitmekesised ensüümid ja toksiinid (endotoksiinid), millede uurimine on suuremaks, kuid ühtlasi raskemaks ülesandeks mikrobioloogias.

Bakterid sigivad pooldumise *(divisio)* teel ja eoste abil. Pooldumisel jaguneb täiskasvanud emarakk kaheks tütarrakuks, mis teineteisest kas peatselt vabanevad või püsivamalt ühendusse jäävad, moodustades rakkude mitmekesiseid agregaate. Pooldumise eel esinevad mikroobiraku kuju ja tsütoplasma mitmekesised, kuid üldiselt alles vähetuntud muutused (14. joon.). Kokkide pooldumine võib toimuda iga diametraalset pinda pidi, kuna pulgasarnased mikroobid poolduvad ainult risti. Pulgasarnased ja spiraalsed mikroobid venivad pooldumise eel pikkadeks niitideks; mõnedel mikroobiliikidel tekivad rudimentaarsed oksad *(C. diphtheriae, M. tuberculosis)*.

Mõned mikrobioloogid väidavad, et mikroobidel on keerulise käiguga elutsükkel, kus toimuvad ka sugulised protsessid, ja et pooldumine on vaid selle tsükli üks faas, mis esineb noortes, kunstlikes tingimusis kasvavais mikroobes. Teised (Jones, Löhnis, Almquist jt.) kirjeldavad mikroobide sigimist goniidisarnaste kehakeste abil, mis tekivad emarakus. Nende küsimuste lõplik lahendamine vajab täiendavaid uurimisi.

Kui mikroobirakud satuvad üksikult tahke söötme pinnale, siis sigib iga eluvõimeline rakk ja moodustab mikroobide p e s a ehk k o l o o n i a. Pesade seesmise ehituse kohta on meil alles puudulikud andmed, kuid väliselt on nende kuju iseloomulik enamasti igale mikroobiliigile. Liituvad söötme pinnal üksikud pesad, siis tekib ühtlane kate-k u l t u u r. Soodsais kasvutingimusis muutub bakterite arv 20—40 minuti jooksul kahekordseks. C o h n'i arvestuse järgi võib ühest bakterist 48 tunni jooksul 271 biljonit bakterit saada, mis moodustaks $^1/_2$-liitrilise ruumala. 3. päeva jooksul tekiks neid säärasel hulgal, et nad kõik mered ja ookeanid



14. joon. *Corynebact. diphtheriae* pooldumisprotsess. (Williams'i järgi.)

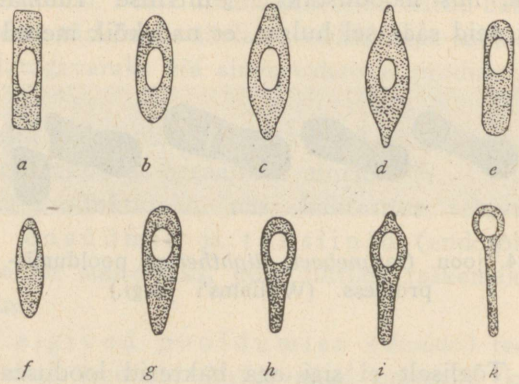
võiksid täita. Tõeliselt ei sigi aga bakterid looduses nii kiiresti, sest nende paljunemist takistavad toidu- ja veepuudus, ainevahetuse tagajärjel tekkinud mürgised ollused, temperatuuri kõikumine, valguse mõju jne.

Mõnedes bakterites tekivad endogeenselt, harilikult ebasoodsais kasvutingimusis, e o s e d (endospoorid). Kõige sagedamini esinevad nad batsillidel, kuna kokkidel ja spirillidel neid veel ei ole tähele pandud. Bakterite eosed on soo alalhoidjad; nad on püsivad eluvormid, mis tekivad siis, kui ümbruse halvad mõjud bakterit surmaga ähvardavad. Eosed ei teki elusas organismis ja kunstlikul söötmel tekivad nad peamiselt siis, kui vanades kultuurides kahanevad toiteained ja ilmuvad mürgised ained. Samuti kui viljaterad, ei viibi ka bakterite eosed täielikult latentses olekus taliuinakus, vaid neis toimuvad aeglaselt, kuid vahetpidamatult mitmekesised eluprotsessid.

Bakterite eosed on kujult ümmarikud või ovaalsed (15. joon.). Eost ümbritseb tihe kest, mille välimist osa nimetatakse e k s o -

spooriks, sisemist osa endospooriks. Kest ei lase kergesti vett läbi; ta sisaldab rasv- ja tõrvollust, mis võib põhjuseks olla, et eoste värvimiseks peab tarvitama erilist intensiivset värvimisviisi. Eoste protoplasma ei sisalda vakuoole ja sisaldab vähe vett. Nad on väga visad vastu pidama kuivusele, kuumusele ja keemiliste mürkide mõjule. Eoste suurus on mitmesugune, kuid enamvähem kindel ühel ja samal bakteriliigil.

Igas bakterirakus tekib üks eos, mis asetseb raku otsas või




15. joon. Eoste kuju ja asetus mikroobes (skeem).

keskel. Kahe eose tekkimine ühes bakteris esineb ainult üksikutel liikidel (*Bac. inflatus*).

Eoste tekkimise eel jäävad liikuvad mikroobid seisma, ilma et ära kaoksid nende viburid, ja ühtlasi võib muutuda nende kuju. Üldiselt arvatakse, et eoste tekkimisprotsess algab kromatiinisarnase aine koondumisega raku keskele või otsa, kusjuures raku protoplasmas tekivad väikesed terakesed, mis liitudes eose moodustavad; lõpuks ilmub eose ümber tihe kest. Mõned arvavad, et eose tekkimise eel ilmub vakuoolisarnane pesa tsütoplasmas, kuhu koondub tuumaine.

Mõned bakterid kaotavad teatavais kasvamistingimusis (mürgine sööde, ebasoodus kasvu $t^0$ jne.) eoste valmistamise funktsiooni, millele järgnevad asporogeensed generatsioonid. Satub

asporogeenne generatsioon soodsaisse elutingimusisse, siis võivad tekkida uuesti sporogeensed generatsioonid.

Bakterite eosed võivad aastate vältel puhata ja elu alal hoida. Satuvad nad soodsaisse elutingimusisse, siis algab nende idanemine, mis on mõnedel bakteritel seevõrra iseloomulik, et seda võib tarvitada kui kindlat tunnust bakterite identifitseerimiseks. Näiteks *Bacillus anthracis*'e eosed punduvad ja kasvavad pikemaks idanemise alguses; siis katkeb ühest otsast nende kest, kust välja kasvab noor bakter, mis pooldumise teel võib sigida (polaarne idanemine). *Bacillus subtilis*'e eoste idanemine on ekvatoriaalne, kusjuures eose kest keskkohalt katkeb. Burchard kirjeldab veel eoste bipolaarset idanemist.

Eoste idanemine kestab keskmiselt 2—5 tundi. Idanemiskäigu uurimiseks võetakse vanast kultuurist aasaga eoste ja bakterite segu, määritakse õhukese kihina klaasile ja lastakse kuivada. Siis tilgutatakse peale üks tilk vedeldatud agarsöödet (45° C) või lihapuljongit ja idanemist jälgitakse rippuvas tilgas soojendataval objektilaual mikroskoobis või termostaadi-mikroskoobis.

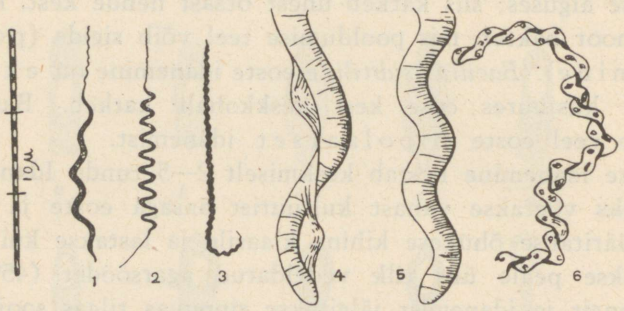
## Spirohheedid. *Spirochaetaceae.*

Spirohheete kirjeldas esimesena Ehrenberg 1833. a. Praegusel ajal mõistetakse spirohheetide all laiemas mõttes kruvisarnaselt pikitelje ümber keerdunud või lainetaoliste loogetega, niidi- või lindisarnaseid ainurakseid mikroorganisme. Kujult on spirohheedid väga mitmekesised. Uuemad arvamused kalduvad sinnapoole, et paljud spirohheetidest on silindrikujulised, mille ristiläbilõikepind kujutab sõõri. Mikroskoobis paistev spirohheetide kuju oleneb suurel määral sellest, kas neid surnult (värvitult) või elusalt uuritakse (16. joon.).

Spirohheetide pikkus ja läbimõõt on väga varieeruvad. Kõige suuremate liikide pikkus ulatub 200—500 $\mu$ (*Sp. plicatilis*), kuna 10—15 $\mu$ keskmiseks pikkuseks võib pidada. Spirohheetide läbimõõt oleneb osalt nende vanusest. Suuremal osal on see 0,3—0,8 $\mu$ ja üksikuil liikidel 1—1$^1/_2$ $\mu$. Mõned spirohheediliigid pääsevad läbi bakterikurnade. Spirohheete iseloomustavad nende kehalooked

ja keerud. Enamasti käivad keerud spiraalselt pikitelje ümber, kuna loogete kuju muutub ühes spirohheedi liikumisega. Loogete laius ja sügavus on paljudele spirohheetidele iseloomulikud, kuid üldiselt väga muutlikud.

Ehrenberg kirjeldas spirohheete kui ilma kestata mikroobe; teised väidavad aga, et neil esineb kest. Mõnedel suurtel spirohheetidel on leitud kestasarnane ümbrik, mida peetakse tihe-




16. joon. Spirohheetide tüübid. 1 — *Borrelia;* 2 — *Treponema;* 3 — *Leptospira;* 4 — *Cristispira;* 5 — *Saprospira;* 6 — *Spirochaeta.* (Skeem Noguchi järgi.)

daks ja vastupidavaks protoplasma välimiseks kihiks (periplast). Väiksematel spirohheetidel ei ole seda nähtud.

Spirohheetide otstes ja nende pinnal on nähtud niidikesi, mis meenutavad mikroobide vibureid. Lõplikud andmed nende üle puuduvad, kuid paistab tõenäosena, et spirohheetide liikumine ilma viburiteta on üks omadus, mille poolest nad erinevad bakteritest.

Suurte spirohheetide ehituse uurimisel on selgunud, et läbi nende keha kulgeb telgniit, mille ümber asetsevad volutiiniterakesed. Telgniiti peetakse elastseks kehaosaks, mis annab spirohheedile tema kuju, kuna volutiiniteradele antakse tuumasarnane tähendus. Spirohheetidel puudub morfoloogiline tuum ja kromatiiniterad on laiali pillatud kogu kehas, nagu seda bakterite kirjeldamisel tähele panime; ühinedes nad võivad moodustada pulgasarnase või ümmariku kogu. Väikeste spirohheetide kehas võib näha valguskiiri murdvaid terakesi, mida ka tuumolluseks pee-

takse. Värvitud preparaatides näeme spirohheedi kehas kromatiini ja plasma erinevalt värvunud kohtade vaheldust, mis põhjust andis arvata, et spirohheedi keha on kärjesarnase ehitusega.

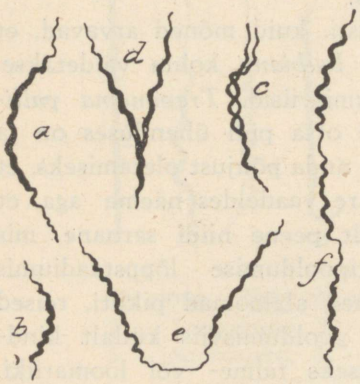
Mõne spirohheediliigi kuju on enam-vähem püsiv, teistel on see muutlik. Näiteks süüfilise tekitajal *(Treponema pallidum)* näeme niipalju kujuvariatsioone, et võimatu on neid kuju alusel iga kord ära tunda. Koes ja koemahlas leidub sageli rõngasarnaseid, kepisarnaseid ja pikki teralisi kujusid, mis degeneratsiooni- või involutsiooniprotsessi meenutavad.

Spirohheedid sigivad peamiselt risti, kuid mõned arvavad, et nad ka pikuti poolduvad. *Cristispira balbianii* kohta väidetakse, et nendel esinevad mõlemad pooldumisviisid. *Treponema pallidum*'il näeme, et kaks indiviidi ühte otsa pidi ühenduses on ja V-sarnase kuju moodustavad, mis võib anda põhjust oletamiseks, et nad pikuti poolduvad. Teisi eksemplare vaadeldes näeme aga, et pikaks veninud spirohheet on keskelt peene niidi sarnane, mis lubab oletada, et see viibib ristipooldumise lõppstaadiumis (17. joon.). Nagu teada, võivad mõned algloomad pikuti, teised aga risti poolduda, seepärast ei ole pooldumisviis küllalt kindlaks aluseks spirohheetide paigutamiseks taime- või loomariiki, mis küsimus on paljude spirohheetide suhtes jäänud vaieldavaks kuni viimase ajani. Spirohheetide sugulise sigimise ja eoste suhtes puuduvad kontrollitud andmed.

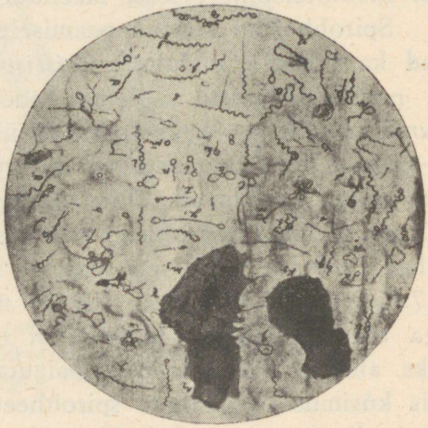
Liikumine on iseloomulik peaaegu igale spirohheediliigile. Liikumise korral pannakse tähele: 1) paindumist, 2) keerlemist oma telje ümber *(rotatio)* ja 3) edasi-tagasi liikumist, mis oleneb nende rotatoorsest liikumisest. Paindumine võib seevõrra järsk olla, et mõlemad pooled teineteisele liginedes kokku palmuvad. Võib näha, et spirohheet elavale paindumisele ja keerlemisele vaatamata iga kord kohta ei muuda. Spirohheedi liikumisfunktsioon võib kaduda, ilma et mikroob sureks. Võtame suhu formamiinitableti, siis jäävad suu spirohheedid seisma; kui neid rippuvas tilgas mõne minuti jooksul mikroskoobis jälgime, siis näeme, kuidas nad pikkamööda toibuvad ja uuesti kiiresti liikuma hakkavad. Samuti mõjuvad spirohheetide liikumisele ebasoodus temperatuur, päikesevalgus jne.

Spirohheetide afiinsus aniliinvärvidele on märksa väiksem kui bakteritel (tahv. I, 13. ja 14. joon.). Elusate spirohheetide morfoloogiat ja liikumist võib edukalt uurida ultramikroskoobi abil. Suureks edusammuks spirohheetide uurimise alal tuleb lugeda nende kultuuride saamist kunstlikes söötmeis, mis on märksa raskem bakterite kultiveerimisest.

Spirohheetidest on tuntud juba väga mitmed liigid. Ühed nendest asuvad saprofüütidena vees, reoveekogudes, roiskuvas




17. joon. *Treponema pallidum.* a ja b — loomulikud vormid; c, d, e ja f — pooldumisastmed (skeem).



18. joon. *Treponema pallidum.* Ülesvõte primaarse skleroosi mahlast.

aines jne. (*Spir. plicatilis, Spir. marina*), teised viibivad nähtavasti saprofüütidena inimese ja looma organismis: suus, roojas, sekreetides (*Borrelia refringens* jt.), kuna kolmandad kuuluvad parasiitide hulka ja võivad esile kutsuda mitmesuguseid haigusprotsesse inimesil ja loomadel, nagu süüfilist (*Treponema pallidum*), korduvat soetõbe (*Borrelia recurrentis*), nakkuselist kollatõbe (*Leptospira icterohaemorrhagiae*), hanede ja kanade spirohhetoosi (*Borrelia anserina* ja *gallinarum*) jt. haigusi (18. ja 19. joon.).

Spirohheedid on osalt energilised orgaanilise aine lõhustajad ja võtavad seepärast osa ainete ringimise bioloogilisest protsessist looduses.

Spirohheetide *(Spirochaetaceae)* klassifikatsioon ei ole veel lõplikult välja kujunenud, seepärast toome siin Noguchi rühmituse vähe muudetud kujul:

1) *Spirochaeta,* elastse keskteljega, mille ümber keerleb spiraalse trepina rakukeha, puudub demonstreeritav periplast.

2) *Cristispira,* spiraalne keha on jaotatud kambritèks pakse-



19. joon. *Leptospira icterohaemorrhagiae.*
(Martin ja Pettit' järgi.)

nenud tsütoplasma vaheseintega, piki rakukeha kulgeb spiraalselt lindisarnane membraan — *crista,* periplast on nähtav.

3) *Saprospira* on ligikaudu sama ehitusega, nagu eelmine, kuid tal puudub *crista,* või seda asendab seljakuna paksenenud periplast.

4) *Treponema,* kitsaste ja võrdlemisi sügavate, kuid reeglipäraste spiraalidega, sageli niidikesena väljaveninud otstega, ilma demonstreeritava *crista*'ta, lagundub 10% saponiinilahuses *(T. pallidum).*

5) *Leptospira,* korrapäraste ja väga tihedate spiraalidega, üks

või mõlemad otsad konksjalt kõverad, liikudes ilmuvad keha sekundaarsed looked, andes kehale E- või S-kuju (*L. icterohaemorrhagiae*), resistentne 10% saponiinilahuse toimele.

6) *Borrelia*, laiade, ebaühtlaste spiraalidega, niidikesega rakuotstes, värvub hästi harilikkude aniliinvärvidega (*B. recurrentis*).

Peale nende on puudulikult kirjeldatud veel hulk teisi spirohheete, kus liigitamine ei ole võimalik.

## Kiirikseened. *Actinomycetes.*

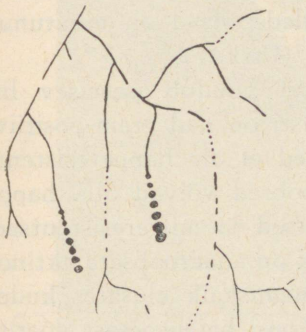
Langenbeck oli nähtavasti esimene, kes 1845. a. leidis kiirikseeni haige inimese mädas. Bollinger avastas neid 1877. a. loomade keele ja lõualuu kasvajates. Praeguse nime *Actinomycetes* andis neile Harz. Israel ja Wolff kultiveerisid neid 1891. a. anaeroobseis tingimusis. Samal aastal avastas Bostroem kiirikseene, mis kasvas aeroobseis tingimusis. Hiljemini selgus, et saprofüütidena leiduvad kiirikseened väljaspool looma ja inimese organismi heintel, viljakõrtel, mullas ja vees.

Kiirikseened sarnanevad mitmeti (pulga kuju, ühtlane värvumine jne.) bakteritega (*Mycobacterium* ja *Corynebacterium*); teisest küljest on neil ühiseid omadusi seentega (okslikud niidid, raku jagunemine oiidisarnaseiks osadeks). Käesoleval ajal kirjeldatakse kiirikseeni iseseisva perekonnana (*Actinomycetes*), asetades neid bakterite (*Schizomycetes*) klassi. Nad kuuluvad nähtavasti nende bakterite hulka, mida peetakse maapealse elu pioneerideks.

Aeroobse kiirikseene keha kujutab ilma vaheseinteta, okslikku, ainurakset niiti. Niidi läbimõõt kõigub 0,5 ja 1 $\mu$ vahel. Niidisarnases rakus võib mõningail juhtumeil näha protoplasma tükeldust ja intervallide tekkimist, millele järgneb niidi jagunemine pulgakesiks või kokisarnaseiks kehakesiks (20. joon.). Kiirikseene noored niidid värvuvad tuumavärvidega ühtlaselt, kusjuures ainult üksikud terad värvuvad intensiivsemalt. Anaeroobsed kiirikseened esinevad kultuuris nuiasarnaste otstega, mõnikord okslikkude pulgakestena ja sarnanevad korünebakteritega; läbimõõt keskmiselt 0,6 $\mu$, pikkus 3—4 $\mu$ (21. joon.).

Jälgides aktinomütseetide arenemiskäiku kultuurides näeme,

et niitide külge ilmuvad mõne aja järel õhukoniidid ehk oiidid (eosed), mis on helmestereana ühenduses ja paistavad varustamata silmale valge kriidipulbrina. Kujult on oiidid ümmarikud, sõõrjad või pikergused. Niitide pind, veel sagedamini aga oiidide pind, on limane, mille tõttu oiidid kokku kleepuvad, nii et niidi otsas mütsisarnane ebasporangium tekib. Niitide ja oiidide kestas leidub üksikuil juhtumeil pigmenti. Oiidide läbimõõt vastab harilikult niidi läbimõõdule, kuid aktinomütseetide



20. joon. *Actinomyces bovis*. Niidi ehitus ja jagunemine.



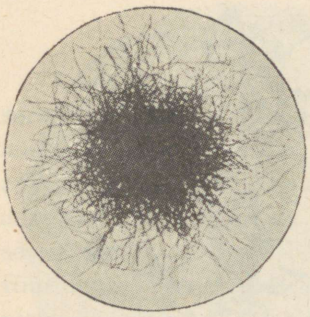
21. joon. Anaeroobne kiirikseen kultuurist (× 1000).

involutsioonivormide oiidid võivad olla mitu korda suuremad kui harilikult. Vanades kultuurides ei leidu mõnikord niite, vaid esinevad ainult oiidid.

Agarsöötmel kasvavad aeroobsed aktinomütseedid 24 t. kestel võrdlemisi suurte, ümmarikude, teraliste, ebaühtlaste servadega, sageli pigmenteeritud pesadena, kuna anaeroobsete aktinomütseetide pesad on väiksemad, kompaktsed, valkjad ja ilmuvad 3.—4. kasvupäeval. Puljongis kasvavad aeroobid söötme pinnal kõva pigmenteeritud nahakesena; viimase pinnal tekib oiididest koosnev kriidisarnane tolm. Mõnikord tekivad põhjalangevad ebemed ja anaeroobide kasvu korral kareda pinnaga terad söötme

põhjas. Oiididest kasvanud lühikesed niitide võsud lagunevad kiiresti ümmarikkudeks või sõõrjaiks oiidideks. Säärasel korral näeme sademest valmistatud preparaadis kepi- või munataolisi organisme, mis baktereid meenutavad ja vilumatu uurija kergesti võivad eksiteele viia.

Vedelais söötmeis kasvavad vanas kultuuris sageli iseloomulikud aktinomütseetide terad (pesad), mis aja jooksul omandavad ümmariku kuju ja pruuni värvuse (22. joon.). Teri pooleks lõigates leiame, et nende keskosa on ehitatud tihedalt kokkupõimitud seeneniitidest, kuna pinnal esinevad vabalt asetatud niidid, millede otsad on muutunud nuiasarnaseiks (Orskov).

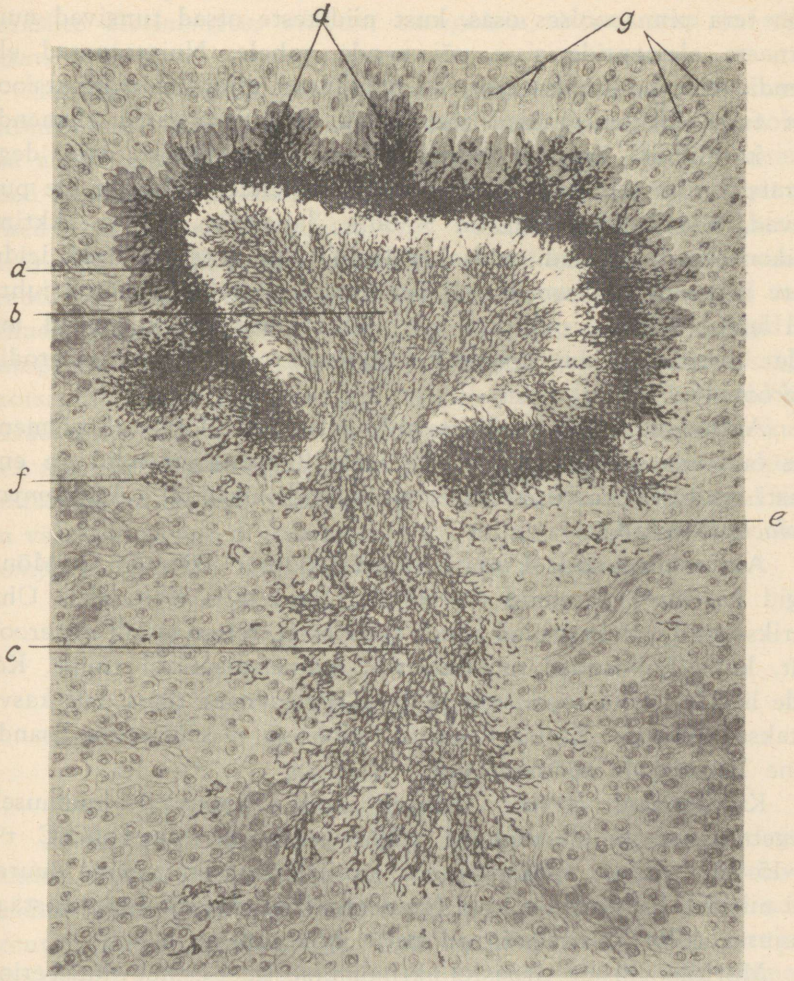


22. joon. Kiirikseene pesa kokkupõimitud niitidest.

Kiirikseentel puudub iseseisev liikumine; enamasti on nad gram-positiivsed; anaeroobsed ei ole happeresistentsed, kuna aeroobsed võivad olla happe suhtes resistentsed ja mitteresistentsed.

Iseloomulik on anaeroobsete aktinomütseetide arenemiskäik elusates kudedes. Aktinomükoosi haiguspesast võetud mädas ja koes leiame nööpnõelapeasuurusi valkjaid, rohekaid või pruunikaid terakesi (druuse). Noored terad on läbipaistvad, limatükikeste või saagoterade sarnased, sileda pinnaga ja pehmed. Vanad terad on lubjastunud ning kõvad. Aktinomükoositerade ehituse uurimiseks võetakse traataasaga või nõelaga üks tera esemeklaasile, kaetakse väikese kateklaasiga, litsutakse puruks ja vaadatakse mikroskoobis. Värvitud preparaadi saamiseks hõõrutakse tera klaasil puruks, lastakse kuivada ja fikseeritakse alkohol+eeter ää lahusega. Värvitakse siis Grami meetodi järgi; pärast absoluutse alkoholiga toimimist värvitakse järele eosiiniga või safraniiniga (tahv. I, 17. joon.).

Igas teras võib näha keskosa, mis kujutab mütseeli, ja pinnaosa, mis on ehitatud nuiasarnastest elementidest (kiired). Mütseeliniidid on gram-positiivsed, nuiasarnased elemendid aga gram-negatiivsed (23. joon.). Mütseel on ehitatud kokkupõimitud niidi-




23. joon. Lõik veise lõualuu aktinomükoosihaigest koest. a — tihe niidipõimik; b — keskosa niidipõimik; c — koesse tungiv juureniidistik; d — kolvid; e ja f — kepikeste ja terakeste kogud; g — koe rakulised elemendid. (Schlegel'i järgi.)

kestest, kepikestest ja eostest (oiididest). Niidipõimik on tihedam tera pinnapoolses osas, kust niidikeste otsad tungivad nuiasarnaste elementide sisse või nende vahele. Nuiasarnased elemendid ehk kolvid kujutavad nähtavasti niidi transformatsiooni üht faasi. Paljud autorid tõendavad, et nuiasarnased elemendid on kordlikud limamütsikesed seeneniitide otstes või degeneratsiooninähud, kuid lõplikud andmed nende tekkimise üle puuduvad. Nuiakeste pikkus on 5—30 $\mu$, läbimõõt 2—18 $\mu$. Aktinomükoosipesast saadud mädas ei leidu alati terakesi, vaid leidub niite ja nende väiksemaid või suuremaid põimikuid; mõnel juhtumil leidub lühikesi pulgakesi või väikeste kokkide kogumeid, millede avastamine on võimalik värvimise abil Grami meetodiga (aeroobid).

Aktinomütseedid valmistavad kasvades söötmetel pigmenti, mis on enam-vähem iseloomulik igale liigile. Pigmendid on enamasti amorfsed ja kristalliseeruvad ainult üksikuil (*Actinomyces violaceus*) liikidel.

Aktinomütseetide kasvuks on soodus t° 30°—37° C. Mõned liigid kasvavad paremini 6°—30° C, teised 40°—70° C t°-s. Ühed kiirikseene liigid kasvavad ainult aeroobselt, teised ainult anaeroobselt, kuna kolmandad moodustavad intermediaarseid tüüpe. Kõikide liikide kasvu soodustab 10% $CO_2$ esinemine õhus, kus kasvatatakse kultuure. Kasvu soodustab glükoosi ja glütseriini lisandamine kunstlikule söötmele.

Kiirikseened ei ole eriliselt resistentsed kuumusele. Vegetatiivsed niidid surevad rõske kuumuse toimel 60° C t°-s 5—15 min. vältel; oiidide (eoste) resistentsus on märksa suurem kui niitidel. Kultuurid elavad toasoojuses kuude vältel; termostaadi soojuses (37° C) surevad nad palju kiiremini.

Morfoloogiliselt sarnastel aktinomütseetidel esineb olulisi erinevusi bioloogilistes ja füsioloogilistes omadustes (suhkrute fermentatsioon, antigeensed omadused jt.), mida tuleb arvesse võtta nende organismide liigitamisel. Vaatamata hulgale katsetele (Lieske, Ørskov jt.), kus on siirdutud mitmesugustest lähtekohtadest, ei ole veel õnnestunud koostada üldiselt pooldatavat aktinomütseetide klassifikatsiooni. Loomadele patogeenseist mai-

nime *Actinomyces bovis, hominis, madurae, asteroides* ja taimeparasiite *Actinomyces scabies, aerugineus, incanescens* ja *nigrificans.*

Aktinomütseetide perekond on suur, nende ülesanded väga mitmekesised. Saprofüütidena võtavad nad (peamiselt aeroobid) osa ainete ringimise suurest protsessist looduses. Nad on energilised hapendajad ja edendavad humifikatsiooniprotsessi maapinnas. Ühed aktinomütseedid lammutavad valkusid, teised tselluloosi ja tärklisollust, kolmandad toimetavad nitrifikatsiooni. Aktinomütseedid on seega tüüpilised roiskumisprotsesside põhjustajad maapinnas, järvede, merede ja ookeanide põhjas. Mõned liigid on patogeensed taimedele (kartulile jt.) ja tekitavad viimastes haigusprotsesse. Inimesele ja loomadele patogeensed aktinomütseedid kutsuvad esile raskeid kroonilisi haigusprotsesse mitmesugustes kudedes, mida kutsutakse aktinomükoosiks. Anaeroobsed aktinomütseedid on märksa patogeensemad kui aeroobsed. Mõlemad liigid on vähe patogeensed katseloomadele, välja arvatud aeroobne *Actinomyces asteroides*, mis surmab jäneseid ja merisigu.

## III peatükk.

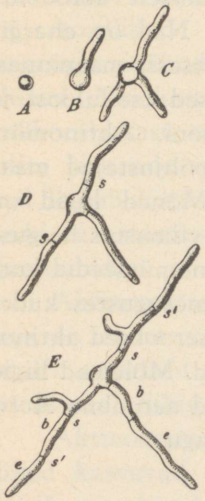
## Seened. *Mycetes.*

Seente ehk ilma klorofüllita seentaimede ligem käsitlemine kuulub mükoloogiale, mis on arenenud suureks iseseisvaks teadusharuks. Üldises mikrobioloogias piirdutakse tavaliselt nende seente üldise kirjeldusega, mis põhjustavad haigusprotsesse (mükoose) inimese ja loomade nahal, kudedes ja osalt taimedes (obligaatsed ja fakultatiivsed parasiidid).

Seente olulisemaks omaduseks on seeneniidistiku ehk võrgu *(mycelium)* punumine seeneniitidest *(hyphae)*. Niidistik on seene vegetatiivne organ, mis kogub toiteainete tagavarasid viljakehade ja eoste moodustamiseks.

Soodsais tingimusis arenevad idanevast eosest seeneniidid,

mis on ladva kasvuga ja hargnevad dihhotoomiliselt või lateraalselt, andes seent iseloomustava seeneniidistiku (24. joon.). Viimase võib mõnedel seentel moodustada üksainus haraline rakk, kusjuures seeneniidid on ilma vaheseinteta *(Phycomycetes)*. Teistel on seeneniidid vaheseintega ja mütseel seepärast paljurakne *(Ascomycetes)*. Ürgseentel *(Archimycetes)* puuduvad rakud, seeneniidid ja seeneniidistik. Viimase aset täidab paljas, ilma kindla kujuta limakeha (limastik ehk plasmoodium).




24. joon. Eose (koniidi) arenemine *(Penicillium glaucum)*. A — eos; B ja C — idupõisikute tekkimine; D ja E — vaheseinad (s ja $s^1$) arenevas niidis. (Zopf'i järgi.)

Iseloomulik okslikkude võsude sarnane mütseel tekib punguvatel seentel *(Saccharomycetes* jt.). Emaraku, mis sageli võib kasvada pikaks niidiks, pinnal tekivad pungadena tütarrakud; need jäävad ühendusse emarakuga, vaatamata nende vahel arenenud vaheseintele. Korduva pungumise tagajärjel kujuneb p u n g u m i s m ü t s e e l.

Ebasoodsais tingimusis koondub mõnedel seentel protoplasma ühtedest mütseeli niitidest teistesse, mis kiiresti hargnevad ja kokku põimudes moodustavad ümmariku, pseudoparenhüümisarnase massi. Pruunikas või punakas tihe väliskiht on säärasele seenemügarale *(sclerotium'*ile) heaks katiseks *(Claviceps purpurea*, tungaltera).

Olenedes kasvutingimusist, võivad seened omandada väga mitmesugust kuju, mis raskendab nende diferentsimist, seepärast peab neid kasvatama erilisil söötmeil, kus tekivad iseloomulikud kujud. Säärast kohastumise või variatsiooni fenomeni ei tule lugeda pleomorfismiks.

Seened, mis kuuluvad *Euthallophyta* ehk pärisrakistaimede hõimkonda ja *Mycetes* ehk seentaimede alahõimkonda, rühmitatakse järgmistesse klassidesse:

I. *Archimycetes* ehk ü r g s e e n e d; seeneniiti asendab paljutuumaline limastik *(plasmodium)*. Limastikust tekivad eospesad

rohkearvuliste eostega, mis arenevad idanedes vibukaga rändeoseiks (zoospoor) ja hiljem limaamööbiks muutuvad. Limaamöövbist areneb peale paariviisi kopuleerumist uus limastik. Viimane elutseb parasiidina taimerakkudes või toitub kõdunevaist taimeosadest.

II. *Phycomycetes* ehk vetikseened; seeneniidid on ainuraksed.

III. *Ascomycetes* ehk kottseened; mütseel paljurakne, eosed on eoskotis.

IV. *Basidiomycetes* ehk kandseened; mütseel paljurakne, eosed on eoskandadel.

V. *Fungi imperfecti* ehk mitmesugused seened; mütseel paljurakne, suguline sigimine tundmatu.

## Hallitusseened *(Eumycetes).*

Juba ammusest ajast tuntakse hallitusseentena vetikseente *(Pycomycetes)* klassist *Mucoraceae* sugukonda ja kottseentest *(Ascomycetes)* peamiselt *Aspergillus*'e ja *Penicillium*'i perekondadesse kuuluvaid liike, mis on patogeensed inimesele, loomadele ja ka taimedele. Kandseentest on roosteseened *(Uredinales)* kultuurtaimedele kõige sagedasemaiks haigusetekitajaiks.

Seeneniiti ümbritseb kest (membraan), mis on kahe- või mitmekordne ja sisaldab peamiselt tselluloosi, vähem pektiini, kitiini, sageli pigmenti ja mitmesuguseid teisi aineid. Kest laseb kergesti läbi värvaineid ja teisi substantse. Rakutuum sarnaneb üldiselt kõrgemate taimede rakutuumaga ja jaguneb segmentatsiooni, mitoosi, harvemini fragmentatsiooni teel (redutseeritud mitoos). Kolloidses tsütoplasmas võib näha teralisi moodustisi — mikrosoome ja suuremaid tsütosoome. Pulsseeruvalt voolav tsütoplasma kannab toiteaineid seeneniidi kasvutippu. Tsütoplasmas esinevad rakumahla sisaldavad vakuoolid, volutiin, glükogeen, õlitilgad, lipoidide terakesed, tõrvaine ja mitmesuguste soolade kristallid, kuid ei esine tärklist.

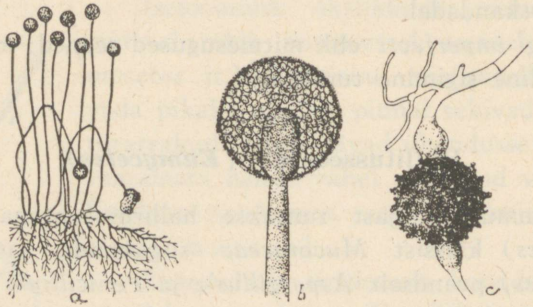
Sigimine on suguline ja suguta, kusjuures on võimalik suguliste ja suguta generatsioonide vaheldus.

Suguta sigimine. Eosed tekivad:

1) endogeenselt seeneniidis (endospoor), vastavas emarakus, nagu bakteritelgi.

2) Spoorid tekivad ja valmivad sellekohaselt muutunud ümmarikkudes, sõõrjates või pikergustes eospesades — sporangiumides. Valminud eosed vabanevad sporangiumi seina katkemise või selle lõhustumise tagajärjel (25. joon.).

3) Eosed tekivad eksogeenselt seeneniitide eriliste oksakeste (koniidide kandja) otsas, mida nimetatakse siis koniidideks ehk lülieosteks. Koniidide kandjad võivad jagunedes moodustada koniide kolmel viisil: a) kandja otsast lülituvad kord-korralt noored koniidid; kandja ise kasvab pikemaks ja kõige vanem koniid asub koniidide keti välimisel otsal; b) emakoniid võib pungumise teel anda noore tütarkoniidi, ja c) koniidid lülituvad kandja arvel, kusjuures viimane kord-korralt lühemaks jääb või täielikult jaguneb üksikuteks koniidideks (26. joon.).



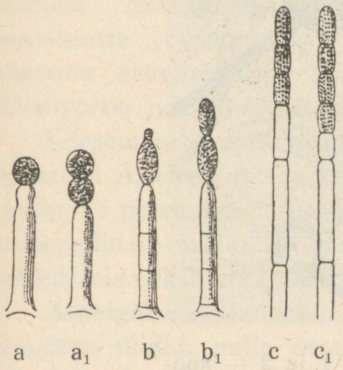

25. joon. *Mucor mucedo*. a — seeneniidistik eospesadega; b — eospesa *(sporangium)*; c — seigeos (sügospoor).

4) Seeneniitides tekivad pundunud kohad, kuhu naaberrakkude protoplasma on koondunud. Protoplasmavabad rakud mõlemal pool surevad ja pundunud kohas tekkiv eos vabaneb (klamüdospoor). Viimane on kaetud mitmekordse paksu kestaga (püsieos) (27. joon.).

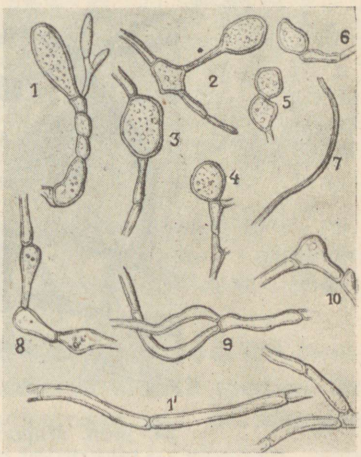
Suguline sigimisprotsess.

1) Isogaamia, kus kaks suguliselt diferentseerumata, ühe või kahe indiviidi seeneniidi-osa punduvad, üksteisele liginevad ja liituvad, millest tekib seigeos — sügospoor (28. joon. 6, 7, 8); see on kaetud paksu kestaga.

2) Oogaamia, kus liikuv spermatozoidi-sarnane isarakk *(antheridium)* tungib ümmariku emaraku *(oogonium)* sisse ja annab munaseose — oospoori *(Oomycetes)*.




26. joon. Koniidide tekkimine. a ja $a_1$ — lülitumine kasvava kandja otsast; b ja $b_1$ — emakoniidi pungumine; c ja $c_1$ — lülitumine kandja arvel. (Zopf'i järgi.)



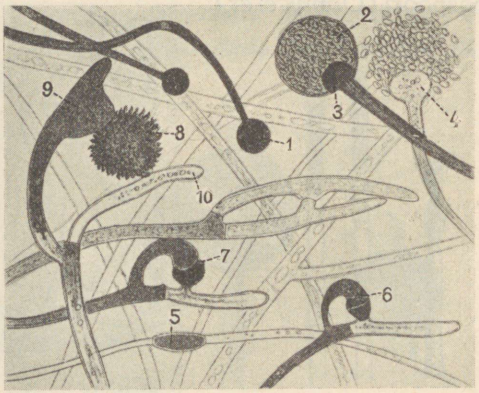

27. joon. Klamüdospoorid *(Sterigmatocystis nidulans)*. 1 — 6 — klamüdospooride tüübid (terminaalsed ja interkalaarsed); 7—10 — seeneniidid. (Brumpt'i järgi.)

3) Askospoorid, kus alul liituvad kaks morfoloogiliselt sarnast või erinevat niidiotsa, millele järgneb eosla *(ascus)* tekkimine. Ema- ja isatuuma liitumisel tekkinud kott-tuum võib korduvalt poolduda, andes vastava arvu eostuumi, kus tekib sama arv kotteoseid ehk askospoore.

4) Basidiospoori tekkimisel areneb alul kahetuumasest seeneniidist eoskand *(basidium)*, kus tuumad pärast ühtimist alustavad jagunemist, mille järel tekib 2—4 tütartuuma. Ühtlasi tekib eoskanna tipul sama arv puhetisi, milledesse rändavad iga-

ühte üks tuum. Igast puhetisest ühes tuumaga areneb üks kandeos (basidiospoor), mis valmimiseni eostoe (*sterigma*) abil eoskanna külge kinnitub (*Basidiomycetes*, 29. joon.).

Ühekordse kestaga eoste idanemisel surub paisuv protoplasma kesta ühest kohast võlvina välja, moodustades idupõisiku, mis edasi areneb seeneniidiks. Kahekordse kestaga eoste idanemisel murdub väliskest (*exosporium*) ja seesmine (*endosporium*) moo-

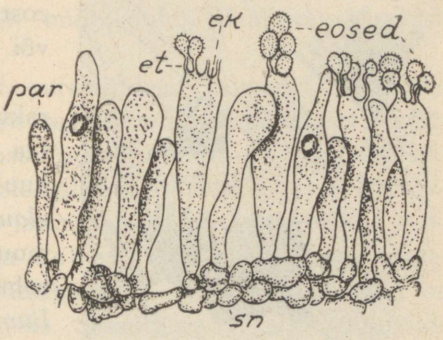



28. joon. *Mucor Moelleri*. 1 ja 2 — sporangiumid; 2 ja 4 — kolumellad; 5 — klamüdospoor; 6, 7 ja 8 — sügospoori arenemiskäik. (M. Langeron'i järgi.)

dustab idukoti samuti, kui ühe kestaga eos idanemisel. Mõnel liigil on kestas iduurbed, millede kaudu kasvab välja idukott. Idanemise kiirus oleneb mitmesugustest välismõjudest (hapnikust, temperatuurist, pH jt.).

Hulgast senituntud hallitusseentest peatume lühidalt vaid üksikute juures. Laialt tuntud on looduses *Mucoraceae* ehk nutthallitused, mis kuuluvad vetikseente (*Phycomycetes*) klassi. Nende seente väga haraline mütseel kujutab ühtainust suurt rakku. Mütseeli pealt kasvavad üles eospesade kandjad (sporangiumide kandjad), mille otsast leiame üherakulise ümmariku eospesa, mis on täidetud sõõrjate, kestaga kaetud eostega. Eospesa kandja ots tungib osalt eospesa sisse ja on viimasele aluseks. Seda osa eospesa

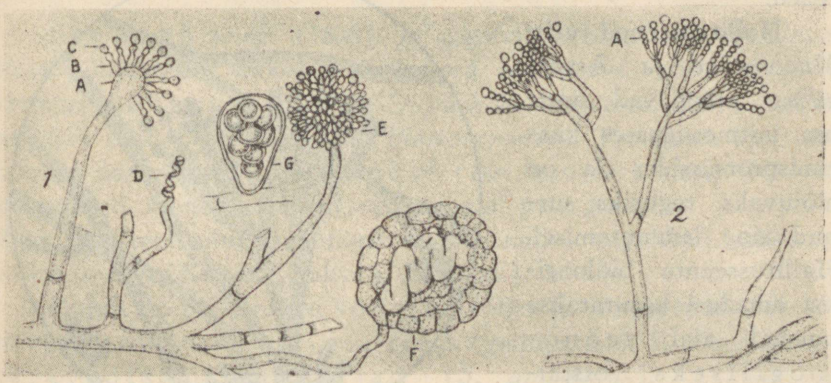
kandjast nimetatakse *columella*'ks, mis oma suuruselt ja kujult on iseloomulik igale liigile. Mõnel liigil on eospesakandjad okslikud, kus iga oksa otsas esineb eospesa. Pärast eoste valmimist katkeb eospesa kest ja vabanevad eosed. Üksikutel liikidel leiame eospesa alt väikese põiekese, mis lõhkedes eospesa ühes eostega eemale paiskab. *Mucoraceae* suguline protsess toimub enamasti munaseoste (oospoorid) või seigeoste (sügospoorid) abil *(Oomycetes* ja *Zygomycetes)*.




29. joon. *Basidiomycetes*. ek — eoskand; et — eostugi; par — parafüüs; sn — seeneniidid. (Lepik'u järgi.)

Kõrgemate seente hulka kuuluvad *Aspergillus*'e ja *Penicillium*'i perekonnad. Nende seeneniidid on okslikud, paljuraksed, mis paksu võrguna kasvavad orgaanilistel ainetel (30. joon.).

*Aspergillus*'e seeneniidi küljest kasvavad üles üherakused, ilma harudeta niidid, mille otsas on kuulisarnane pea — *capitulum*, mis kannab oma pinnal eostugesid *(sterigma)*; viimaste otstes




30. joon. 1 — *Aspergillus glaucus*. A — *capitulum;* B — eostugi; C — koniidid; G — *ascus* eostega; F — *perithecium*. 2 — *Penicillium;* A — eosed. (De Bary järgi.)

asub ketisarnane koniidide rida. *Aspergillus*'e koniidid on ümmarikud, sileda pinnaga või kaetud väikeste okastega. Mütseel on noorelt valge, muutub aga pärast eoste tekkimist kollaseks, pruuniks või mustaks (31. joon.).

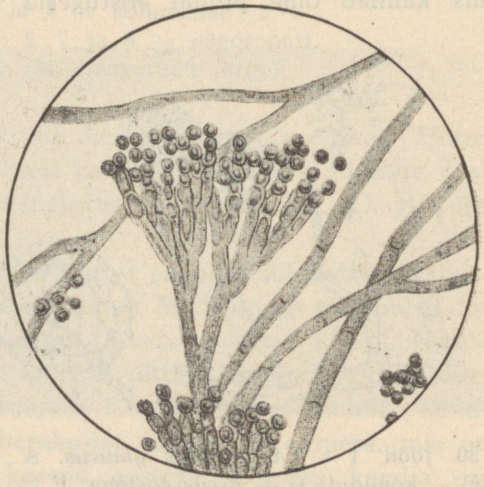



31. joon. *Aspergillus fumigatus*. (M. Langeron'i järgi.)

*Penicillium*'i eostoed on paljurakused, pintslisarnaselt haralised. Iga haru kannab enda otsas rida kuulisarnaseid eoseid. *Penicillium glaucum*'i mütseel on noorelt valge, muutub aga pärast eoste tekkimist rohelise muru sarnaseks. *Penicillium brevicaule* mütseel jääb ka pärast eoste tekkimist valgeks (32. joon.).

Peale suguta sigimise võib nendel kottseentel tähele panna ka sugulist sigimist askospooride abil, kus kahetuumasest niidist (askogeensest hüüfist) arenevad eoskotid. Ühinenud tuum jaguneb 4, 8, 16, 32 jne. tütartuumaks ning arenevad kotteosed.

Hallitusseened, eriti *Mucoraceae* ja *Aspergillus*, etendavad suurt osa mitmesugustes käärimisprotsessides ja on mõjuvaks teguriks surnud aine lammutamisel. Hallitusseente bioloogilisi omadusi kasutatakse uuemal ajal tehnoloogiliseks otstarbeks. Nii on tuttav, et paljud neist (*Mucoraceae* ja *Aspergillus*) val-



32. joon. *Penicillium glaucum*.

mistavad diastaatilist ensüümi, mis tärklist lõhustab ja seda suhkruks muudab. Suhkrust võib aga kergesti pärmide abil saada alkoholi. *Citromyces pfefferianus* ja *Citromyces glabra* kutsuvad esile isesugust käärimist, mille puhul dekstroosist tekib sidrunhape.

Hallitusseeni leidub sageli parasiitidena taimedel, loomadel ja inimestel. Taimehaigustest on sagedamad: ebajahukaste, jahukaste, tungalpea, seenvähk, rooste jne. Inimestel ja loomadel leiduvad väga mitmesugused patoloogilised protsessid — mükoosid, mida *Mucoraceae* kudedes ja organites esile kutsuvad. *Aspergillus*'e liigid võivad põhjustada aspergilloosi kopsus, kudedes ja organismi koobastes (mütsetoomid). *Aspergillus flavus* on mesilaste mükoosi tekitajaks. Samuti on tuntud siidiusside mükoosid, mis sageli kaasa toovad suurt kahju siiditööstuses. Mitmed *Mucor*'i, *Aspergillus*'e ja *Penicillium*'i liigid valmistavad termostabiilset neurotoksiini, mis põhjustab krampe ja halvatusi. Hallitusseened valmistavad toksiini ainult kevadel ja suvel, mitte aga talvel (Ceni ja Besta, Otto jt).

## Pärmseened. *Saccharomycetes.*

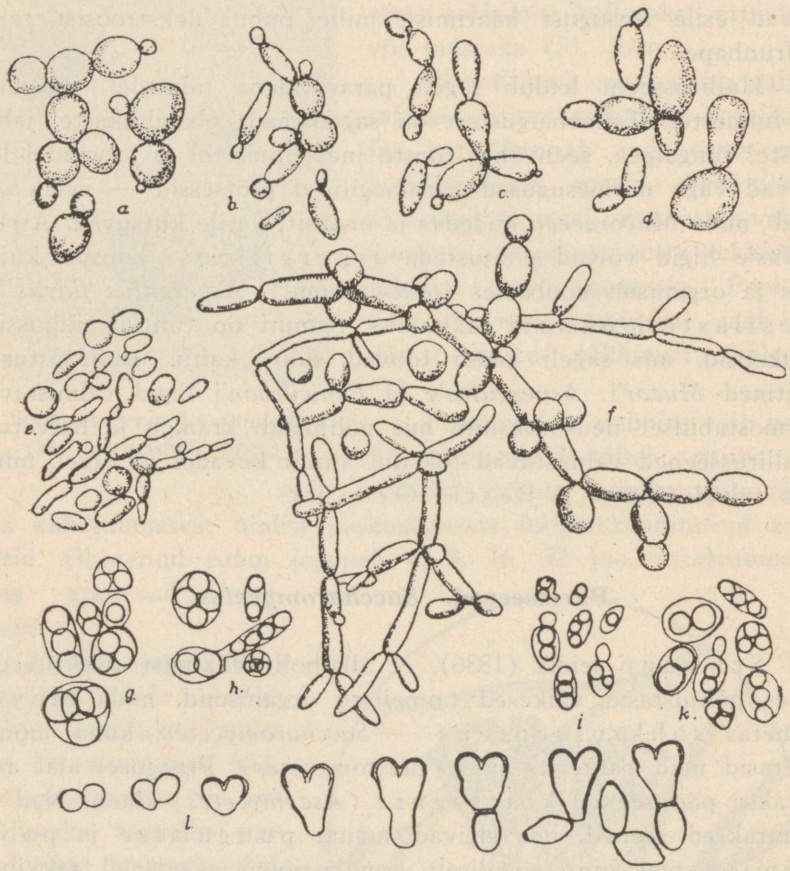
Schwann leidis (1836), et alkoholi tekkimist suhkruvedelikes põhjustasid väikesed taimelised organismid, mida Meyen nimetas suhkruseenteks — *Saccharomycetes*, kuna mõned asetasid neid bakterite liiki *(Blastomycetes)*. Praegusel ajal asetatakse pärmseened kottseente *(Ascomycetes)* klassi. Nad on ainuraksed seened, mis sigivad suguta pungumise ja pooldumise teel ning suguliselt kopulatsiooni tagajärjel tekkinud askospooride abil (tahv. I, 15. joon.).

Kujult on pärmirakud sõõrjad (õlle- ja viinapärmid, *Saccharomyces cerevisiae)*, elliptilised (veinipärmid, *S. ellipsoideus)*, teravaotsalised-sõõrjad *(S. apiculatus)*, niidi- ja amööbitaolised. Pärmirakkudel puudub iseseisev liikumine. Nende suurus ja kuju olenevad suurel määral kasvutemperatuurist ja toiteainest (33. joon.).



TRU Raamatukogu

Pärmirakk koosneb kestast ja tsütoplasmast. Noorte rakkude kest on õhuke, vanadel märksa paksem. Noortes rakkudes on tsütoplasma ühtlane, vanades rakkudes näeme pinnapoolses

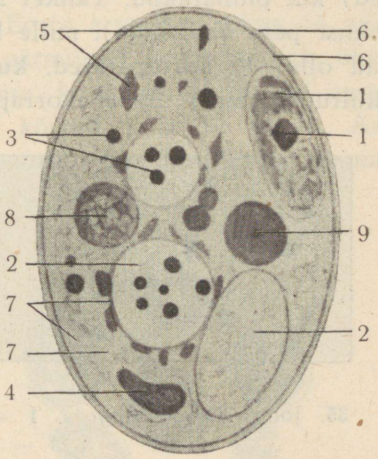



33. joon. *Saccharomyces* (skeem). a — *S. cerevisiae;* b — *S. validus;* c, e ja f — *S. ellipsoideus;* d — *S. turbidans;* h — *S. pastorianus;* g, h, i ja k — eostega rakud; 1 — eoste idanemine *(S. ludwigii).*

osas homogeenset protoplasmat, kuna keskmine osa sisaldab vakuoole, väikesi terakesi rasvatilkade ja glükogeeni lademete näol. Vahel tekib kestal limakiht, mistõttu rakud ühte klee-

puvad ja kääriva vedeliku pinnal kelme moodustavad. Kestast on leitud tselluloosisarnast ainet, tärklist, dekstriini, pektiini ja mitmesuguseid mineraalaineid.

Pärmirakkudes leiame morfoloogiliselt enam-vähem diferentseerunud tuuma *(nucleus)*, mida võib värvida Giemsa lahusega, Heidenhaini raua-hematoksüliiniga, safraniiniga või hapu fuksiiniga. Tuum on enamasti ümmarik ja jaguneb lihtsustatud karüokineesi teel. Esineb ka mitme tuumaga pärmirakke (34. joon.).




34. joon. Pärmiraku ehitus (skeem). 1 — tuum; 2 — vakuoolid; 3 — metakromaatilised kehad; 4 — õlitilgad; 5 — kristallid; 6 — rakukest; 7 — tsütoplasma; 8 — õlikehakesed; 9 — glükogeeni tilk.

Pärast korduvat pungumist järgneb rakkude puhkejärk, kus ilmuvad, kohastudes ümbruse mõjudega, p u h k a v a d r a k u d *(cellules durables)* ja e o s e d. Puhkavad rakud on kaetud kahekordse kestaga; nad on püsivad tõu alalhoidjad ja hakkavad uuesti sigima soodsais elutingimusis (35. joon.).

Pungumise ajal näeme, et raku pinnal tekivad ühes või mitmes kohas väikesed pungad, mis kasvavad kiiresti emaraku suuruseks ja omakorda annavad uusi pungi, millede ühendusse jäämise korral tekivad tihti okslikud võsud (36. joon.). Pungumine kestab heades tingimustes keskmiselt 2 tundi. H a n s e n ja teised leidsid, et pärmide pungumine on kõige kiirem 22—28° C t°-s, kuid pungumistemperatuuri maksimum ja miinimum (piirtemperatuurid) kõiguvad väga laiades piirides: 5—34° C. Kõige soodsam on kasvuks põhjapärmidele söötme pH 4,8, pinnapärmidele pH 3,0—6,0. Õhu küllaldane juurdepääs kiirendab pungumist ja tõstab pärmi saaki. Pärmseente alalhoidmiseks (konservimiseks) on eriliselt soodus 10% sahharoosilahus.

Kääriva vedeliku pinnale tekib tihti kelme, mis koosneb piklikkude pärmirakkude võsudest, meenutades seene niidistikku. Kelme saab alguse söötme pinnal tekkinud saarekestest või söötmepinna rõngast nõu seintel. Kääriva vedeliku põhjas esinevad pärmirakud on hoopis teise kujuga (ümmarikud või ovaalsed) kui pinnarakud. Tahkel želatiinsöötmel kasvab ühest pärmirakust pesa (koloonia), mille kuju oleneb pärmiliigist. Pesad võivad olla: 1) korrapärased, kuuli-, poolkuuli- või läätsekujulised (kultuurpärmid); 2) ebakorrapärased, kus pesa keskosa sarnaneb




35. joon. *Saccharomyces*. 1 — pungumine; 2 — puhkav rakk; 3 — kotteosed.

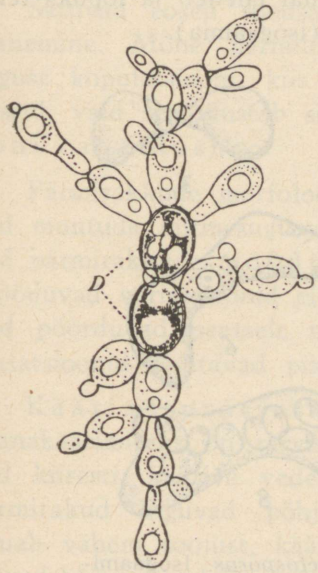
eelmisega, kuid pesa servast kasvavad välja pungumisvõsud, kas ühest kohast (lõhkeva mürsu kuju), mitmest kohast (polüübi kuju) või kogu pesa pinna ümber (kiirtevaniku kuju); 3) emarakust kasvavad algusest peale pungumisvõsud, mis on asetatud korratult (metsikud pärmid). Kui söötme pinnale satub ühte kohta mitu pärmirakku, siis areneb nende sigimise tagajärjel h i i g l a p e s a, mille kuju on iseloomulik vastava pärmi liigile ja võimaldab selle määramist.

Jagunemine pooldumise teel on iseloomulik *Schizosaccharomyces*'ele, kus rakkudes tekivad alul vaheseinad, millele järgneb pooldumine. Tihti kasvab pärmirakk pikaks niidiks, kus tekib mitu risti-vaheseina, ja rakk jaguneb mitmeks tütarrakuks.

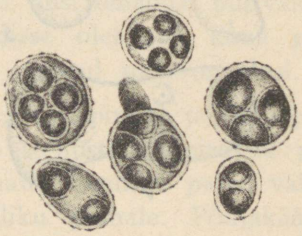
Paljudel pärmseentel tekivad vastavais tingimusis halbadele mõjudele vastupidavad e o s e d (askospoorid). Nende tekkimist võib ligemalt jälgida, kui kasvatatakse pärmi söötmel, mis sisal-

dab vähe toiteainet (porgandil, kipsplaadil või Gorodkova söötmel: 1% agar-agarit, 1% lihaekstrakti, 1% peptooni, $^1/_2$% NaCl ja $^1/_4$% glükoosi). Hansen nägi, et eoste tekkimiseks on tarvilik hea õhustus ehk aeratsioon, soodus t° (28° C), rõskus ja toiteaine raskendatud juurdepääs rakkudele.

Eoste arv ühes rakus on mõnel pärmiliigil iseloomulikult ühesugune, kuna teistel liikidel eoste arv kõigub 1 ja 12 vahel. Askospoorid on harilikult ümma-




36. joon. Pärmiraku pungumine okslikkude võsudena (skeem).

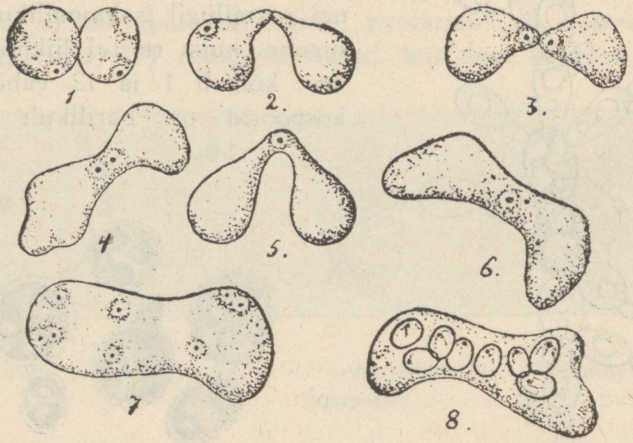


37. joon. *Saccharomyces cerevisiae*. Askospoorid. (Gotschlich-Schürmanni järgi.)

rikud ja nende kest on enamasti sile, ainult üksikuil juhtudel on ta mügarlik. Askospoorid on happeresistentsed (37. joon.).

Eosed tekivad suguta ja suguliselt. Suguta eoste tekkimine — partenogenees ehk neitsissünd — tuleb ilmsiks Guilliermond'i arvates niisuguseil juhtumeil, kui kaks pärmirakku olid valmis suguliseks liitumiseks, kuid teadmata põhjustel jäi sugulise protsessi arenemine seisma ja igas rakus tekkis partenogeneetiliselt üks eos. Suguliselt tekivad eosed kopulatsiooni teel: kaks ühetuumast rakku liginevad teineteisele ja kummagi

pinnal tekib nokasarnane puhetis; nokad puutuvad teineteisega kokku, rakutuumad liiguvad raku otstesse, siis katkevad rakkude vaheseinad ja tekib kopulatsioonikanal, mille kaudu ühtivad mõlemad tuumad (38. joon.). Ühtinud tuum jaguneb mitmeks, vastavalt eoste arvule, kopulatsioonikanal laieneb ja lõpuks tekib eoskott (askus) endogeensete eostega (isogaamia).




38. joon. *Schizosaccharomyces octosporus*. Isogaamiline protsess: 1—7 — suguline ühtimine; 8 — askus 8 eosega. (Guilliermond'i järgi.)

Teistel pärmirakkudel leiame, et kopulatsiooniprotsessi ajal ühe raku sisaldis voolab kanali kaudu teise täiesti sarnasesse rakku, kus need mõlemad ühtivad. Ühtinud rakk muutub eoskotiks, mis sisaldab eoseid. Sel korral on ühtivad rakud morfoloogiliselt sarnased, kuid võib juba vahet teha isa- ja emaraku vahel. Seesugune suguline protsess on üleminekuks isogaamiast heterogaamiasse.

Heterogaamilises protsessis näeme, et üks ühtivaist rakest morfoloogiliselt erineb teisest ja algusest peale on võimalik vahet teha isa- ja emaraku vahel. Pärast ühtimist emarakk eraldub isarakust vaheseina läbi ja muutub eoskotiks. Isarakk

viibib veel mõnda aega emaraku pinna küljes ja kaob pärast täielikult. Pärmirakkude mõlemad sugulised protsessid, isogaamia ja heterogaamia, kannavad üldist nimetust *endogaamia*, mis näitab, et kopulatsiooniprodukt ehk ühtimissaadus jääb raku sisse.

Satuvad eosed soodsaisse elutingimusisse, siis algab nende idanemine. Mõne pärmiliigi arenemiskäigus võib märgata niisugust kopulatsiooni, kus kopulatsiooniproduktist ei teki enam eoseid, vaid see alustab sigimist pungumise teel (*generatsiooni vaheldus*).

Pärmirakkude morfoloogilised ja bioloogilised omadused võivad muutuda mitmesuguste mõjude tagajärjel, mille tõttu ilmuvad pärmirakkude *mööduvad ja püsivad variatsioonid*. Mööduvad variatsioonid ei hoia alal uusi omadusi püsivalt, vaid nad pöörduvad peatselt tagasi endisse olekusse, kuna püsivad variatsioonid säilitavad pikema aja jooksul uusi omadusi.

*Käärimisprotsessis* on tegevad pinna- ja põhjapärmid. Pinnakäärimiseks on tarvis rohkem soojust, pärmirakud punguvad kiiresti, kääriva vedeliku pinnale koguneb palju vahtu ja pärmirakud liiguvad põhjast vedeliku pinnale. Põhjakäärimine nõuab vähem soojust, käärimisprotsess on rahulikum ja pärmid jäävad kääriva vedeliku põhja. Iga pärmi variatsioon annab suhkru käärimisel isesuguseid käärimisprodukte. Kunstlikult on võimalik pärmide bioloogilisi omadusi muuta. Püsivaid pärmide variatsioone võib saada, kui kasvatada pärmi mitme generatsiooni vältel tahkel söötmel madalamas soojuses. *Metsikuiks pärmideks* nimetatakse neid, mis asuvad looduses, kust nad juhuslikult suhkruvedelikku pääsemisel käärimist põhjustavad. Kultiveerimise teel muudetud omadustega pärme nimetatakse *kultuurpärmideks*. Metsikud pärmid annavad käärimisel sageli hulga mittesoovitavaid kõrvalaineid, mis muudavad kogu käärimisprodukti alaväärtuslikuks. Kultuurpärme tarvitades võib saadava produkti väärtust ette näha ja käärimisprotsessi juhtida soovitavas suunas. Kultuurpärmide valmistamine ja nende uurimine on üks tähtsamaid ülesandeid tehnoloogilises mikrobioloogias.

## Mitmesugused seened. *Fungi imperfecti.* *(Hyphomycetes).*

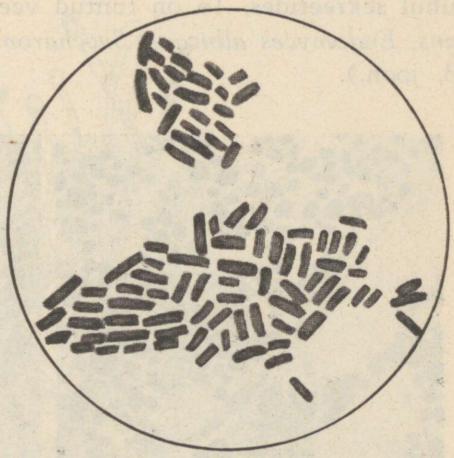
*Fungi imperfecti* alla koondatakse kõik säärased seened, milledel ei tunta veel sugulist sigimist ning milledel on teada ainult nende suguta paljunemine lülieoste (koniidide) abil. Mõnel liigil ei ole ka leitud koniidide tekkimist (steriilsed mütseelid). Sellesse klassi kuuluvad paljud liigid, mis esinevad näiliselt kahjuta roisk- ehk saprofüütseentena, või haigusprotsesse põhjustavate nugi- ehk parasiitseentena inimesel, loomadel ja taimedel. Nende seente rühmitamine on alles puudulik, samuti puudub ka ühtlus üksikute liikide nimetustes. Kui avastatakse mõnel neist suguline sigimine, siis viiakse see üle uue nime all vastavasse klassi. Nii on tekkinud rööbiti kaks nime *Monila-Sclerotinia* ja teised. Üldiselt peetakse neid seeni kottseente või kandseente kasvukehadeks. Didaktilisel otstarbel kirjeldame siinkohal mitmesuguste seente all ainult pärmisarnaseid organisme ja dermatofüüte, milledest mõned liigid on juba asetatud vastavasse klassi.

### A. Pärmisarnased mikroorganismid.

Neid patogeenseid seeni (vaatamata nende paigale klassifikatsioonis), mis sigivad pungumise teel, nimetatakse harilikult, kuid vähese õigusega, blastomütseetideks ja nende poolt põhjustatud haigusi blastomükoosideks. Uuemad uurimised näitavad, et nende hulgas esinevad säärased liigid, millede otstes leiduvad välisaskused *(exoascus)*; selle alusel võiks neid lugeda endomütseetide hulka. Pärmisarnastest organismidest mainime meie olude kohaselt tähtsamaid.

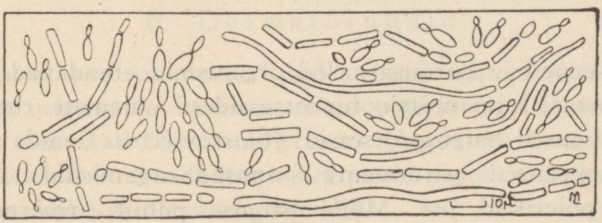
*Torula* on kujult pärmseente sarnane, lühikeste okstega pungumismütseeliga, sõõrjate või elliptiliste pungadega, ilma eosteta. Nendest on tuntud: *Torula kefir* — keefiriterades, *Torula amara* — juustus, *Torula glutinis* — „roosad pärmid", mis tekitavad suhkru käärimist alkoholiks. Patogeensetest liikidest tuntakse *T. gougeroti, T. mansoni, T. sacchari, T. tumefaciens* jt.

*Mycoderma* (= *Geotrichum*) annab idanemise teel alul vaheseinteta mütseeli, mille niitides hiljemini tekivad vaheseinad. Sääraselt teelt tekkinud pundunud otstega niidi osadest arenevad artrospoorid, mis niidi hävides ahelikusarnaste ridadena ühte jäävad. Mõned liigid on patogeensed ja tekitavad haigusprotsesse inimesel; teised viibivad saprofüütidena suus, sooltes ja rögas, kuna kolmandad esinevad sageli piimas. Paljudest senituntud liikidest leiduvad meil *Geotrichum candidum* (= *Mycoderma lactis, Oidium lactis*) ja *G. pulmoneum* (39. joon.). *Mycoderma*'ga on üldiselt sarnane *Geotrichoides*'e perekond, kuid sellesse kuuluvatel liikidel esinevad pungumine ja artrospooride tekkimine (40. joon.).



39. joon. *Mycoderma lactis.*

*Monilia* (= *Mycotorula*) rakud on noortes kultuurides täielikult sarnased pärmirakkudega ja avaldavad intensiivset pungumist.



40. joon. *Geotrichoides cutaneus.* Niidid, artrospoorid ja pärmisarnased rakud. (M. Langeron'i järgi.)

Nemad ei anna kunagi askospoore, artrospoore ega tõelisi koniide. Vanemas kultuuris tekivad pikad niidid, millede otstes ja külgedel arenevad pungad (blastospoorid). Saprofüütidena esinevad looduses

väga paljud liigid. *Monilia* (= *Mycotorula*) *albicans* põhjustab soori limanahkadel ja nahal, mükootilise iseloomuga nahahaigusi ja leidub sageli bronhiidi, enteriidi, vaginiidi ja teiste haiguste puhul sekreetides. Ta on tuntud veel nimetuste all: *Oidium albicans, Endomyces albicans, Saccharomyces albicans* jne. (41., 42. ja 43. joon.).



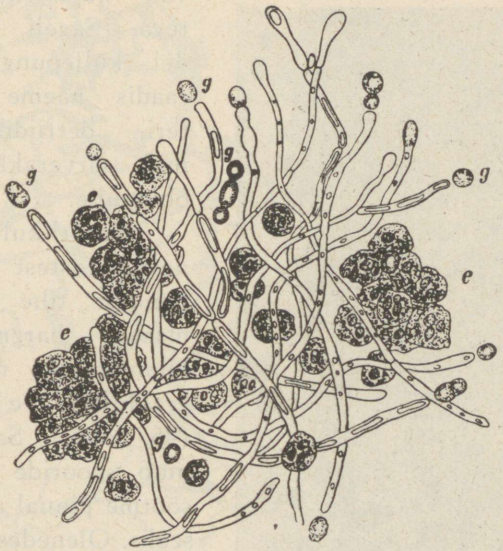
41. joon. *Monilia* (S). Noorest kultuurist.



42. joon. *Monilia* (S). Vanast kultuurist.

Pärmseened ja pärmisarnased organismid etendavad suurt osa mitmesugustes fermentatsiooniprotsessides. Laiemalt tuttavad on ka mitmesugused haigusprotsessid *(blastomycosis)*, mida esile kutsuvad patogeensed pärmseente sarnased organismid: abstsessid, kasvajad, põletikud jne. Mõne haiguse puhul *(diphteria, enteritis, typhus* jne.) võib tähele panna, et haigusprotsess on siis raskem, kui spetsiifiliste mikroobidega ühes kasvavad pärmseened. Siin puutume kokku sümbioootilise infektsiooniga. Teisest küljest on suure tähtsusega nende antagonistlik toime, kus pärmid kas otseselt või nende poolt valmistatud produktide abil spetsiifilise mikroobi tegevust takistavad ja sel-

lega parandavat mõju avaldavad. Nii on teada, et stafülokokkide poolt esilekutsutud paisete *(furunculosis)* ravi pärmide sissevõtmise teel parandavat mõju võib avaldada.



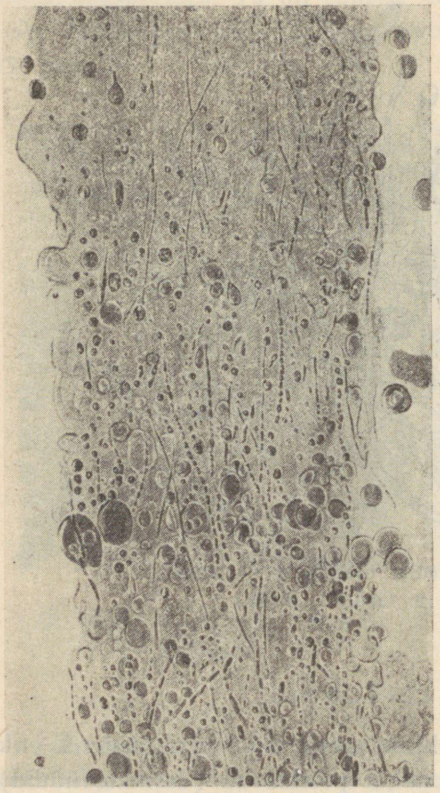

43. joon. *Monilia albicans* mädas. e — mädarakud. (Plaut ja Grütz'i järgi.)

## B. Dermatofüüdid.

Praegusel ajal on tuntud hulk seeni, mis parasiitidena ehk nugilistena inimese ja loomade nahal pesitsevad (dermatofüüdid) ja haigust tekitavad *(dermatomycosis)*. Nende seente selts on suur ja neid võiks Sabouraud' järgi järgmiselt grupeerida, kuigi nende lõplik liigitamine ei ole veel võimalik:

*Achorion* on dermatofüüt, mis tekitab lubiraiga *(favus)* inimese ja loomade nahal. Ei ole veel teada, kas loomadel esinevad seened kuuluvad eri liikidesse või põlvnevad need variatsioonidena inimese favuse seene tüvest. Vaadeldes mikroskoobis 15—30% KOH lahusega leotatud favuse kooriku tükikest *(scutulum)*, juuksekarva või küünetükikest, leiame kahekordselt piiratud ovaal-

seid, sõõrjaid või nurgelisi eoseid (3—8 $\mu$ × 3—4 $\mu$) üksikutena või kettidena (44. joon.). Mütseel on läikiv; seeneniidid on teralise protoplasmaga ja kaheharuliste otstega, mis lõpevad nuiasarnaste puhetistega. Sageli esineb niitidel küljepungumine. Preparaadis näeme veel rasvateri, detriidimassi, paisunud sarverakke ja juukseis õhumulle.

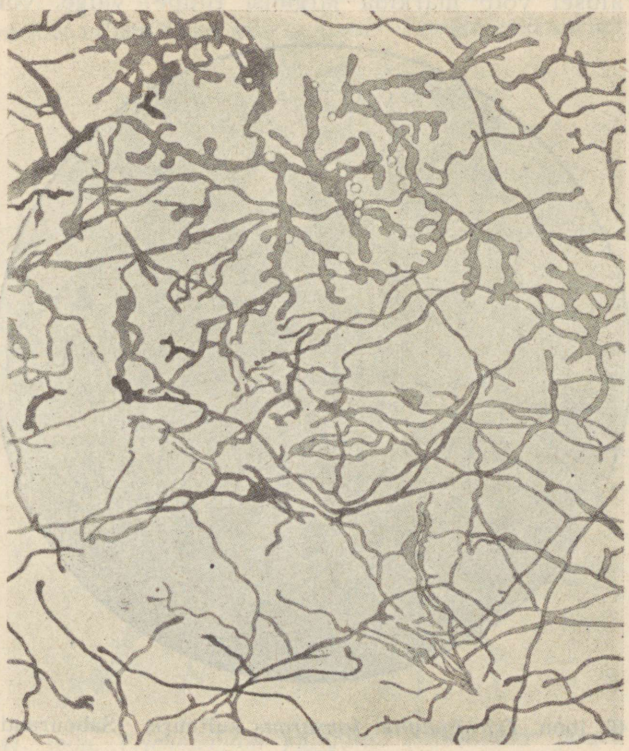


44. joon. *Achorion schönleini*. Infitseeritud juus, suurendus 260 korda. (Sabouraud' järgi.)

Kunstlikul söötmel arenevad eostest seeneniidid ja nendest tihe mütseel; viimasest hargneb hiljemini õhumütseel, mille niitidest eralduvad ektospoorid (45. joon.). Samal ajal toimub spooride tekkimine ka söötme pinnal asetsevas mütseelis. Olenedes söötmest, võivad tekkida klamüdospoorid, kammisarnased okslikud niidid ja poolikujulised eosed. *Achorion*'i liikidest on patogeensed: *Achorion schönleini* — inimesele, *A. quinckeanum* — hiirtele, *A. gallinae* — lindudele, *A. gypseum* — inimesele ja loomadele, *A. oospora canina* ja *A. violaceum* koertele.

*Trichophyton* on niitseen, mis põhjustab epideemilise iseloomuga nakkuselist mükoosi — pügajaraiga — inimese ja loomade nahal *(Herpes tonsurans)*, juustes ja küüntel. Selle seene kõikide variantide arenemistüüp on sarnane, erinevused esinevad peamiselt morfoloogias ja kultuuride välimuses. Tahkel söötmel are-

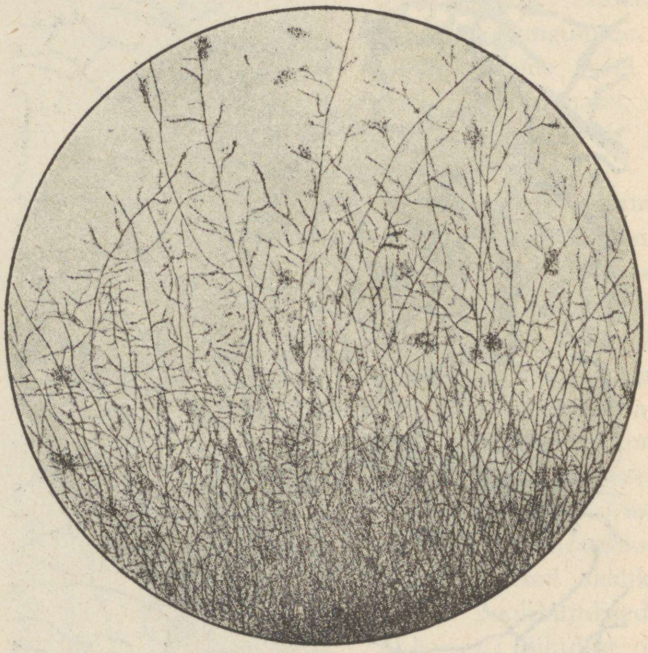
nevad eostest niidid, mis kohati võivad punduda (46. ja 47. joon.). Niitidest moodustatud pesa on kiirtega ümbritsetud tähe sarnane, mille keskkoht on enam-vähem erinev igal liigil; pesa on



45. joon. *Achorion schönleini* kultuuris. (Sabouraud' järgi.)

sageli tolmuse pinnaga ja igale liigile omase värvusega (kollane, pruunikas, tumepunane, lilla ja roosa). Mütseeli pinnalt tõusevad õhuhüüfid, mis hargnevad ja millede pinnal tekivad väikesed (1,3 $\mu$ – 3,0 $\mu$) sõõrjad ektospoorid (sageli viinamarjakobara-kujulised). Mütseeli niitides ja õhuhüüfides võivad areneda poolikujulised eosed ning klamüdospoorid. Uurides 30% KOH lahuses leotatud haiget juust, leiame eoste mitmekesist paigutamist:

a) Suured eosed ridadena juukse sees (*endothrix*), juuksed murduvad haige naha pinnalt ja nahk ei kestenda. Haigus esineb inimestel (48. joon.). Söötmel kasvava seene pesakuju ja värvuse alusel võib märkida järgmisi tüüpe: valge, voldiline ja



46. joon. *Trichophyton tonsurans* kultuuris. (Sabouraud' järgi.)

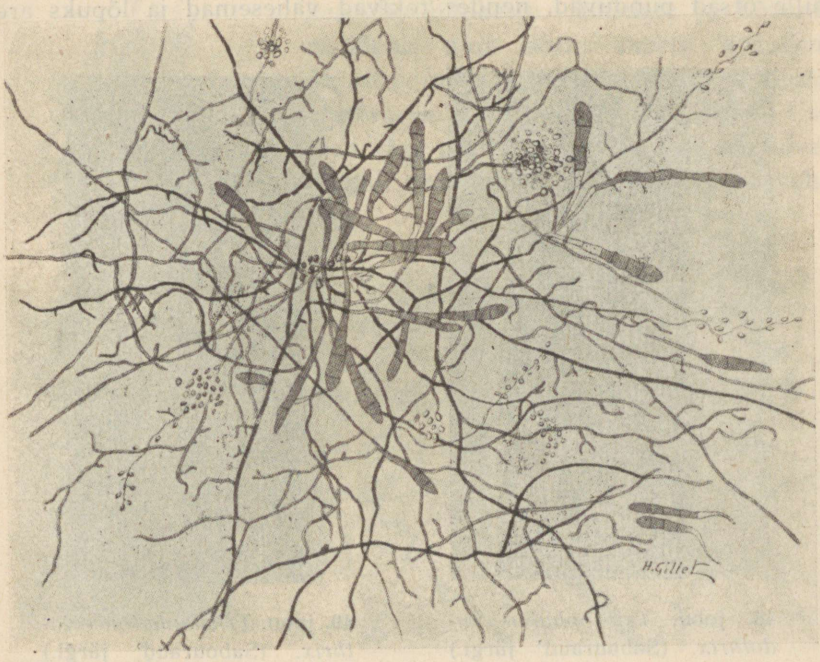
kõrgema keskkohaga (*T. acuminatum*), kraatrikujuline keskkoht (*T. crateriforme*) ja tumevioletse pigmendiga (*T. violaceum*).

b) Eosed esinevad juukse sees ja pinnal (*neo-endothrix*). Haigus esineb inimesel ja loomadel. Söötmel kasvava pesakuju alusel liigitatakse: *T. cerebriforme* — keskpaik kraatrikujuline, kuid voldiline, ja *T. plicatile* — üldiselt sarnane eelmisega.

c) Väikesed eosed tupena juukse pinnal (*ectothrix microides*) ja mütseel juukse sees. Haigustunud nahal esineb alul *herpes*, siis mädavillid (*pustula*) ja sügav infiltratsioon. Pesa kuju

alusel liigitab Sabouraud: *T. gypseum* — tähekujuline, kipsisarnase pulbriga kaetud; *T. niveum* — värske lume värvusega, udusuleline.

d) Suurtest eostest tupp juukse ümber *(ectothrix megasporon)*, nahk haiguse kohal harilikult kuiv, vahel mädane. Kultuur on kas udusuleline või sarnaneb favuse kultuuriga; kasvab

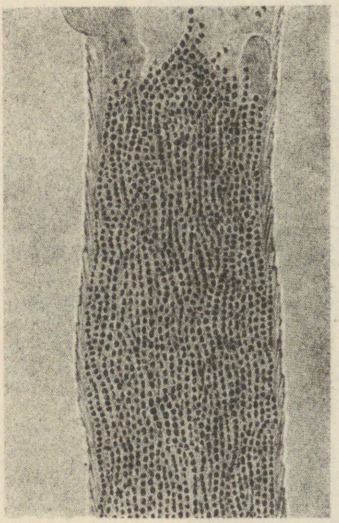


47. joon. *Trichophyton* kultuuris. (Sabouraud' järgi.)

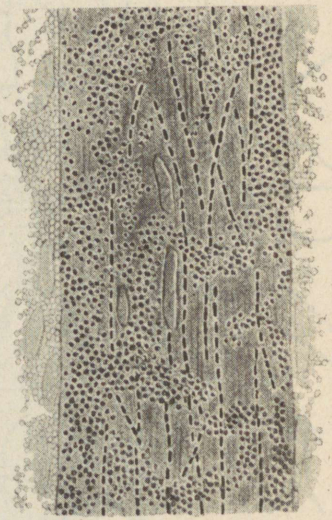
üldiselt raskelt kunstlikul söötmel. *Ectothrix* esineb peamiselt loomadel. Mainitud liigid on rikkad varieeruvaist alaliikidest, millede kirjeldus kuulub eribakterioloogiasse (49. joon.).

*Microsporon* on seen, mis põhjustab mükoosi *(microsporia)* peamiselt laste, harvemini täiskasvanute peanahal, kuid võib esineda ka teiste kehaosade nahal. Juuksed murduvad naha pinnal ja nahk on kaetud väikeste hallide kestadega (50. joon.). Uurides mikroskoobis väljatõmmatud juukse juurikat leiame, et seda ümbritseb tupp, mille seesmine pind on kaetud väikeste eostega, kuna

lühikesed mütseelioksad tungivad juukse sisse. Vedelas söötmes idanedes annavad eosed oksliku mütseeli, mis koosneb õigetest, tähekujuliselt asetatud vaheseintega niitidest. Hiljemini tekivad niitides hulgalised pundumised, milledest arenevad klamüdospoorid. Õhumütseelil võivad areneda eosed või pikad peenikesed niidid, mille otsad punduvad, nendes tekivad vaheseinad ja lõpuks are-



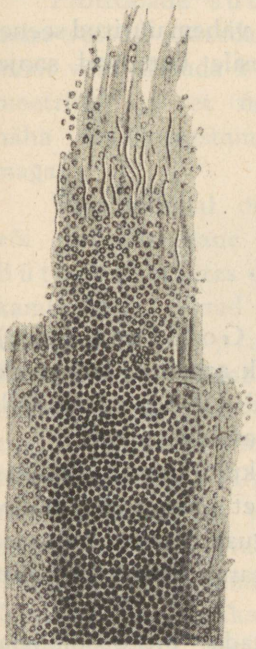
48. joon. *Trichophyton endothrix*. (Sabouraud' järgi.)



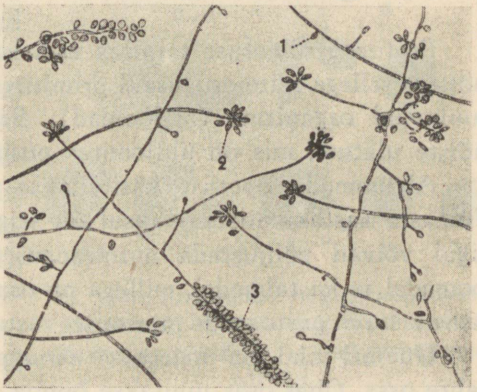
49. joon. *Trichophyton ectothrix*. (Sabouraud' järgi.)

neb poolikujuline eos. Pesakuju alusel tuntakse järgmisi tüüpe. *Microsporon Audouini-Gruby* — valge sametisarnase pinnaga kasv, pesa keskel nööbisarnane moodustis, millest väljuvad voldid. Mikroskoobis näeme bambusekujulist mütseeli hulga ektospooridega. Haigus esineb peamiselt inimesel; seen kasvab halvasti kunstlikel söötmeil. *Microsporon lanosum* — pesa keskkoht lame, seda ümbritseb rõngasvall. Kasvab võrdlemisi hästi kunstlikel söötmeil. Esineb inimesel ja loomadel; on vähem kontagioosne kui eelmine. Peale nende kahe mikrosporoni liigi on kirjeldatud veel üle 20 variandi.

Dermatofüütidena tuntakse veel sääraseid, mis sigivad ainult naha kõige pinnapealsemas kihis ja infitseerivad ainult eriliselt disponeeritud isikuid; väga harva kanduvad nad üle haigelt inimeselt tervele. Siia kuulub *Microsporon furfur*, mis põhjustab *pityriasis versicolor*'i ja mis esineb nahakestades lühikeste, jämedate ja kõverate niitidena ning eoste suurte kogudena. *Microsporon minutissimum* põhjustab *erythrasma*'t; nahakestades esineb see seen väga peente S- ja V-kujuliselt kõverdunud, okslikkude ja väga tihedate vahe-



50. joon. *Microsporon*. (Sabouraud' järgi.)




51. joon. *Rhinocladium schencki*. (M. Langeron'i järgi.)

seintega mütseeliniitidena, millede vahel leidub hulgaliselt väikesi sõõrjaid või nurgelisi eoseid.

*Fungi imperfecti* alla kuulub ka *Rhinocladium*'i (*Sporotrichum*'i) seente perekond, mis esineb looduses laialt. Seni tuntakse ligi 9 mitmesugust patogeenset liiki, mis põhjustavad haigusi inimesel ja loomadel (51. joon.; tahv. I, 16. joon.). Tuntuim on *R. schencki* (*Sporotrichum beurmanni*), mis inimesel esile kutsub mitmesuguseid haigusprotsesse (*sporotrichosis*). Gummasarnasest

haiguspesast eralduv mäda sisaldab harilikult suurel hulgal ovaalseid eoseid. Puhtast kultuurist valmistatud preparaadist leiame seeneniite ja eoseid (koniide). Eosed on kerakujulised, pruunikad ja ümbritsevad mantli näol seeneniiti või nad on koondunud kobaraisse.

Peale ülalmainitute on tuntud veel paljud vähem uuritud seeneliigid, mis mitmesuguseid dermatomükoose esile kutsuvad soojel mail.

## IV peatükk.

## Algloomad. *Protozoa.*

*Protozoa* nimetust tarvitas esmakordselt Goldfuss (1820), mõistes sellega mitmesuguseid primitiivseid ehk arhailisi, loomariiki kuuluvaid organisme (algloomad). Siebold (1841) piiras selle mõiste ulatust, mis on üldjoontes püsinud käesoleva ajani.

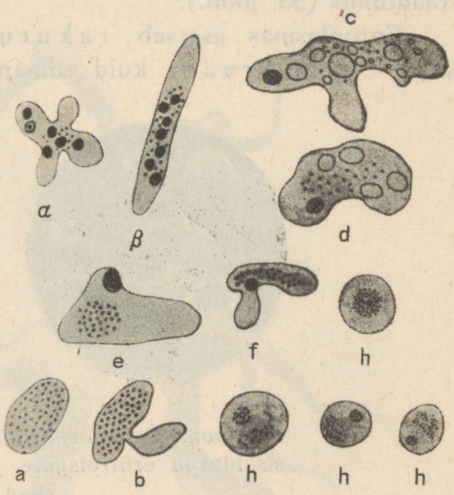
Algloomade õpetust käsitellakse põhjalikult protozooloogias. Viimaste aastakümnete jooksul on selgunud, et protozoade mõned liigid võivad põhjustada mitmesuguseid haigusprotsesse inimesel, loomadel ja ka taimedel, millega on osalt seletatav järjest kiiremini kasvav huvi protozoade uurimise vastu.

Uuemal ajal on märgata tendentsi jagada protozooloogiat kahte ossa. Ühes osas juhitakse õppija tähelepanu peamiselt vabaltelutsevatele protozoadele, kuna teine osa haarab parasitaarseid vorme, mis tekitavad haigusi inimesel ja koduloomadel. Mõistagi takistab säärane jaotus protozooloogia põhjalikumat õppimist, kuid piiratud ruumi tõttu on võimalik siinkohal kokku võtta ainult protozooloogia tähtsamaid põhijooni, mainides seejuures ligemalt mõnede patogeensete protozoade ehitust.

Protozoad on ainuraksed, enamasti mikroskoopilised organismid, milledel puuduvad koed ja organid, mis töö eristamiseks väga tarvilikud on kõrgematele organismidele (metazoadele). Protozoade üks rakk korraldab kõik need talitlused, mis iseloomustavad elusolest: ta vastab ärritustele, liigub, võtab toitu, kasvab ja sigib.

Nende funktsioonide täitmiseks on protozoa plasmakeha diferentseerunud organellideks, mis on metazoade organitega analoogsed, kuid mitte homoloogsed. Mõnel ainuraksel protozoal võib sigimise ajal esineda üleminekuna ka mitmerakne aste.

Protozoade suurus on väga mitmesugune. Kõige väiksemad neist võivad pääseda läbi Berkefeld'i kurna, kuna suuremate läbimõõt võib ulatuda 1—5 millimeetrini, nii et neid võib näha ka varustamata silmaga.

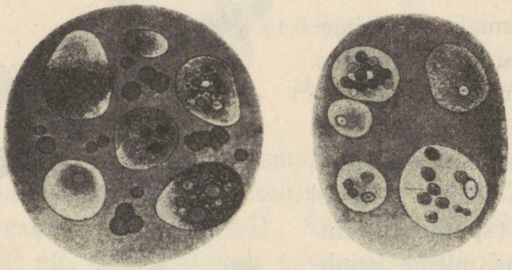



52. joon. *Entamoeba histolytica* (maksa abstsessist). α, β — erütrotsüüte sisaldavad amööbid; h — entsüsteerunud vormid.

Tsütoplasmal on kärje- või võrgusarnane ehitus. Bütschli arvates on kärjekambrikeste seinad ehitatud tihedast hüaloplasmast. Kambrikesi täidab vedel enhüleem (spumoidne ehitus). Ühinevad mitme kambrikese enhüleemitilgad, siis tekivad suuremad või väiksemad kambrid (vakuoolid). Tsütoplasma keskmist vedelamat osa nimetatakse entoplasmaks, mis sisaldab valguskiiri murdvaid teri *(granula)*, rakutuuma, toidutagavara, eritiseteri, kristalle ja teisi sisaldisi (52. joon.). Entoplasmasse on sageli asetatud tuksuvad põiekesed — kontraktiilsed ehk tuksuvad vakuoolid, milledes koonduvad osalt ka raku ekskreedid. Need tühjendavad perioodiliselt oma sisaldise peene kanali kaudu rakupinnale ja täituvad uuesti. Tsütoplasma välimist tihedamat klaasjat osa nimetatakse ektoplasmaks. Sageli muutub ektoplasma pinnapoolne kiht märksa tihedamaks (želatineerub) ja tekib õrn kile — *pellicula*. Hoopis teissugused on protozoade kestad, mis on ektoplasmast eraldunud. Nende aluseks on orgaanilised ained, milledes ladestub mitmesuguseid anorgaanilisi soolasid ja tekib

tugev kaitsekoorik. Halbades elutingimustes (halb toit, niiskuse puudus) ja enne sigimist muutub paljude protozoade tsütoplasma; algplooma ümber tekib kõva kest, mis teda kaitseb ümbruse mõjude eest. Seesugust eluvormi nimetatakse tsüstiks. Viimastel on suur tähtsus patogeensete protozoade elus, sest nende üleminek ühest peremees-organismist teise toimub harilikult tsüstistaadiumis (53. joon.).

Entoplasmas asetseb rakutuum, mida võib ümbritseda kest — membraan, kuid viimane võib ka puududa. Üksikutel

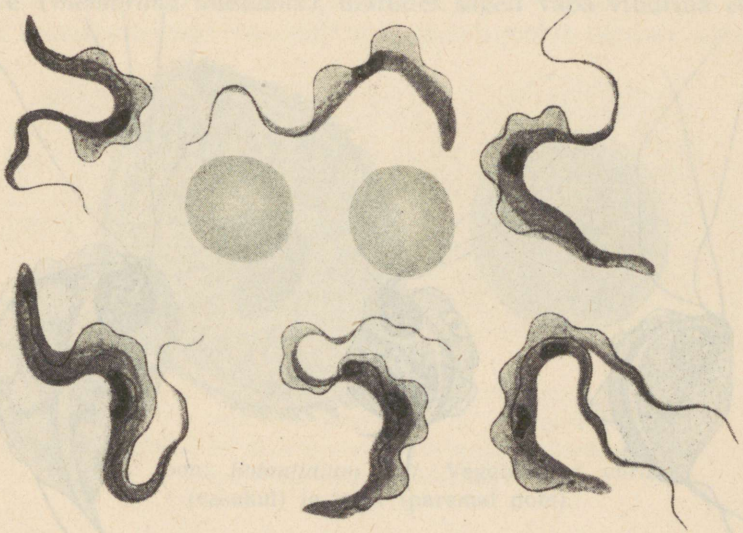


53. joon. *Entamoeba histolytica*. Amööbid sisaldavad erütrotsüüte, tsüstid on nendest vabad.

liikidel ja pooldumisastmes esinevad ka mitu tuuma. Tuuma toestiku moodustab akromaatilisest liniinist ehitatud võrk (*reticulum*), mille pesades viibib tuumaplasma. Tuumaineist vaba ruumi täidab tuumamahl. Oluliseks tuumaineks on nukleiinirikas kromatiin, millel on suur afiinsus baasilistele aniliinvärvidele. Kromatiin võib olla ühtlaselt jaotatud kogu tuumas (kompaktne tuum) või esineb väikeste kogudena, teradena ning pulgakestena (vesikulaarne tuum). Kromatiiniga segatuna või eraldi üksikute terakestena esineb tuumas plastiin ehk paranukleiin, millel on tugevam afiinsus hapudele ehk protoplasmavärvidele. Mõnel juhtumil koonduvad kromaatilised ained vesikulaarse tuuma keskele, moodustades intensiivselt värvuva kuulisarnase keha — karüosoomi. Viimases esineb mõnel algplooma liigil väikese

terana tsentrosoom, mis etendab suurt osa algllooma jagunemisel.

Osa tuuma kromatiini (trofokromatiin) toimetab somaatilisi funktsioone (toitumine ja liikumine), teine osa sugulise sigimise ülesandeid (idiokromatiin). Mõnedel algloomadel *(Ciliata)* on trofokromatiin koondunud makronukleuseks ja idio-



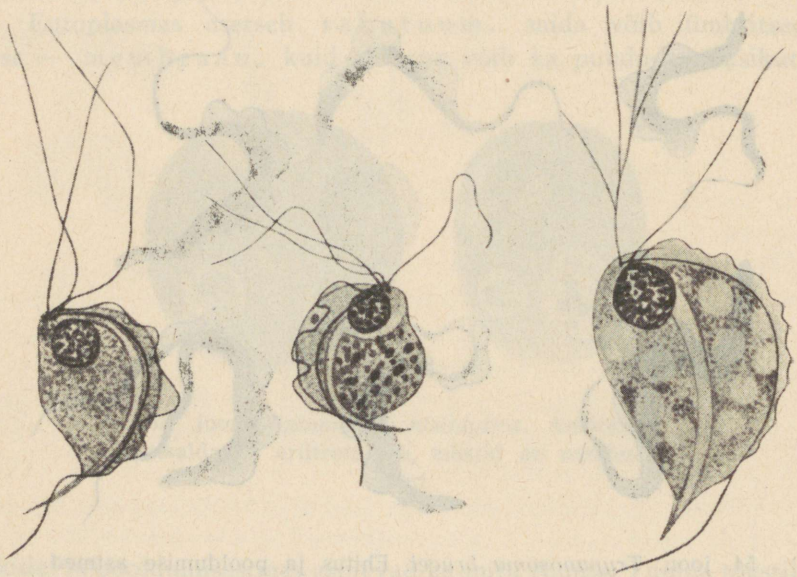
54. joon. *Trypanosoma brucei.* Ehitus ja pooldumise astmed.

kromatiin mikronukleuseks. Kromatiini osad, mis tungivad tuumast tsütoplasmasse või tekivad seal iseseisvalt, moodustavad terakesi, võrku, kogusid või niite ja kannavad nimetust kromiidid. Kromidiaalse võrgu tekkimisel võib ajutiselt kaduda raku morfoloogiline tuum. Funktsioonilt on ühed trofokromiidid, teised — idiokromiidid.

Mõnedel protozoadel *(Mastigophora)* koondub funktsionaalselt erinev kromatiin väikeseks tuumasarnaseks kehakeseks, mis on asetatud eraldi, või viibib erilises moodustises *(blepharoplast)* liikumisviburi juurel, mida nimetatakse kinetonukleuseks (54. joon.). Haeckel oli arvamusel, et mõned algloomad on ilma tuumata

(*monera*). Uuemad uurimised on näidanud, et säärastel organismidel on kromatiinollus laialipillatuna kogu tsütoplasmas (difuusne tuum).

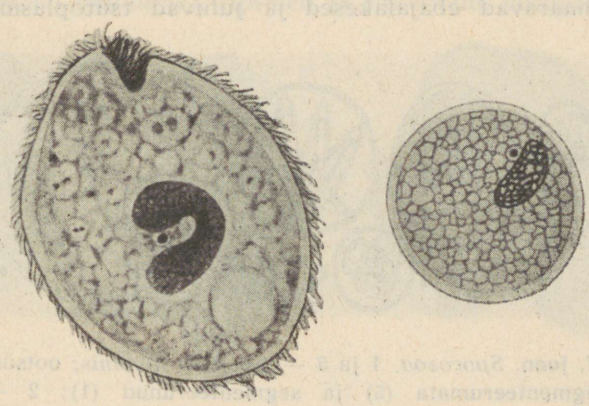
Suurem osa protozoadest on liikuvad. Liikumine on kahesugune: kuju muutumine ja edasiliikumine (lokomotsioon). Protozoa kuju muutumise põhjuseks on protoplasma voolamine või raku



55. joon. *Trichomonas* inimese sooltest. (Kofoid'i ja Swezy järgi.)

kokkutõmbumine ekto- või entoplasmas esinevate fibrillide abil (müoneemid ehk müofaanid). Mõned protozoad sisaldavad fibrille kui diferentseerunud liikumisorganelle. Kõige lihtsamaks edasiliikumis-abinõuks on protozoadel (*Amoeba*) pseudopoodid ehk ebajalakesed, mis tekivad sel teel, et tihe ektoplasma kiht kohati lõhkeb ja entoplasma osad rakupinnale välja voolavad. Ebajalake paisub kord-korralt suuremaks ja rakk nihkub ebajalakese suunas edasi. Kujult on ebajalakesed hõlmised (*lobosa*), niidilised (*filosa*) ja haralised (*reticulosa*). Pseudopoodid on ajutised moodustised, mis vahetpidamatult muudavad oma kuju ja suurust.

Paljudel protozoadel on morfoloogiliselt diferentseerunud püsivad liikumisorganellid — viburid *(flagella)*, mis on ehitatud mitmest telgniidist ja neid ümbritsevast protoplasmast (55. joon.). Trüpanosoomi vibur (sageli kaks) on ühenduses raku ektoplasmaga ja algab kinetonukleusest. Ta kulgeb raku pinda pidi, mistõttu tekib rakul ühel küljel terav serv ehk nn. virvekile *(membrana undulans)*, ulatudes sageli vaba viburina eemale



56. joon. *Balantidium coli*. Vegetatiivne vorm (vasakul) ja tsüst (paremal pool).

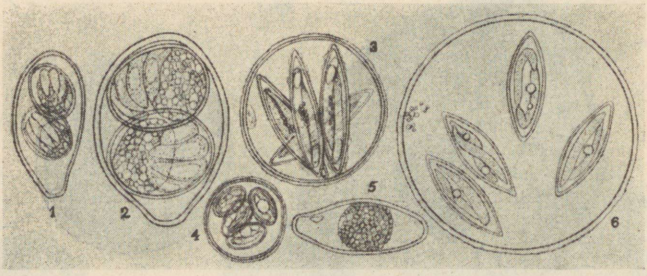
raku piirkonnast. Viburite liikumine avaldub virvendamises *(undulatio)*, mis koosneb kõverdumis- ja sirgumisfaasist.

Paljud protozoad liiguvad ripsmete *(cilia)* abil. Viimaste liikumine oleneb ripsmeniidist, mis välja kasvab ektoplasma basaalsest terast. Nende liikumine avaldub vehklemises (56. joon.). Mõnedel protozoadel katavad ripsmed ühetaoliselt kogu raku pinda, teistel ainult ühe poole ehk suu ümbruse *(vorticella)*. Peale selle leiame mõnedel protozoadel suu ümber väikesi kilekesi *(membranella)*, mis liikudes voolu suu poole juhivad.

Ekto- ja entoplasmas leiduv kokkutõmbuv aine moodustab fibrille, mis seovad tsütoplasma üksikuid osi ja meenutavad toimelt metazoade lihaste tegevust (müofibrillid). Kofoid nimetab neid fibrille neuromotoorseks aparaadiks.

Paljudel protozoadel (*Sporozoa*) ei leidu igas arenemisastmes liikumisabinõusid. Need ilmuvad vaid ajutiselt algloomа ühel eluastmel (57. joon.).

Mõned algloomad võtavad vedelat toitu kehaseina kaudu (osmoosi teel), kusjuures avaldub raku võime valida temale sobivat toiteainet. Enamik algloomadest kasutab toiduks tahkeid aineid, mis pääsevad rakku selleks ettenähtud pinnaosade kaudu, või seda haaravad ebajalakesed ja juhivad tsütoplasmasse. Toit

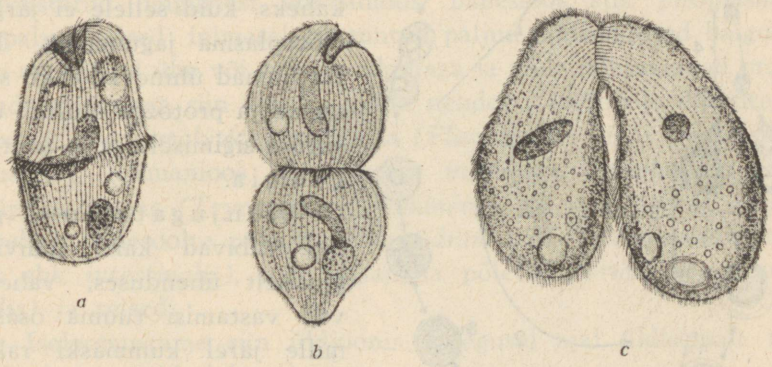



57. joon. *Sporozoa*. 1 ja 5 — *Isospora hominis;* ootsüst segmenteerumata (5) ja segmenteerunud (1); 2 — *I. bigemina;* 3 — *Eimeria oxyspora;* 4 — *E. wenyoni;* 6 — *E. snijdersi*. (Dobell'i järgi.)

seedub erilistes vakuoolides (seedimisvakuoolid) hapu vedeliku toimel ja kasutamata jäänud ained erituvad osmoosi teel või nad heidetakse välja vakuooli lõhkedes raku pinnale. Toidutagavaradena esinevad algloomа rakus glükogeeni, rasva, volutiini ja teiste ainete terakesed. Hingamine toimub difusioonnähtuse alusel algloomа välise pinna kaudu.

Protozoade sigimisprotsessid on suguta, sugulised ja vahelduvad. Lihtne suguta sigimine toimub jagunemise teel (58. joon.), kusjuures rakk kaheks ühesuuruseks tütarrakuks pooldub. Tsütoplasma jagunemise eel toimub tuuma jagunemine otseselt (amitootiline) või kaudselt (mitootiline). Säärastel juhtudel, kus üks pooldumisosa on suurem teisest, või emaraku pinnal ilmub mitu punga, mis hiljemini eralduvad, on tegemist pungumissarnase nähtusega. Harvemini näeme (*Amoebida* ja *Coccidiida*)

terve indiviidi lagunemist mitmeks väikeseks osaks, kus protoplasma ja tuum jagunevad mitmeks ühesuuruseks osaks *(merozoit)* ja iga tütarrakk saab osa emaraku tuumast *(schizogonia)*. Kui see protsess toimub tsüstis, siis räägitakse sporogeneesist ja tütarrakke nimetatakse sporozoitideks. Protozoad jagunevad kas piki keha — pikipooldumine *(Mastigophora)* või ristipidi — ristipooldumine *(Ciliata)*. Protozoade organellid, nagu viburid, virvekile *(membrana undulans)*, ripsmed ja vakuoolid, võivad jääda kas

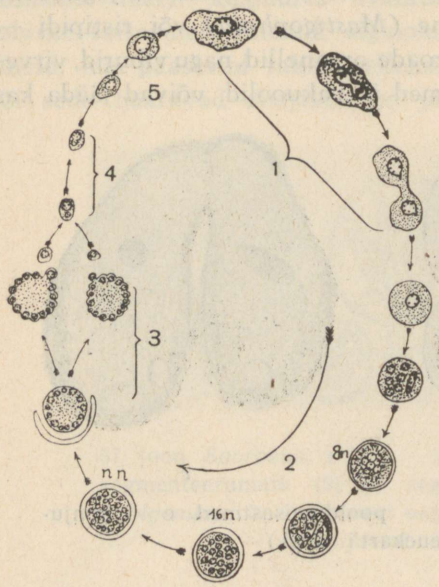


58. joon. *Balantidium coli*. a, b — pooldumisastmed. c — konjugatsioon. (Leuckart'i järgi.)

ühe tütarraku külge, siis tekivad teisel uued, või nad teevad pooldumisprotsessi kaasa. Sageli kaovad mainitud organellid pooldumise eel ja tekivad uuesti pärast pooldumist. Protozoade suguta jagunemine ei kesta ilmlõpmata. Teatavas ajajärgus katkeb suguta jagunemine ja algab sugutuspõlv (generatsiooni vaheldus).

Protozoade sugulistes protsessides esinevad kopulatsioon ja konjugatsioon. Kopulatsioon on kahe indiviidi — gameedi — jäädav ühtimine (59. joon.). On nad ühesuurused ja kujult sarnased, siis nimetatakse neid isogameetideks ja nende ühtimist isogaamiaks. Kui nad morfoloogiliselt erinevad, siis nimetatakse neid hetero- ehk anisogameetideks ja nende ühtimist — hetero- ehk anisogaamiaks. Suured emagameedid (makrogameedid) on paigalpüsivad, väikesed isagameedid (mikrogameedid) on viburiga varustatud. Elava liiku-

mise teel otsib mikrogameet üles makrogameedi ja tungib selle sisse, millele järgneb jagunemine. Kui makrogameet elab ja sigib ilma sugutamata edasi, siis nimetatakse seda neitsissigimiseks *(parthenogenesis)*. Niihästi sugulist kui neitsilist gameetide sigimist leiame malaaria plasmoodidel.




59. joon. *Entamoeba* arenemistsükkel (skeem). 1 — pooldumine; 2 — entsüsteerumine; 3 — gametogenees; 4 — kopulatsioon; 5 — kopuleerunud amööbid.

Mõnel protozoaliigil näeme, et raku tuum jaguneb kaheks, kuid sellele ei järgne tsütoplasma jagunemist. Tütartuumad ühinevad raku sees uuesti ja protozoa alustab uut suguta sigimiseluiga — autogaamia.

Konjugatsiooni puhul viibivad kaks indiviidi ajutiselt ühenduses, vahetavad vastamisi tuuma osasid, mille järel kummaski rakus uus tuum kujuneb. Pärast seda lahkuvad rakud teineteisest ja jätkavad suguta sigimist (ristsugutus).

Patogeensete protozoade suguline protsess toimub harilikult võõras organismis (kihulased, ämblikud jne.), kus esinevad hoopis teissugused kujud kui protozoahaigust põdevas organismis. Säärast vaheldust demonstreerivad hästi malaariaplasmoodid, millede suguline sigimisprotsess toimub hallasääse *(Anopheles maculipennis)* organismis ja suguta sigimine — infitseeritud inimese organismis.

Saprofüütidena esinevad protozoad suuri hulgi looduses: seisvas vees, rõskes mullas ja roiskuvas aines *(Ectozoa)*, kus nad võtavad osa ainete ringimisprotsessidest. Palju protozoasid elab sümbioosis teiste organismidega: taimede küljes, inimese ja

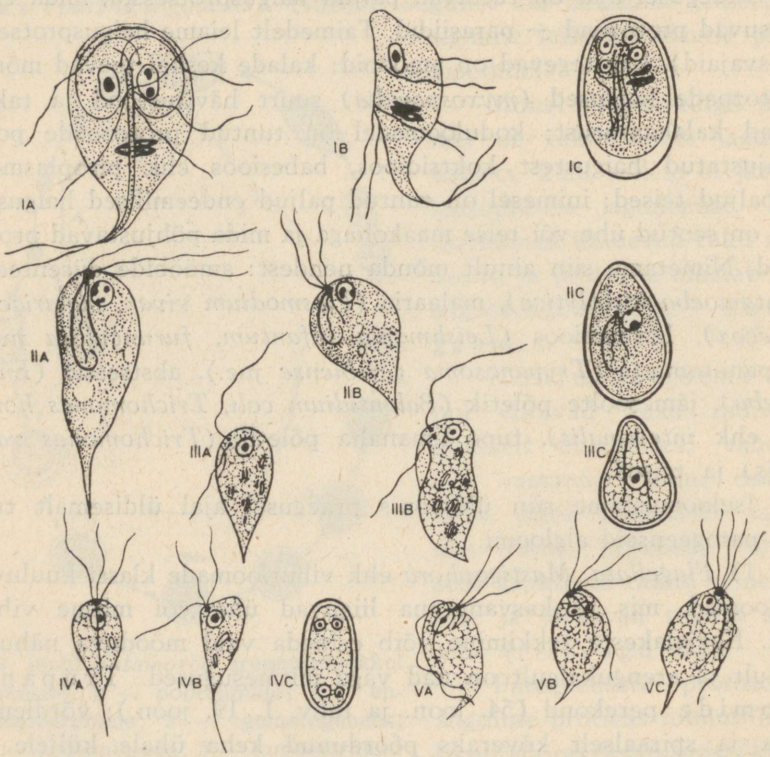
loomade sooltes ja limanahkade pinnal (*Endozoa*). Magevee protozoade tsüstid on resistentsed ja võivad elada kuivalt pikema aja vältel.

Praegusel ajal on tuttavad paljud haigusprotsessid, mida esile kutsuvad protozoad — parasiidid. Taimedelt leiame haigusprotsesse (kasvajaid), kus tegevad on amööbid; kalade keskel teevad mõned protozoade haigused (*myxosporidia*) suurt hävitustööd ja takistavad kalakasvatust; koduloomadel on tuntud protozoade poolt põhjustatud haigustest koktsidioos, babesioos ehk piroplasmoos ja paljud teised; inimesel on tuntud paljud endeemilised haigused, mis on seotud ühe või teise maakohaga ja mida põhjustavad protozoad. Nimetame siin ainult mõnda nendest: amööbide düsenteeria (*Entamoeba histolytica*), malaaria (*Plasmodium vivax, malariae* ja *praecox*), leišmanioos (*Leishmania infantum, furunculosa* jne.), trüpanosomiaas (*Trypanosoma gambiense* jne.), abstsessid (*Entamoeba*), jämesoolte põletik (*Balantidium coli, Trichomonas hominis* ehk *intestinalis*), tupe limanaha põletik (*Trichomonas vaginalis*) ja teised.

Iseloomustame siin üldjoonis praegusel ajal üldisemalt tuntud patogeenseid algloomi.

1) *Flagellata, Mastigophora* ehk viburloomade klassi kuuluvad algloomad, mis täiskasvanutena liiguvad ühe või mitme viburi abil. Ebajalakeste tekkimine võib esineda vaid mööduva nähuna. Kujult ja arengukäigult on nad väga mitmesugused. Trüpanosoomide perekond (54. joon. ja tahv. I, 19. joon.); võrdlemisi pika ja spiraalselt kõveraks pöördunud keha ühele küljele on kinnitatud unduleeruv kile, mille servaniit algab kehas ühe otsa ligidal asetsevast väikesest terast (basaaltera või kinetonukleus) ja ulatub eemale raku piirkonnast, moodustades liikumisviburi. Trofonukleus on asetatud harilikult raku keskkohta. Pikuti pooldumise teel võib trüpanosoom jaguneda kaheks, harvemini mitmeks tütar-organismiks. Esinevad parasiitidena selgrooliste veres ja selgrootute sooltes (Brumpt). Inimesele on patogeensed: *T. gambiense, rhodesiense, cruzi* jt. *Trichomonas*'e perekonda kuuluvad liigid: *T. vaginalis, intestinalis, elongata* ehk *buccalis* jt.; kanamunakujulise keha ühes otsas on mitu viburit, kuna keha teises otsas

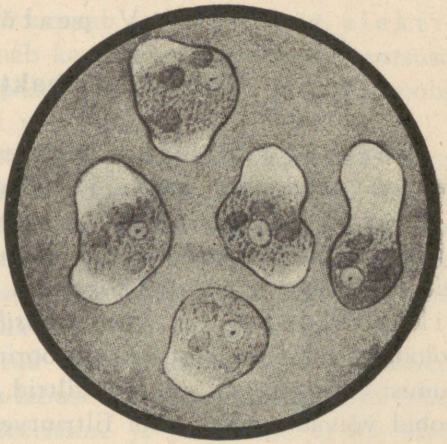
*membrana undulans*'i servaniit moodustab ühe viburi (60. joon.). See organism entsüsteerub halbades elutingimusis; kopulatsiooni eel liigub ta ebajalakeste sarnaste moodustiste abil. *Leishmania* pere-




60. joon. *Flagellata (= Mastigophora)* inimese sooltest. I — *Giardia (Lamblia) intestinalis;* II — *Chilomastix mesnili;* III — *Embadomonas intestinalis;* IV — *Tricercomonas intestinalis;* V — *Trichomonas hominis.* (Jollos'e järgi.)

konda kuuluvad protozoad on tähtsad haigusetekitajad inimesel; nad esinevad väikeste, munasarnaste kehadena haige inimese endoteliaalrakkudes ja suurtes mononukleaarsetes rakkudes veres; kultuuris arenevad neil organismel viburid. Patogeensetest liikidest on tuntud: *L. tropica, infantum, donovani* jt.

2) Amööbid, *Rhizopoda* ehk juurjalgsete klassist, kujutavad lihtsa ehitusega, ilma membraanita ja teiste väliskateteta ainurakseid organisme, mis liiguvad mitmekujuliste ebajalakeste abil (52. joon., tahv. I, 18. joon.). Nad on ühe või mitme tuumaga ja sigivad lihtsa pooldumise, pungumise või tsüsti mitmeks jagunemise teel. Inimesele on patogeensed: *Entamoeba, Endolimax, Pseudolimax* ja *Dientamoeba* (61. joon.).



61. joon. *Entamoeba histolytica* (sünon.: *Amoeba coli* Lösch, *A. dysenteriae* jt.).

3) Infusoorid, *Infusoria, Ciliata* ehk ripsloomad, on kõige keerulisema ehitusega ja kujult väga mitmesugused. Nendest on inimese haigusetekitajana tuntud *Balantidium coli* (56. ja 58. joon.). Ovaalse keha välispind on kaetud ripsmetega, mis algavad ektoplasmas esinevaist basaalsetest teradest. Organismi ühes otsas on suuavaus toidu võtmiseks. Halbades elutingimusis *Balantidium* entsüsteerub; konjugatsioon on näiliselt tarvilik tema aktiivseks eluks.

4) *Sporozoa* ehk eosloomad on peamiselt parasiidid, kes elutsevad loomade rakkudes, kudedes ja kehakoobastes. Nende arenemistsükkel on väga mitmesugune, kuid arenemise ühes astmes tekivad kõigil neist spoorid. Mõnel liigil võivad esineda teatavas arenemisastmes viburitega vormid ja amöboidne liikumine. Nad on spetsiifilised ainult teatavaile rakkudele või kudedele (tahv. I, 20. joon.).

Eosloomade klassist on tähtsamad patogeensed liigid: erütrotsüütide parasiidid malaaria plasmoodid, mis põhjustavad inimesel malaariat. Piroplasmoosi tekitavad loomadel *Babesia bovis, B. equi, B. canis, Nuttallia equi, Theileria annulata* jne.

Koktsidioosi põhjustavad *Eimeria stiedae* ja *E. perforans* kodujänestel, *E. zürnii* veistel, *E. suis* seal, *E. faurei* lambal jne. Teistest koktsiididest on rohkem tuntud *Isospora bigemina* (koertel ja kassidel) ja *Isospora hominis* (57. joon.).

## V peatükk.

## Viirused ja bakteriofaagid.

Pasteur (1881) oletas esimesena, et marutõve *(lyssa)* tekitajaks on nähtamatu haigusidu. Järgnesid uurimised (Löffler ja Frosch jt.), mis näitasid, et veel paljude teiste haiguste tekitajaiks on nähtamatud olendid. Roux (1903) uuris põhjalikumalt neid organisme ja nimetas kogu liiki üldnimega „nähtamatuiks mikroobideks" *(microbes invisibles)*. Pärast seda kui mikrobioloogias tarvitusele võeti infusoorimullast, portselanist ja kolloodiumist valmistatud mikroobifiltrid, selgus, et nähtamatud mikroobid võivad tungida läbi filtriurvete, ja selle alusel hakati neid nimetama filtreeruvaiks mikroobeks ehk viirusteks.

Praeguse aja andmete kohaselt soovitatakse anda nendele organismidele nimetusi: „ultramikroskoopilised viirused", „protistid", *„Chlamydozoa"*, *„Strongyloplasma"* ja *„Aphanozoa"*. Nimetusi ultramikroob ja filtreeruv mikroob ei või tarvitada kui sünonüüme, sest uurimistel on selgunud, et mitte kõik nähtamatud ehk ultramikroobid ei lähe läbi filtriurvete; teisest küljest on selgunud, et mõnd filtreeruvat mikroobi võib erilise meetodi abil mikroskoobis nähtavaks teha.

Filtreerumine ei olene ainult viiruse ja filtri urvete mõõtudest, sest filter ei moodusta lihtsat mehaanilist sõela. Filtrimisel etendavad suurt osa väga mitmesugused faktorid: viiruse ja kurna elektriline laeng, viiruse adsorbeerimine suspensioonis esinevate valkude agregaatide poolt, valkude ja teiste ainete hulk viirust sisaldavas suspensioonis (urvete ummistumine), temperatuur (filtrimiseks on toatemperatuur soodus), filtrimise negatiivse ja positiivse

rõhu ulatus (soodus on 100—500 mm Hg), filtrimise kestus ja filtri kontrollimine vigastuste suhtes, lisades selleks filtritavale suspensioonile *Serratia marcescens*'it või *Pseudomonas aeruginosa*'t, mis ei tohi pääseda filtraati (kontrollkülv). Katsed näitavad, et viirused pääsevad kergesti läbi filtri, kui suspensioon on valmistatud puljongis või vereseerumis ja kui viiruse kontsentratsioon suspensioonis on küllalt kõrge. Kataforeetilised uurimised näitavad, et enamik filtreeruvaist viirustest kannab negatiivset elektrilaengut. Filtreerumine oleneb ka mikroobiraku konsistentsusest ja elastsusest, sest kergemini pääsevad läbi urvete need mikroobid, millede kehakuju on kergesti muutuv.

Ultrafiltratsiooni abil, kus kasutatakse mitmesuguse urvete (pooride) suurusega kolloodiumist valmistatud membraane, on võimalik ligikaudu määrata filtreeruvate viiruste mõõtmeid. Korduvate filtreerimiste ja tsentrifuugimiste teel saab viiruse suspensiooni vabastada koerakkudest ja teistest kõrvalosakestest. Säärast puhastatud suspensiooni on võimalik ligemalt uurida mitmel teel:

1) Esemeklaasil kuivatatud aine värvimine erilise meetodiga, kasutades selleks Giemsa lahust või viktooria sinise 4R lahust sidrunhappe lisandusega (fikseerimine ja peitsimine ei ole tarvilikud). Selle meetodiga on mikroskoobis nähtavad ainult suuremad viirused.

2) Vaatlus pimedal tagaseinal (ultramikroskoop).

3) Fotografeerimine ultravioletse valguse või x-kiirte abil.

Tähtsaks täienduseks viiruste uurimisel on uuemal ajal ehitatud suure kiirusega (80 000—160 000 pööret minutis) tsentrifuugid, millede abil on korda läinud sadestada suuremaid ja keskmise suurusega viirusi, kuna väikeste viiruste sadestamine vajab hiiglasuurt kiirust, mille saavutamine on seotud suurte tehniliste raskustega. Mainitud meetodite abil nähtavaid moodustisi nimetatakse esialgu elementaarseteks kehadeks (62. joon.).

Filtreeruvate viiruste (elementaarsete kehade) kuju ja arengut on korda läinud jälgida ainult üksikute suuremate tüüpide puhul. Näiteks *Ectromelia*, diameetriga 120 mμ, on kokikujuline, sageli paaridena koos, sigib pooldumise teel, kusjuures tütarrakud võivad ühendusse jääda peenikese niidi abil. Enamiku viiruste kuju kohta

puuduvad alles ligemad andmed. Ultrafiltreerimisel ja fotografeerimisel saadud tulemuste alusel on mõnede tuntud viiruste suurus osutunud järgmiseks: *vaccina* 150 mμ, *herpes* 120 mμ, *influenza* 80—120 mμ, düsenteeria (Shiga) faag 38 mμ ja kollane palavik 17—20 mμ (Elfard).

Filtreeruvad viirused võivad parasiitidena loomade või taimede elusates rakkudes ja kudedes põhjustada mitmesuguseid haigusprotsesse. Nad võivad kauema aja vältel püsida ka tervete loomade (kandjate) organismis, andes juhuslikkude tegurite toimel alguse aktiivsele haigusele. Nende viibimist haiges koes või mõnes aines on äärmiselt raske tõestada. See osutub võimalikuks, kui uuritavast ainest valmistatud suspensiooni filtraat vastuvõtlikule loomale süstituna põhjustab konstateeritava haigusprotsessi. Filtreeruvate viiruste tüübid on harilikult virulentsed teatavale loomaliigile, näidates seejuures erilist afiinsust mõnele koele (närvikude, nahk jne.), kuid nad võivad haiguse ajal viibida ka teistes, vähem vastuvõtlikkudes kudedes ja organismimahlades.



62. joon. *Ectromelia* viirus hiire maksast. (Burnet'i ja Andrewes'i järgi.)

Uurides histoloogiliselt filtreeruva viiruse poolt tekitatud koevigastusi, võib leida sageli rakkude tsütoplasmas või tuumas (võimalik, et ka mõlemas) erilisi, veel vähe tuntud ehitusega kehakesi, milledele on antud nimetuseks „inklusioonikehad". Need on kujult sõõrjad, ovaalsed, piklikud või irregulaarsed. Ehituselt nad võivad olla homogeensed või koosneda baso- või atsidofiilsest algsubstantsist ja terakestest, mis võivad värvuda teisiti kui algsubstants. Inklusioonikehad tekivad mõnede viiruste infektsiooni puhul kiiresti (24 t.), teiste puhul nõuab see rohkem aega (3—6 p.). Inklusioonikehadest arvavad ühed, et need on protozoad, teised

peavad neid raku degeneratsiooni produktideks ja kolmandad näevad neis mikroorganismide kogusid, mida ümbritsevad raku reaktsiooni produktid (*Chlamydozoa*). Tõenäosena paistab, et inklusioonid sisaldavad vastava viiruse elementaarseid kehakesi. Seepärast on inklusioonid diagnostilise väärtusega.

Ultraviirused elavad ja sigivad elusas mateerias, peamiselt kiiresti regenereeruvais noortes rakkudes (*cytotropia* ehk *biotropia*). Rakud, mis kiiresti reprodutseeruvad, tõmbavad ligi ultraviirust, samuti kui magnet tõmbab enda külge rauda (H a u d u r o y). Praktiliseks otstarbeks on neid juba mitmeti kasvatatud elusa organismi kudedes: rõugelima paljundamine pookimise teel vasika nahasse, marutõve viiruse kultiveerimine jänese närvikoes ja rõuge viiruse kasvatamine jänese ja pulli seemnenäärmeis. Paljude viiruste kasvatamine on osutunud võimalikuks areneva kanaloote korio-allantoidsel membraanil; kultiveerimiseks kasutatakse laboratooriumis kunstlikult hauduvaid kanamune, milledesse süstitakse viiruse suspensiooni. Mõnede viiruste kultiveerimine *in vitro* on võimalik koekultuuri abil (Carrel'i meetod), samuti ka mitmesuguste organite elusatest rakkudest või embrüonaalkoest valmistatud emulsioonides. Filtreeruvate viiruste kasvatamine elusaist rakkudest vabas söötmes viibib alles katsetamise ajajärgus.

Filtreeruvate viiruste resistentsus vastab ligikaudu vegetatiivsete bakterite resistentsusele: 55—60° C rõske kuumus surmab nad 30 min. vältel, kuivanud aines püsivad nad elusatena $^1/_2$—1 a. ja saadud pulbris kannatavad nad 100° kuumutamist 5—10 min.; nad on väga resistentsed külmale (—180° C) ja glütseriinile, sest 50% glütseriin 0,85% NaCl lahuses on osutunud eriliselt soodsaks filtreeruvate viiruste konservimisel. Keemilisist vahendeist on nad eriliselt tundlikud *kal. hypermanganicum*'i lahusele (oksüdeerumine).

Filtreeruvate viiruste metabolismi suhtes puuduvad andmed. Haigustunud looma organismis toimivad nad antigeenina, põhjustades spetsiifiliste pretsipitiinide, aglutiniinide ja komplementi siduvate immuunkehade tekkimist.

Ühele loomaliigile virulentse filtreeruva viiruse pookimine passaažidena teisele loomaliigile võib muuta viiruse virulentsuse

iseloomu. Näiteks inimese rõugete pustuli mäda ja marutõve uulitsaviiruse pookimine jänestele muudab sügavalt nende viiruste algtoimet. Viirused võivad edasi kanduda otsese kontakti teel või insektide kaudu (kollane palavik jt.).

Vaidlused filtreeruvate viiruste loomuse suhtes ei ole veel lõppenud. Ühelt poolt toonitatakse, et need on organiseeritud autonoomsed eluolesed, teiselt poolt arvatakse, et need on poolvedelad organiseerimata moodustised, mis võivad piiramatult sigida (*contagium fluidum vivum*). Ülekaalus on uuemal ajal arvamus, et filtreeruvad viirused on tõelised väikesed mikroorganismid. Kõige selle juures jääb raskelt mõistetavaks asjaolu, et mõned äärmiselt väikeste dimensioonidega viirusekehad (10 mμ, suu- ja sõratõbi), mis on mõõtmeilt võrdsed ainult 8—10 valgumolekuli mahuga, võivad sooritada keerulise iseloomuga füsioloogilisi toiminguid (sigimine, toitumine jne.) ja avaldada spetsiifilist antigeenset toimet. Mõned filtreeruvad viirused võivad stimuleerida harilikkude mikroobide virulentsust. Nii on tuntud haigused, mis algavad filtreeruva viiruse infektsiooniga ja lõpevad teiste, varemini saprofüütidena organismis esinevate mikroobide poolt esilekutsutud sekundaarse infektsiooniga.

Selgus, et ka mõnedel nendel mikroobidel, mida harilikult filtreeruvaks ei peeta, võivad esineda niisugused arenemisvormid, mis pääsevad läbi filtriurvete. Sääraseid vorme on leitud tuberkuloosihaigete rõgast, tuberkuloosihaige merisea mahlanäärmetest ja *M. tuberculosis*'e kultuuridest. Peale selle on neid leitud ka mõne teise mikroobi liigi juures: *Shigella dysenteriae, Eberthella typhosa, C. diphtheriae* ja *Streptococcus*. Filtreeruvatel vormidel on ühiseid, kuid ka erinevaid omadusi filtreeruvate viirustega. Filtreeruv vorm võib olla kultiveeritav harilikes, bakterioloogias tarvitusel olevais söötmeis, andes vastava mikroobi algvormi. Filtreeruvate vormide tähtsuse kohta patoloogias puuduvad lähemad andmed.

Filtreeruvate viiruste poolt inimesel ja loomadel esilekutsutud haiguste hulk on suur; nimetame siin ainult tuntuimaid: *poliomyelitis, encephalitis epidemica, variola, herpes febrilis,* sarvloomade

katk, lindude katk, hobuste *anaemia perniciosa, febris aphtosa* ja *lyssa;* taimedel tuntakse tubaka mosaiikhaigust, kartulite, tomatite ja teiste taimede kidumishaigust (viirushaigust).

Filtreeruvatele viirustele ei ole võimalik kindlat paika leida mikroorganismide süsteemis; selleks puuduvad alles tarvilikud andmed nende morfoloogia ja füsioloogia üle. Arvamused kalduvad sinnapoole, et mõned neist kuuluvad loomariiki, teised aga taimeriiki.

Bakteriofaagid. Twort (1915) leidis rõugelimas filtreeruvat toimeainet, mis lõhustas stafülokokke. Sama iseloomuga ainet leidis d'Hérelle (1917) batsillaarset düsenteeriat põdeva haige roojas, mis lõhustas düsenteeriabatsille. Seesugust bakteriolüüsi hakati nimetama „Twort-d'Hérelle'i fenomeniks" ja lüütilist toimeainet bakteriofaagiks ehk lühendatult faagiks. Põhjalikumad uurimised näitasid, et faage leidub inimese ja loomade sooltes, roojas, mullas, vees ja paljudes teistes ainetes. Toime iseloomult on faage mitu liiki: *Shigella dysenteriae-, Eberthella typhosa-, Escherichia coli-, Salmonella schottmuelleri-, Staphylococcus*-faag ja mitmed teised. Bakteriofaagid pääsevad läbi bakterite filtri (filtreeruvad) ja sarnanevad mõõtmeilt väiksemate filtreeruvate viirustega (Shiga düsenteeria-faag 38 m$\mu$, *coli*-faag 17—25 m$\mu$, *Salmonella*-faag 10 m$\mu$ ja teised 50—75 m$\mu$). Faagid lõhustavad ainult elusaid tundlikke baktereid nende kasvu aktiivses (pooldumise) faasis. Lisades puljongsöötmele vastavat faagi sisaldavat filtraati tundlikkude bakterite söötmesse külvamise ajal või kasvu varajasel astmel, hävivad võrdlemisi kiiresti kas kõik kasvavad bakterid, mille puhul sööde jääb selgeks, või osa neist. Viimasel juhul algab söötmes kauemat aega kestnud kultiveerimisel uuesti bakterite kasv ja sööde muutub sogaseks (sekundaarne kasv). Sekundaarselt kasvavad bakterid on resistentsed sama faagitüve toimele, kuid võivad hävida teise faagitüve toimel. Sellest selgub, et faagide toimel muutuvad vastava bakteri struktuur ja antigeensed omadused (Bail, Asheshov jt.), ja et paljud bakterid ja eosed võivad olla vastava faagi kandjateks (sümbioos), ilma et nad ise seejuures häviksid. Bakteri pooldumisel läheb osa faage üle tütarrakkudele. Seesugustelt

lüsogeensetelt bakteritelt võivad faagid vabaneda ja hävitada teisi tundlikke baktereid. Kui külvata Petri tassile valatud agarsöötme pinnale tihedalt tundlikke baktereid ja hõõruda siis samale pinnale laiali mõni tilk vastavat faagi sisaldavat filtraati ning kultiveerida seesugust külvi termostaadis, siis jäävad kasvavale kultuurile tühjad kohad, millede hulk oleneb filtraadis leiduvate faagide hulgast. Sääraste tühjade kohtade suurus (väikesed ja suuremad), nende servade kuju (ühtlased või näritult sopilised) ja neid ümbritseva kultuuri välimus on erinevad ja olenevad faagi liigist (Asheshov, Andrewes ja Elford). Faagide hulk kasvab lüütilise protsessi tagajärjel noorte poolduvate bakterite arvel. Bakteriofaagide paljundamiseks lisandatakse noorele tundlikule kultuurile mõni tilk faage sisaldavat filtraati, lastakse seista 37° C t°-s kuni bakteriolüüsi toimumiseni; filtritakse läbi bakterite filtri ja korratakse edasikülvamist, kuni tekib faagiderikas filtraat. Lüütilise protsessi käiku ja muutusi baktereis on võimalik jälgida ultramikroskoobis.

Bakteriofaagid on väga spetsiifilised ja hävitavad peamiselt üht bakteriliiki. Ainult mõned faagid hävitavad erineva kiirusega mitmesse liiki kuuluvaid, kuid rakupinna antigeeni ehituselt sarnaseid baktereid (Burnet). Üks filtraat võib sisaldada mitut liiki faage ja neid on võimalik, kuid mitte ilma raskusteta, eraldada üksteisest kasvatamise abil tundlikkude bakterite kultuurides. Bakteriofaagide suhtes püsib ikka veel küsimus, kas siin on tegemist eluvõimeliste filtreeruvate organismidega või mõne teise faktoriga. Ühtede arvates oleneb bakteriolüüs spetsiifilistest fermentidest, teised väidavad, et seesugust lüütilist mõju avaldavad ka leukotsüütide ekstraktid. Paljud uurimised räägivad aga selle poolt, et bakteriofaagid on eluvõimelised organismid filtreeruvate viiruste liigist. Suurem osa faage kannab negatiivset elektrilaengut. Faagid on tundlikud soojuse ja keemiliste ainete suhtes, samuti kui bakterid ja viirused (Natarajan ja Hyde). Nad sadestuvad tsentrifuugimisel suure kiirusega elektertsentrifuugis. Faagid on antigeensete omadustega ja spetsiifiline antifaagi immuunseerum neutraliseerib faagi lüütilise toime (Bordet ja Ciuca).

Faagid võivad baktereid surmata ilma bakteriolüüsita. Surmatud bakterid adsorbeerivad spetsiifilist faagi ilma bakteriolüüsi tekkimiseta (Burnet). Bakteriofaagide toime iseloomust paistab, et filtreeruvad viirused võivad esile kutsuda patoloogilisi protsesse bakterites, muutes rakkude struktuuri või hävitades neid täielikult. Bakteriofaage on muutliku eduga kasutatud mitmesuguste nakkushaiguste (*S. dysenteriae, Escherichia coli*, stafülokokkide jt. infektsioonide) ravimisel, kuid see küsimus vajab ja väärib põhjalikumat selgitamist.

## VI peatükk.

## Mikroobide esinemine ja levimine looduses.

Juba Leeuwenhoek pani tähele, et mikroobe leidub igal pool: vees, mullas ja roiskuvas aines. Pasteur oli panspermia teooria looja, mille järgi võib mikroobe leida igavestes jäämägedes, kõige kõrgemail mäetippudel, meresügavustes, kuuma vee allikais, õhus, mullas, inimese ja loomade organismis. Nad esindavad elu seal, kus teised elusad organismid täiesti puuduvad. Seejuures paistab, et on kohti, kus mikroobid ainult viibivad, ilma et nad seal sigiksid, kuna teistes kohtades on võimalik nende sigiminegi. Paljude mikroobide elunõuded on niivõrra erilised, et nad ainult teatavas ümbruses võivad viibida ja sigida. Sama nähtus esineb taimeriigis, kus tuntakse näit. metsa, soo, liiviku ja mäestiku floorat.

Mikroobide kiiret levimist võib seletada nende kiire sigimisega, ulatusliku kohastumisvõimega ja väikese kasvuga. Tuul kannab ühest kohast teise tolmu ja ühes sellega tolmuosakestele kuivanud mikroobe. Langeb tolm ühes mikroobidega mingile esemele, siis rändavad nad koos ja sel teel võivad mikroobid rännata pikki vahemaid. Näiteks kaubavahetus ühe või teise riigi ja maakoha vahel on ühtlasi ka mitmesuguste mikroobide vahetus. Euroopa saab Aasiast palju tooraineid ja võib ühes sellega saada

ka koolera ja katku idusid. Pääsevad mikroobid vette, siis kanduvad nad vooluga kaugele edasi.

Arvestades praeguse aja kiiret liiklemisvõimalust ja intensiivset rahvusvahelist läbikäimist ei ole kahtlust, et mikroobe levitavate tegurite hulgas seisab inimene esimesel kohal. Tema kannab kaasas suurel hulgal mitmesuguseid mikroobe (sooltes, suus, nahapinnal), ja kuhu astub inimese jalg, sinna jääb maha suurel arvul mikroobe. Tuleb inimene taudipesast, siis võib ta kaasa tuua nakkushaiguse idusid, mis alustavad uues kohas oma hävitavat tööd taudina. Demonstratiivset pilti pakub meile selles suhtes Maailmasõda. Kõigist ilmakaartest koju tulles tõid sõdurid kaasa sääraste haiguste idusid, mida varemini nende kodumaa ei tundnud. Kui vaatame taudide levimiskaarti, siis näeme, et need liiguvad edasi peamiselt suuremate veeteede (jõgede) ja raudteede suunas. Palverändajate kaudu taudide edasikandumine on juba tuttav nähtus.

Üldiselt tuntud on loomad ja mitmesugused insektid mikroobide levitajaina. Rotid kannavad edasi katku, kärbsed siberi katku, düsenteeriat ja koolerat, täi tähnilist ja korduvat soetõbe, hallasääsk *(Anopheles maculipennis)* malaariat jne. Pääsedes laevadele või raudteevagunitesse võivad mainitud levitajad sageli väga pikki reise teha, kuid nende tegurite toime on peamiselt seotud selle maakohaga, kus on levitajate alaline asupaik.

Vähe uuritud mikroobide-geograafia, mis leiab uuemal ajal suuremat tähelepanu, näitab, et suurem osa mikroobe on kosmopoliidid, kuid mõned liigid on seotud geograafiliste ja kliimaliste tingimustega. Me teame, et pidalitõve tekitaja *(M. leprae)* armastab teadmata põhjustel ookeani- ja mereäärseid maakohti. Mõned pärmseened *(Schizosaccharomyces octosporus)* leiduvad Aasias rosinate küljes, kuna Euroopas neid harilikult pole leida. Piima hapnemist tekitavad põhjamaal teissugused mikroobid kui lõunamaal.

Troopiliste maade mikrofloora erineb märksa põhjamaade omast. Soe rõske lõunamaa kliima oma rikkaliku fauna ja flooraga on mikroobidele elamiseks ja sigimiseks kohasem kui põhjamaa lumeväljad. Troopiliste maade mikrofloora on ülirikas mitme-

suguste mikroobide liikidest, kuna põhjamaade oma on neist võrdlemisi vaene. Mõned mikroobiliigid on väga nõudlikud ümbruse tingimuste suhtes. Kuuma vee allikates esinevad termofiilsed mikroobid, väävliveeallikais väävli- ja rauaveeallikais rauamikroobid.

Õhu mikrofloora on üldiselt väga muutlik ja seda mõjustavad mitmesugused tegurid. Mida rohkem on õhus tolmu, seda rohkem liigub seal harilikult mikroobe. Rõske ilm ja vihm puhastavad õhku tolmust ja ühes sellega mikroobidest. Uurimised näitavad, et mikroobide arv õhus oleneb aastaajast; kõige rohkem on neid õhus suvekuudel, vähem kevadel ja sügisel, kõige vähem talvekuudel. Valguse- ja päikeseküllus, samuti ka kestev põud toimivad surmavalt õhumikroobidesse. Kohtades, kus liigub palju rahvast, iseäranis suurtes linnades ja rahvarikastes ruumides, on õhus märksa rohkem mikroobe kui nendes kohtades, kus viibib vähe inimesi. Suurel arvul viibib mikroobe haigemajade õhus. Kui silmas peame, et haigemajade õhus võivad viibida nakkushaigusi tekitavad mikroobid ja et õhu kaudu mikroobid kiiresti levivad, siis on mõistetav, kui ohtlikuks võib osutuda elanikele linna keskel viibiv haigemaja, eriti siis, kui selles on ravimisel nakkushaigusi põdevad isikud. Säärastest infektsioonipesadest võivad mikroobe edasi kanda kärbsed, hiired ja rotid.

Õhu kaudu kanduvad edasi ja levivad paljud nakkushaigused (läkaköha, influentsa jt.). Suurem osa õhumikroobe on mitmesugused saprofüüdid, mis põhjustavad orgaanilise aine käärimist ja roiskumist. Nad võivad osutuda suureks takistuseks veini- ja õlletööstuses, kutsudes esile mittesoovitavat käärimist. Pääsedes toiduainetesse, võivad mikroobid neid kiiresti kõlbmatuks muuta ja vahel suurt kahju tekitada. Mainitud asjaolud sunnivad meid hoolitsema õhu puhastamise eest, mis on siis kergem, kui me hoidume õhu roojastamisest.

Mikroobe võib nimetada veeorganismideks, sest sööde, milles nad sigivad, peab sisaldama rohkesti vett (50—70%). Kõik loomulikud veekogud (jõed, järved, mered, tiigid jne.) kubisevad mikroobidest. Veekogude mikrofloora ja mikroobide arv on harilikult muutlik ja oleneb nendest vahenditest, millega vesi kokku

puutub. Suurema osa mikroobest saavad veekogud maapinnast, õhust, mitmesugustest jäänustest, inimeste ning loomade roojast jne. Mõned mikroobid on alalised vee-elanikud ja neid võib nimetada sõna täies mõttes veemikroobideks (*Flavobacterium aquatile, Pseudomonas fluorescens, Micrococcus candicans, Aerobacter cloacae, Spirillum volutans, Sp. serpens, Sp. undula* ja mõned algloomade liigid). Destilleeritud vees, mis on kauemat aega seisnud, leidub vähe mikroobe, sest neil puudub seal elamiseks ja sigimiseks tarvilik toidutagavara. Vihmavesi on harilikult vaene mikroobest. Peaaegu vaba mikroobest on allikavesi, mis sügavast maarüpest välja voolab. Jää mikrofloora on väga mitmekesine ja oleneb veest, mis on jääks külmunud. Kõige rohkem mikroobe sisaldab järve-, jõe-, tiigi- ja merevesi. Mida kaugemal on veekogud elukohtadest, seda vähem leidub neis mikroobe. Mida kaugemal kaldast, seda vähem on merevees mikroobe. Kalda mõju merevee mikrofloorale ulatub 5—6 sõlme kauguseni ja 3000—4000 meetri sügavuses kaovad mikroobid.

Keetmata vesi, mida me harilikult joogiks tarvitame, sisaldab alati palju mikroobe (100—500 mikroobi 1 $cm^3$ kohta). Muidugi ei saa ainult mikroobide arvu põhjal vee väärtuse üle otsustada, vaid selleks peab silmas pidama vee mikrofloora iseloomu. Kõige õigem oleks kindlaks teha, kas vesi sisaldab patogeenseid mikroobe või mitte, kuid seesugused uurimised on seotud suurte raskustega. Me teame aga, et veekogud saavad patogeenseid mikroobe peamiselt inimese ja loomade väljaheidete kaudu ja kui vees leidub neid mikroobe, mis esinevad ekskrementides alati suurel arvul, siis on põhjendatud kahtlus, et seal ka patogeensed mikroobid võivad viibida. Soolte mikrofloora alatisteks esindajateks on *Escherichia coli, Proteus vulgaris* ja *Aerobacter cloacae*, mida on vees kergem avastada kui patogeenseid mikroobe ja millede arv on vee puhtuse i n d i k a a t o r i k s.

Kui loodusjõud ise ei võitleks mikroobidega, siis muutuksid veekogud maapinnal lühikese aja jooksul kõlbmatuks mikroobide seguks. J õ g e d e e n e s e p u h a s t u s oleneb kahest peategurist: päikesekiirtest ja vee liikumisest. Peale nende avaldavad surmavat toimet mikroobidesse mitmesugused keemilised ja bioloogilised

protsessid, milledest elavalt osa võtavad veeloomad ja -taimed. Talvekuudel leidub vees sageli rohkem mikroobe kui kesksuvel, mida võiks seletada talviste päikesekiirte väiksema toimega. Iseäranis rikkad mikroobidest on veekogud kevadel, mil kokkuvoolav vesi enesega kaasa toob palju mustust ning sellega ühes mikroobe. Patogeensete mikroobide elukestus vees ei ole harilikult pikk. Kui ümbrusest korduvalt vette ei pääse uusi patogeenseid mikroobe, siis võib loota, et infitseeritud vesi nendest võrdlemisi kiiresti vabaneb. Tervishoiulisest seisukohast lähtudes on puhas vesi aine, mida õigusega igaüks ihaldab. Seepärast peab veekogude roojastamist igapidi katsuma ära hoida.

Maapind, millega me elus sagedasti kokku puutume, on rikas mikroobest. Orgaaniliste olluste küllus, rõskus ja kaitse päikesekiirte toime eest on soodsad mikroobide sigimiseks maapinnas. Maapind on algastjaks, kust mikroobid õhku ja vette levivad. Maapinna mikrofloora on väga muutlik ja oleneb maapinna omadustest. Mõnes kohas on maapinna keemilised ja teised omadused mikroobidele elamiseks ja sigimiseks seevõrra vaenulikud, et see osutub steriilseks. Küntud ja väetatud maapind on alkaalilise reaktsiooniga, mille tõttu seesuguses maapinnas leidub rohkem mikroobe kui happelise reaktsiooniga söödi- või turbamaas. Suvekuudel on mikroobide arv maapinnas kõige suurem, talvel kõige väiksem. Alalistest maapinna mikroobidest võiks nimetada järgmisi: *Proteus vulgaris, Bacillus mycoides, Bac. mesentericus, Bac. subtilis, Actinomycetes, Rhizobium leguminosarum, Azotobacter,* hallitusseened ja paljud algloomad. Patogeenseist mikroobest leiduvad maapinnas: *Clostridium tetani, Clostr. sporogenes* ja *Bac. anthracis,* kuna teised seal harvemini esinevad. Fränkel'i uurimiste järgi leidub kõige pinnapealsemas maakihis vähem mikroobe kui 1—2 cm sügavuses, mida võib seletada päikesekiirte toimega ja rõskuse puudusega pinnapealses maakihis. Sügavamal maapinnas väheneb mikroobide arv ja 4 meetri sügavuses neid harilikult enam ei leidu. Maapind on heaks kurnaks, mis ei lase mikroobe ja orgaanilisi aineid sügavale tungida. Mikroobe võivad maapinnalt sügavamale kanda ussikesed ja tõugud; samuti võivad nad sügaval viibivaid mikroobe pinnale kanda.

Mikroobide eluiga maapinnas on väga mitmesugune ja oleneb maapinna keemilistest ning bioloogilistest omadustest. Suurem osa patogeenseid mikroobe sureb maapinnas lühikese aja jooksul, näit. *Eberthella typhosa, Vibrio comma* 3—4 nädala ja *M. tuberculosis* 2—3 kuu jooksul. Vastupidavad on eostega mikroobid, mis võivad maapinnas aastate jooksul oma eluvõimet alal hoida. Kuivanult võivad mõned mikroobid maapinnas lõpmata kaua viibida. Nii on leitud elusaid mikroobide eoseid mammutijäänustest, mis võib-olla kümneid tuhandeid aastaid maa sees on viibinud. Elusaid mikroobe on leitud Rooma haudades, Egiptuse muumiates jne.

Mikroobid muudavad vahetpidamatult maapinna keemilist koosseisu, seal esile kutsudes mitmesuguseid biokeemilisi protsesse (*humificatio, nitrificatio, oxydatio* jne.), mis andis bioloogidele põhjust maapinda „elusaks" nimetada — „quelque chose de vivant".

Arvesse võttes inimese ligidast kontakti maapinnaga, peab teadma, et maapinna puhtuse eest hoolitsemine on üks suuremaid tervishoiulisi ülesandeid.

Inimesel, loomadel ja ka taimedel võib tähele panna nende normaalset mikrofloorat, s. t. mitmesuguseid mikroobe, mis on ühe või teise organismi lahutamatuiks kaaslasiks kogu elu kestel. Juhuslikud mikroobid viibivad seal ajutiselt kas saprofüütidena või parasiitidena. Inimeste ja loomade naha pinnal ja nahapinna kihtides leidub alati mitmesuguseid mikroobe, mis ei põhjusta harilikult haigusprotsesse (*Bac. subtilis, Staphylococcus, Streptococcus, Sarcina* jne.). Pääsevad aga need mikroobid nahavigastuse järel sügavamale koesse, siis võivad mõned neist tekitada raskeid haigusprotsesse. Peale nende leidub naha pinnaosas mikroorganisme, mis seal tekitavad patoloogilisi nähte (dermatofüüdid).

Taime koore väliskihid on sageli rikkad mitmesuguseist mikroobest. Taimede normaalne mikrofloora oleneb suuremalt jaolt ümbrusest, kuid osalt on see spetsiifiline taimeliigile. Nii võib leida, et ühes või teises maakohas on viinamarjad kaetud pärmseentega, mis esile kutsuvad ühe ja sama iseloomuga käärimisprotsesse. Seda nähtust kasutatakse naturaalveinide valmistami-

sel. Taimedel võib leida haigusprotsesse, mis on analoogsed loomade nahahaigustega ja millede tekitajaiks on mitmesugused seened (*Erysiphaceae* jne.).

Sündimisest surmani elutsevad inimese ja loomade sooltes väga mitmesugused mikroobiliigid, mis muutuvad elu vältel. Nad erituvad roojaga ja levivad ümbruses. Kõikidel limanahkadel (suus, ninas, silmas jne.) esinevad samuti väga mitmesugused mikroobid, mis sealt kergesti pääsevad ümbrusse. Sageli võivad inimesed ja loomad oma organismis kanda patogeenseid mikroobe, ilma et neil oleks märgata haigusnähte. Nad liiguvad vabalt ühest kohast teise ja külvavad haigusidusid, mis teisi infitseerivad.

## VII peatükk.

## Mikroorganismide füsioloogia.

Mikroobid on tundlikud ja neil on omadus vastata välismaailma ärritustele tegevusavaldustega — liikumisega, sigimisega, mitmesuguste energiavormide vabastamisega ja keemiliste ainete valmistamisega. Mikroobide reaktsiooni energia on harilikult suurem impulsi energiast. Iga mikroob nõuab oma füsioloogiliste protsesside normaalseks toimumiseks teatava määra ärritust välismaailmalt. Mikroobide parajat ärrituse hulka nimetatakse optimumiks. Miinimumiks nimetatakse kõige väiksemat ja maksimumiks kõige suuremat ärritust, mille puhul on veel mikroobide eluprotsessid võimalikud. Väljaspool miinimumi ja maksimumi piire kaovad mikroobide nähtavad eluavaldused ja elu muutub latentseks. Mida kaugemal väljaspool seisab ärritus äärmistest piiridest, seda surmavam on tema toime mikroobile. Paljud näited tõendavad, et mikroobide reaktsioon välismaailma ärritustele on rohkesti erinev liitorganismide omast. Näiteks surevad loomad +50° C $t^0$-s, kuid mõned mikroobid elavad ja sigivad säärases $t^0$-s ja nende eosed võivad elu alal hoida veel +100—130° C $t^0$-s. Kultuurinimesed ei tunne maitsemise abil 0,3% ja alla selle keedu-

soolalahust, kuna mõned mikroobid 0,001% keedusoolalahusele juba märgatavalt reageerivad. *Aspergillus niger*'i eosed ei idane *argentum nitricum*'i 1 : 100 000 000 lahuses.

Mikroobirakkude ainevahetuse (metabolismi) protsessid moodustavad suurema osa kogu nende aktiivsusest, seepärast etendab mikrobioloogiline keemia silmapaistvat osa mikroobide füsioloogia käsitlemisel.

## Mikroobirakkude keemiline koostis.

Mikroobirakud on ehitatud ligikaudu samadest ainetest, kui loomade ja taimede rakud. Üksikute mikroobiliikide raku koostised näitavad erinevusi, samuti on võimalikud erinevused ühe ja sama liigi üksikute tüvede rakkude koostises, mida põhjustavad suurel määral kasvutingimused ja kunstliku söötme koostis. Üldiselt on andmed mikroobirakkude keemilise konstitutsiooni kohta alles katkendlikud, seepärast mainime siin peamiselt neid aineid, mis on enam-vähem üldised kõigile mikroobidele.

Veesisaldus mikroobirakkudes on väga varieeruv ja kõigub 73—80% vahel. Samuti varieeruv on mikroobide kuivast kaalust saadud tuhk (2,0—14%), mis oleneb suurel määral söötme koostisest. Mineraalollustest esinevad neis Ca, Mg, Na, K, $P_2O_5$, Cl ja $SO_4$. Proteiinide hulk moodustab 8—15% kuivatatud mikroobide kaalust. Proteiinidest esinevad albumiin ja väiksemal määral globuliinid. Lähemad analüüsid näitavad, et bakteriaalsed proteiinid on ehitatud järgmistest amiinohapetest: arginiin, histidiin, lüsiin, türosiin; harvemini esinevad leutsiin, trüptofaan ja tsüstiin. Peale selle esinevad alati bakterites lämmastikku sisaldavaist ainetest nukleoproteiinid, väiksemal määral guaniin, ksantiin, hüpoksantiin, adeniin ja puriinid (nukleiinhape). Süsivesikutest on vastava värvimise abil võimalik bakterites leida glükogeeni ja täpsemate keemiliste analüüside abil mitmesuguseid polüsahhariide, mis esinevad peamiselt raku pinnakihtides ja kihnudes. Polüsahhariidid on üldiselt igale mikroobiliigile spetsiifilised, kuid nende osa mikroobide elus ei ole veel lõplikult selgita-

tud. Mikroobes leidub varieeruval hulgal rasvaineid, lipoide ja vahaolluseid, millede eraldamine rakkudest on võimalik eetriga, atsetooniga ja teiste rasvaineid sulatavate substantsidega.

### Füüsikaliste tegurite toime mikroobidesse.

Mikroobide aktiivne elu on võimalik ainult teatava temperatuuri piirides. Kõige energilisemaid mikroobide eluavaldusi näeme temperatuuri optimumi puhul. Kui ligineda temperatuuri miinimumile ja maksimumile, kaovad kord-korralt mikroobide üksikud elufunktsioonid ja äärmiste temperatuuripunktide juures muutub mikroobide elu latentseks. Lõplikult surmavaks saab neile temperatuur, mis seisab maksimumi ja miinimumi piiridest kaugel väljaspool. Mikroobidel on omadus liikuda neile optimaalse soojuseallika poole ja taanduda eemale ebasobivast soojuseallikast (termotaksis).

Mikroobide vegetatiivne elu on võimalik 0—75° C soojuses, kuid temperatuuri maksimum ja miinimum erinevad peaaegu igal mikroobiliigil: *Neisseria gonorrhoeae* +30° C miinimum, +37° C optimum, +40° C maksimum; *M. tuberculosis* +29° C miinimum, +37° C optimum, +40° C maksimum; *Escherichia coli* +15° C miinimum, +37° C optimum, +45° C maksimum; *Bac. thermophilus* ehk *viridulus* 0° C miinimum, +55° C optimum, +75° C maksimum. Mikroobide vegetatiivse elu temperatuuri piire on võimalik kunstlikult laiendada sel teel, et neid kultiveeritakse pikema aja jooksul äärmistele temperatuuridele kord-korralt liginevas soojuses.

Mikroobid on külmale vastupidavamad kui kuumusele. Külm takistab peamiselt mikroobide kasvu, kuid ei tapa neid. Paljud bakterid ja eosed jäävad eluvõimelisteks pärast 6-kuulist viibimist vedelas õhus, mille temperatuur ulatub kuni —193° C (frigostabiilsed). Ainult korduv batsillide külmumine madalas temperatuuris ja sulamine harilikus temperatuuris avaldab surmavat toimet batsillidesse. Üksikud mikroobiliigid (spirohheedid, *N. gonorrhoeae, N. intracellularis* jt.) on tundlikud külma toimele (frigolabiilsed).

Tõuseb kasvu temperatuur 5—10° C üle optimumi, siis kaotab mikroob ühe või teise omaduse ja tekivad degeneratsioonivormid. Kuiv kuumus 150—160° C tapab 30 minuti jooksul kõik vegetatiivsed mikroobid ja osa mikroobide eoseid. Ainult üksikute mikroobiliikide eosed suudavad lühema aja jooksul 200—300° C kuumust välja kannatada. Enamik eosteta mikroobe sureb 50—60° C soojas vees 10 minuti jooksul ja 70° C temperatuuris 5 minuti jooksul. Keev 100° C vesi tapab kõik vegetatiivsed mikroobid lühikese aja jooksul. Kõik eosed surevad 120—130° C kuuma vee aurus keskmiselt 15 minuti jooksul.

Temperatuuri optimumi suhtes võib mikroobe mitmesse liiki jagada:

a) Psührofiilsed mikroobid, mis oma kasvuks ja sigimiseks armastavad madalat temperatuuri (optimum 15—20° C). Nende hulka kuuluvad paljud kalade, vee ja roiskumismikroobid.

b) Mesofiilsed mikroobid, milledel on optimum 37° C. Siia kuuluvad kõik patogeensed mikroobid, millede kasvuoptimum vastab ligikaudu kehatemperatuurile.

c) Termofiilsed mikroobid, mis kasvavad kõrgemas temperatuuris (optimum 50—55° C). Siia kuuluvad mõned veebakterid, kuuma vee allikate, maapinna-, sõnniku-, piima- ja soolte-mikroobid.

Enamik mikroobe ei tarvita oma sigimiseks ja elutegevuseks valgust. Ainult üksikud eluavaldused kiirenevad valguskiirte toimel (pigmendi tekkimine). Valgus on mikroobidele ärritajaks, millele nad vastavad liikumisega (fototaksis). Fototaksis on positiivne, kui mikroobid (fotofiilsed) liiguvad valguseallika poole, negatiivne, kui nad (fotofobiilsed) sellest eemalduvad. On mikroorganism oma asupaiga aluspinnale kinnitatud, siis ei saa ta enam liikuda; ta sirutab ainult oma liikuva osa valguse poole või valguse poolt ära. Seesugustel kordadel räägitakse positiivsest ja negatiivsest fototropismist.

Dispergeerunud ehk hajunud valgus ei toimi takistavalt enamiku mikroobide kasvule, ainult üksikud liigid on sellele väga tundlikud. Otsesed päikesekiired on mikroobidele kahjulikud või koguni surmavad. Toimivad need lühikest aega, siis

takistavad nad mikroobide kasvu. Kauemat aega kestvate päikesekiirte toimel surevad mikroobid või nad kaotavad osa endi omadustest ja tekib uus generatsioon, mis võib erineda endisest kujult ja funktsioonidelt. Kui kasvatada säärast generatsiooni pikema aja jooksul pimedas, siis võib ta saada tagasi endised omadused. Mida kõrgem temperatuur, seda suurem on päikesekiirte surmav toime mikroobidesse. Hapnikuta ruumis on mikroobide vastupidavus päikese- ja valguskiirtele palju suurem kui hapnikuga ruumis.

Päikesevalguse toime uurimisel peab kõrvaldama soojuskiirte toime. Vastasel korral võidakse insolatsiooni arvele panna tulemus, mis on saavutatud soojuskiirte toimega. Selleks lastakse päikesevalgus enne mikroobidega kokkupuutumist läbi külma vee, mis soojuskiired täielikult absorbeerib. Teisest küljest tuleb silmas pidada, et päikesevalgus võib muuta keskkonna (miljöö) koosseisu, kus asuvad mikroobid, ja sellega kaudselt halvasti toimida mikroobide vitaalsusele. Et tundma õppida päikesevalguse otsest toimet mikroobidesse, selleks peab neid sadestama suspensioonist ja valgust laskma toimida kõrvalainetest vabadesse mikroobidesse. Nii on teada, et söötmeis, mis viibivad päikesekiirte toime all, tekivad oksüdatsiooni tagajärjel vesiniku ülihapend ($H_2O_2$), formaldehüüd ja teised mürgised ained, mis takistavad mikroobide kasvu ja rikuvad söötmeid.

Ultravioletsed, violetsed ja sinised kiired toimivad surmavalt mikroobidesse, kuna rohelised neid vähe vigastavad, punased ja kollased kiired aga neid sugugi ei vigasta. Ultravioletsed kiired, millede läbitungimisvõime on väga madal, mõjustavad ainult valgustatud organismi pinnakihte. Nad põhjustavad keemilisi ja füüsikalisi muutusi mikroobiraku proteiinide molekulaarsetes gruppides, halvates sellega tugevalt raku vitaalsust. Mõned väidavad, et mainitud reaktsioon on fotoelektrilise iseloomuga. Ultravioletsed kiired toimivad hävitavalt ka mikroobide mürkidesse. Erilist kaitset nende toime vastu omavad fluorestseeruvad bakterid *(Pseudomonas aeruginosa)*.

Elektri-kaarlambi valguse toime mikroobidesse on võrdlemisi tugev; 900 küünla valgus 12 cm kauguselt surmab paljud patogeensed mikroobid 3—5 minuti jooksul.

Raadiumi $\alpha$- ja $\beta$-kiired katkestavad kiiresti mikroobide sigimise ja kahandavad nende virulentsust; toimivad nad aga tundide kestel, siis surevad mõned mikroobid ja nende eosed. Mida rohkem on raadiumisoola ja mida ligemal ta seisab mikroobide kultuurile, seda suurem on selle toime. Radiosensibiliteedi suhtes jagunevad mikroobid mitmesse liiki.

Tugevad röntgenikiired (x-kiired) takistavad mikroobide kasvu, kuid nende surmav toime on varieeruv ja üldiselt nõrk. Katoodkiired on nähtavasti suurema surmava toimega kui anoodi omad.

Tappeiner leidis, et päikesevalguse surmavat toimet mikroobidesse võib sel teel suurendada, kui nende suspensioonile juurde lisada väike osa fluorestseeruvat värvi. Raku pinnakiht absorbeerib osa värvainet, mis valguse toimel oksüdeerudes annab mürgise produkti. Seesugust fotodünaamilist sensibiliseerivat toimet avaldavad erütrosiin, eosiin, fluorestseiin ja akridiin. Fluorestseeruvate värvide fotodünaamiline toime on hävitav mitte ainult bakteritele, vaid ka filtreeruvatele viirustele, bakteriofaagidele ja mikroobide toksiinidele. Mainitud värvidele omast fotodünaamilist sensibiliseerimist võivad toimetada ka fluorestseeruvad mikroobid.

Suur õhurõhumine (500 atm.) ei avalda suuremat toimet mikroobidesse. Koguni 3000 atm. rõhumine ei surma paljusid mikroobe; ainult üksikud liigid on tundlikud nii suurele rõhule.

Osmootilised voolud toimivad valguvabas söötmes kahjulikult mikroobidesse, kuna valku sisaldavas söötmes on see toime märksa väiksem. Kui mikroobid viibivad soolalahuses, mille kontsentratsioon on suurem mikroobiraku protoplasma kontsentratsioonist, siis tõmbub protoplasma kokku ja eraldub rakukest (plasmolüüs). Plasmolüüsi esilekutsumiseks võetakse aasaga 1% suhkur-agaril kasvanud mikroobe (*Eberthella typhosa, Escherichia coli* või *Vibrio comma*) ja segatakse esemeklaasil 3—5 tilga 0,5—1% *kal. nitricum*'i või 1,75—2,5% *natr. chlor.* lahusega. Segust võetakse 1 tilk, määritakse klaasile, kuivatatakse 5—10 min., fikseeritakse tulel ja värvitakse alkoholis lahustatud aniliinvärviga.

Mikroobide passiivne liikumine takistab nende kasvu, halvab nende funktsioone ja toimib pikapeale surmavalt, mis on osalt põhjuseks, et liikuvas vees leidub vähem mikroobe kui seisvas vees.

Elektrivool, juhituna läbi bakterite suspensiooni või kultuuri, mõjub surmavalt mikroobidesse, mis oleneb peamiselt soojusest ja elektrolüüsil tekkinud ioonidest. Katsed näitasid, et niihästi galvaaniline kui ka faraadiline vool ei toimi kahjulikult mikroobidesse, kui seejuures on täielikult kõrvaldatud kuumuse tekkimine ja ioonide vabanemine.

Mõned mikroobid on vastupidavad aeglasele kuivamisele, teised surevad selle tagajärjel lühikese aja jooksul. Näiteks surevad aeglase kuivamise tagajärjel kiiresti gonokokk, meningokokk, spirohheedid ja protozoad; kooleravibrioonid surevad 1—2 nädala jooksul, kuna difteeriabatsillid võivad jääda 3- kuni 4-nädalase kuivamise järel eluvõimeliseks. Mida madalam on temperatuur, seda paremini kannatavad mikroobid kuivamist. Õhu ja rõskuse ligipääsemine kiirendab kuivanud mikroobide surma. Uuemad uurimised näitavad, et ka ilma eosteta ja üldiselt tundlikud mikroobid (*Neisseria gonorrhoeae, N. intracellularis* jt.) võivad aastate vältel elada ja virulentsust säilitada kuivanud olekus, kuid selleks on tarvilik täielik kuivatamine ja säilitamine *in vacuo* (0,01 mm Hg või vähem). Säärasel teel kuivatatud mikroobid on märksa resistentsemad kuumusele. Kultuuride alalhoidmiseks võetakse vastavatesse klaasampullidesse 0,5—1 $cm^3$ mikroobide tihedat suspensiooni puljongis; kuivatatakse nii kiiresti kui võimalik *in vacuo;* ampullidest pumbatakse õhk täielikult välja ja nad joodetakse tulel kinni.

## Keemiliste tegurite toime mikroobidesse.

Mikroobid vastavad keemilistele ärritustele väga mitmesuguselt. Ühed keemilised ained meelitavad mikroobe endi poole, teised tõukavad neid eemale. Seesugust mikroobide reaktsiooni keemilistele impulssidele nimetatakse kemotaksiseks. Kemotak-

sise nähtuse illustreerimiseks võetakse peenike, 1—2 cm pikkune klaaskapillaar, täidetakse see kuni $^3/_4$ kõrguseni uuritava keemilise lahusega, ülemine ots kaetakse vahaga ja lahtine ots mahutatakse siis liikuvate mikroobide suspensiooni. Vaadeldes kapillaari luubi abil näeme, et ühel juhul liiguvad mikroobid toru otsa poole või selles viibivasse lahusesse (positiivne kemotaksis), teisel juhul aga sellest eemale (negatiivne kemotaksis). Mikroobidesse avaldavad positiivset kemotaktilist toimet peptoon, lihaekstrakt ja asparagiin; nõrgemalt roosuhkur, glütseriin, K- ja Na-soolad. Negatiivset kemotaktilist toimet avaldavad happed, leelised, piiritused ja bakterite mürgised produktid. Mikroobide tundlikkus keemilistele erutustele võib muutuda nende elu kestel.

Neutraalsed g a a s i d, nagu lämmastik ja vesinik, on tarvilikud üksikute mikroobiliikide optimaalseks elutegevuseks, kuid suurem osa neist ei vaja mainitud gaase oma kasvuks. Uuemal ajal on erilist tähelepanu pööratud süsihappegaasi ($CO_2$) kasvu-ergutavale toimele mikroobidesse. Me teame, et mõned värskelt kudedest isoleeritud mikroobid *(Br. abortus)* ei kasva harilikus õhus, kuid kasvavad lopsakalt õhus, mis sisaldab 10% $CO_2$. Korduvate ümberkülvamiste tagajärjel võivad need harjuda kasvama ka harilikus õhus. Mainitud gaasi toimel võib muutuda mõne mikroobiliigi elutegevus. Näiteks *Staphylococcus aureus*'e üksikud tüved valmistavad ainult siis suuremal määral iseloomulikku toksiini, kui neid kultiveeritakse õhus, mis on süsihappegaasirikas. Sünteetiliste söötmete abil toimetatud uurimised näitavad, et $CO_2$ viibimine õhus väiksemal määral on tarvilik enamiku, võib-olla koguni kõikide mikroobide kasvuks. Seda gaasi valmistavad tarvilikul määral ka mikroobid ise kultuuris. Juhtides läbi kultuuri $CO_2$-vaba õhku, mis kaasa viib kõik seal leiduva $CO_2$, jääb seisma mikroobide sigimine. Suurem hulk mikroobe ei kasva puhtas süsihappegaasis ja osa neist sureb lühema või pikema aja jooksul.

Juba P a s t e u r pani tähele, et mõned mikroobid kasvavad atmosfääris, milles puudub vaba hapnik ($O_2$). Vaba hapniku tarvitamise suhtes jagatakse mikroobid kolme pealiiki.

1) O b l i g a a t s e d ehk s u n n i s e d a e r o o b i d, mis sigivad ja kasvavad ainult siis, kui neile vaba (molekulaarset)

hapnikku juurde pääseb; vastasel korral on mikroobide kasv takistatud. Puhtas, 3- kuni 4-atmosfäärilise rõhuga hapnikus jääb aeroobide kasv seisma. Meyer leidis, et aeroobsete mikroobide kasvu ja eoste tekkimiseks on hapniku rõhumise miinimum 3—9 mm, optimum 172 mm ($O_2$ rõhumine õhus) ja maksimum 1000—5687 mm Hg; väljaspool neid piire on mikroobide normaalkasv takistatud. Obligaatsete aeroobide liiki kuuluvad kõik seened, protozoad ja paljud bakterid.

2) Obligaatsed anaeroobid, mis siis kasvavad, kui vaba hapnik neile ligi ei pääse. Iseäranis tundlikud vaba hapniku suhtes on noored kultuurid. Nendes surevad hapniku juurdepääsemisel vegetatiivsed vormid mõne tunni jooksul, kuna eosed on vastupidavad hapniku toimele. Anaeroobide liiki kuuluvad *Clostridium botulinum, Cl. tetani, Cl. perfringens* ja paljud teised. Beijerinck arvab, et obligaatsed anaeroobid võivad ka siis kasvada, kui neile vaba hapnikku ainult vähesel hulgal ligi pääseb, nimetades neid mikroaerofiilideks.

3) Fakultatiivsed ehk volised anaeroobid. Enamik mikroobe — nende hulgas peaaegu kõik patogeensed — kannatab vaba hapniku juurdepääsemise kitsendamist, ilma et nende kasv seejuures liiga kannataks. Paljud aeroobid võivad kasvada täiesti ilma vaba hapnikuta, kuid seesugusel korral võivad ilmuda muutused nende funktsioonides. Sageli leiame, et mikroobide isoleerimise puhul üks või teine mikroob kasvab alguses kõige paremini anaeroobseis tingimusis, kuid kasvades pikemat aega künstlikul söötmel omandab sama mikroob kasvuvõimaluse ka aeroobseis tingimusis. Vaba hapniku tarvidus oleneb osalt söötmest, milles kultiveeritakse mikroobi. Mõni mikroob *(Pseudomonas aeruginosa)* ei kasva anaeroobselt harilikus puljongis, kuid kasvab siis, kui puljongile lisandada nitraate, mis redutseeruvad nitrititeks ja annavad kasvuks tarviliku hapniku. *Escherichia coli*, kasvades aeroobselt sünteetilises söötmes, millele on lisandatud glükoosi, fermenteerib kasvu alguses viimast ega vaja sigimiseks vaba hapnikku. Hiljemini on aga selle mikroobi kasvuks tarvilik vaba hapnik. Kui üks või teine mikroob kasvab tingimusis, kus puudub vaba hapnik, siis ei tähenda see veel, et

mikroob ei tarvita oma elutegevuseks hapnikku. Nii teame, et *Vibrio comma*, mis kuulub obligaatsete aeroobide hulka, sigib kiiresti inimese sooltes, kus puudub vaba hapnik. Vibrioonid, rünnates soolte limaskesta rakke, saavad küllalt hapnikku oma elutegevuseks.

Vaba hapnik toimib enda poole tõmbavalt ühele osale mikroobidele (aeroobid) ja eemaletõukavalt teistele mikroobidele (anaeroobid). Säärast toimet nimetatakse aerotaksiseks. Positiivse aerotaksise korral tungivad mikroobid vaba hapniku allika poole, negatiivse aerotaksise korral taganevad nad sellest eemale. Seda võib näidata järgmise lihtsa katse abil. Võtame esemeklaasile tilga mitmesuguste liikuvate mikroobide suspensiooni ja katame selle kateklaasiga, mille üht serva ülal hoiab kõverakspainutatud traaditükike, et võimaldada õhu juurdepääsemist. Säärasel korral näeme, et ühed mikroobid koonduvad tilga ääreosasse, kus on rohkem hapnikku, kuna teised mikroobid jäävad tilga keskele.

Peaosa mikroobide elutegevuses ja kasvus etendab vesi, kuid destilleeritud vesi on mürgine mikroobide vegetatiivsetele vormidele ja surmab neid mitmesuguse aja vältel. Katsetel peab kasutama klaasnõus destilleeritud vett, mis on vaba metalliosakestest ja sooladest, ning alati ühe ja sama pH-ga. Suspensiooni peab veele juurde lisama vähe, et vältida toiteaine vette pääsemist. Vee toime oleneb veel õhust absorbeerunud $CO_2$, $O_2$ ja klaasist eralduva leelise hulgast.

Kunstliku söötme osmootilise rõhumise äkiline muutus avaldab halba toimet mikroobide kasvule ja elutalitlustele. Mitmesugused mineraalsoolad on tarvilikud mikroobidele nende elutegevuseks, sest nad avaldavad stimuleerivat toimet ja on tarvilikud orgaanilise aine sünteesiks. Ühed mikroobid armastavad oma söötmes väikesel hulgal mineraalsoola, kuna teised elavad ja sigivad suures kontsentratsioonis. Mahutame näiteks hiilgavaid merebaktereid, mis on harjunud elama 3—4% soolalahuses, nõrka soolalahusesse, siis kaotavad nad oma hiilguse. *B. botulinus* võib kasvada 6% söögisoolalahuses. Sääraseid mikroorganisme nimetatakse osmofiilseiks. Suurema kontsentratsioo-

niga söögisoolalahused takistavad roiskumismikroobide kasvu, ei takista aga piimahappe ja mõnede teiste mikroobide kasvu. Seda nähtust kasutatakse mitmesuguste toiduainete konservimiseks (näit. kurkide ja kapsaste hapendamiseks).

Rikkalik happe või leelise viibimine söötmes takistab mikroobide kasvu ja surmab nad lühema või pikema aja kestel.

Mitmesuguste keemiliste mürkide toime suhtes on ühed mikroobid vähem, teised rohkem tundlikud. Mürgiste soolade toime oleneb nende ionisatsioonist ja kontsentratsioonist. Näiteks raskete metallide soolade mürgisus mikroobidesse on seda suurem, mida rohkem on lahuses vabu ioone. Sublimaat on mikroobidele väga mürgine, sest selle lahused dissotsieeruvad kergesti, andes palju vabu elavhõbeda-ioone. Aine, mis on ühele mikroobiliigile mürgine, võib olla teistele koguni väga tarvilik elutegevuseks. Näiteks on peptoon ja kobarsuhkur väga toitvad enamikule mikroobidest, kuna nad üksikuisse mikroobidesse väga mürgiselt toimivad.

Juba ammu oli teada, et rohelised vetikad surevad vees, millesse oli visatud tükk hõbedat, vaske, tina, tsinki või rauda. Vesi oli mürgine ka pärast seda, kui mainitud metallid olid sealt kõrvaldatud. Hiljemini selgus, et säärast oligodünaamilist toimet avaldavad metallid (hõbe, kuld, plaatina, vask jt.) ka mikroobidesse. Näiteks ei sigi metallpeekris hoitud vees mikroobid sama kiirusega kui klaasnõus ja mõned mikroobiliigid surevad seal võrdlemisi kiiresti. Metallide oligodünaamilist toimet võib suurendada — aktiveerida, asetades neid 5—15 min. oksüdeerivatesse lahustesse ($KMnO_4$ 0,005% või $H_2O_2$ 0,5%), kus tekivad oksüüdid, või elektrolüütiliselt, kus vastavast metallist valmistatud elektroodid asetatakse soolalahusesse (0,85% NaCl) ja lastakse läbi 10—20 min. vältel nõrk alaline vool (5—20 milliamp.). Kui asetame tüki aktiveeritud metalli tahke söötme pinnale, kuhu olid enne ühtlaselt külvatud mikroobid, siis ei kasva mikroobipesad metalli ümbritsevas tsoonis. Katsed näitavad, et elektrolüütilisel aktiveerimisel kasutatud soolalahuse bakteritsiidne (oligodünaamiline) toime kasvas voolu läbilaskmise tagajärjel.

Oligodünaamilist toimet seletatakse metalli osakeste minimaalse hulga, metalli pinnal tekkinud ioniseeruvate oksüüdide või lahustuvate soolade pääsemisega vette. Uuemad katsed näitavad, et ka raskelt vees lahustuvad hõbedasoolad avaldavad baktereisse surmavat toimet, mis sooli kasutatakse desinfektsiooniks.

Ühe või teise keemilise mürgi toime mikroobidesse oleneb selle kontsentratsioonist, mille suhtes mürkainete toime jagatakse järgmiselt.

1) Nõrkade lahuste toimel ei jää mikroobide kasv seisma, kuid nõrgenevad või kaovad mikroobide üksikud funktsioonid ja sageli nad muutuvad kujult *(mitigatio)*.

2) Kasvab mürgi kontsentratsioon, siis ei saa mikroobid enam sigida, kuid nad ei sure veel ära *(asepsis)*.

3) Mürgi kontsentratsioon on säärane, et vegetatiivsed vormid surevad, kuna eosed ellu jäävad *(antisepsis)*.

4) Mürgi kontsentratsioon on nii tugev, et vegetatiivsed vormid ja eosed surevad *(sterilisatio)*.

Peab tähendama, et ühe või teise mürgi toime mikroobidesse ei kasva proportsionaalselt selle kontsentratsiooniga. Keemiliste mürkide toime mikroobidesse kahaneb, kui mikroobid harjuvad mürgise ainega. Seda võib näha, kui me kord-korralt suurendame mürgi kontsentratsiooni söötmes, kus kasvatatakse mikroobe. Mürkide õige nõrgad lahused võivad mikroobide kasvu koguni kiirendada ja nende elutegevust stimuleerida (ergutav doos).

Ühe või teise mürgi toime oleneb miljööst, kus mikroobid asuvad. Nii võivad valgud ja limaollused mürgi surmavust neutraliseerida. Valgud ühinevad raskete metallide sooladega ja annavad neutraalsed albuminaadid, mis ei surma mikroobe. Mitu mürgist ollust koos võivad avaldada palju suuremat toimet mikroobidesse, kui iga üksik samas kontsentratsioonis. Keemiliste ainete toime mikroobidesse oleneb suurel määral temperatuurist.

Mikroobide ainevahetuse produktide kogunemine söötmes takistab mikroobide elutegevust. Seesuguse enesemürgistusega (autointoksikatsiooniga) võib seletada mikroobide kasvu takistust ja involutsioonivormide tekkimist vanades kultuurides. Mainitud produktid on mürgised mitte ainult mikroobidele, mis

neid valmistavad, vaid sageli ka teistele mikroobidele. Näiteks on *Pseudom. aeruginosa* produkt „*pyocyanasa*" mürgine difteeria- ja paljudele teistele bakteritele.

Chantemesse ja Widal nägid, et *Eberth. typhosa* ei kasva enam samal agarsöötmel, kust oli ära kaabitud varemini 3—4 päeva vältel kasvanud *E. typhosa* kultuur. Samuti ei kasva nad puljongis, millest tsentrifuugimise teel kõrvaldati varemini kasvanud *E. typhosa*.

## Mikroobide toitumine.

Mikroobirakkude kuju, keemiline struktuur ja veel suuremal määral mikroobide elutegevus sõltuvad väga mitmesugustest seesmistest (kausaalsed) ja ümbruse (konditsionaalsed) teguritest. Seesmiste tegurite muutused esinevad kahtlemata iga mikroobiliigi rakkudes nende lihtsama või keerulisema arengu (tsüklogeneesi) vältel, kuid meie teadmised sel alal on praegusel ajal vaid katkendlikud ja omavad väga piiratud praktilist väärtust. Põhjalikuma uurimise osaliseks on saanud ümbruse ehk väliste tegurite toime mikroobidesse, millest üksikasjalisemalt kuulsime eespool. Kõige tähtsamaks välisteguriks osutub toit, mis on mikroobirakule sünteesimaterjaliks ja energiaallikaks. Peale selle oleneb ühe või teise mikroobiliigi elutegevuse iseloom sellest, kas kasv toimub puhtas kultuuris või segakultuuris koos mitme teise mikroobiliigiga.

Iga mikroobirakk on otsekui väike keemiline laboratoorium, kus vahetpidamatult toimuvad ainevahetuse protsessid raku ja välismaailma vahel. Mikroobid toituvad peamiselt osmoosiseaduste põhjal, kusjuures rakukestal on omadus valida ümbritsevaist lahuseist seda ainet, mis on rakule kõige kohasem. Raku sisse tunginud ainet tarvitab mikroob elusa protoplasma sünteesiks või see jääb seal püsima tagavaralademena. Mikroobide ainevahetusprotsess koosneb assimilatsioonist ehk ülesehitusest ja dissimilatsioonist ehk lammutamisest. Mikroobid saavad tarviliku energia protoplasma sünteesiks peamiselt keemili-

sel teel (kemosüntees), kuna mõned rohelised ja sinised väävlibakterid saavad seda osalt päikesevalguse kaudu (fotosüntees).

Mikroobide toit peab sisaldama kõiki neid aineid, mis on tarvilikud elusa protoplasma ehitamiseks. Selleks vajavad ühed mikroobiliigid väga lihtsat toitu, kuna teised nõuavad keerulise koostisega aineid. Süsiniku allikaks võivad olla mikroobidele väga mitmekesised lämmastikku ja süsinikku sisaldavad orgaanilised ühendid, valkained, tärklis, suhkur, tselluloos, rasvad, mitmealuselised alkoholid, orgaanilised happed jt. Lämmastiku allikaiks on mikroobidele ammoniaak, ammooniumisoolad, lämmastikhappe- ja lämmastikushappe-soolad. Lämmastikku sisaldavad orgaanilised ained, millest mikroobid lämmastikku ammutavad, jagunevad kahte peaossa: ühed sisaldavad fosforit (proteiidid ja nukleoproteiidid), teised ei sisalda seda (proteiinid, albumiinid, globuliinid ja albuminoidid).

Heaks toiduks mikroobidele on valkude lammutusproduktid: albumoosid, peptoonid, polüpeptiidid ja amiinohapped — leutsiin, lüsiin, tsüstiin, asparagiin ja trüptofaan. Viimane on väga oluline paljude mikroobide sigimiseks. Trüptofaani võivad ühed mikroobiliigid ise sünteesida, teised seda ei suuda ja vajavad mainitud amiinohappe viibimist söötmes. Mõned mikroobiliigid ei suuda trüptofaani sünteesida esimestes passaažides trüptofaanist vabal söötmel, kuid harjuvad seda hiljemini sünteesima.

Vesinikku saavad mikroobid sünteesiks peamiselt aineist, mis sisaldavad $CH_2$ ja $NH_2$ gruppe, kuna mõned mikroobid vaba vesinikku (H) suudavad hapendada.

Paljud mineraalsoolad on väga tarvilikud mikroobide kasvuks ja nende elutegevuseks. Harilikult lisatakse kunstlikele söötmeile 0,1—0,5% järgmisi soolasid: $K_2HPO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, NaCl, $FeSO_4$, $CaCl_2$ jne.

Paljud on katsunud valmistada anorgaanilistest ja orgaanilistest sooladest kindla koostisega „universaalset" mikroobide söödet, kuid kõik need katsed on jäänud ilma suurema tagajärjeta. Igal mikroobiliigil on erinevad nõuded kunstliku söötme suhtes ja sellega jääb ka praegusel ajal peaaegu iga mikroobiliigi

kultiveerimine omaette probleemiks. Mikrobioloogias läks korda valmistada orgaanilistest ainetest ja mineraalsooladest nõndanimetatud harilikke söötmeid, mis on kõlblikud kasvuks suurele osale mikroobidele. Üksikud mikroobiliigid tarvitavad õhulämmastikku ja ei tarvita oma sünteetiliseks tööks seotud lämmastikku (*Rhizob. leguminosarum, Cl. pasteurianum, Azotobacter chroococcum* jt.).

Kunstliku söötme reaktsiooni suhtes on paljud mikroobid väga tundlikud. Sageli ei sigi mõni mikroob söötmes ainult sellepärast, et söötme reaktsioon ei vasta mikroobi nõuetele. Seepärast peab kasutama söötmete valmistamisel neid meetodeid, millede abil võib täpsemalt ära määrata söötme reaktsiooni. Niihästi lakmus kui ka fenoolftaleiin on selleks otstarbeks vähetundlikud indikaatorid. Söötmes peab alati määrama vesinikioon-kontsentratsiooni ehk pH väärtuse. Peaaegu igal mikroobiliigil on oma nõuded söötme pH suhtes, mis sageli ainult kitsais piires tohib kõikuda, et mitte kasvu takistada. Suurem osa mikroobe armastab kasvuks nõrgalt alkaalilise reaktsiooniga söödet (optimum pH 7,2—7,6). Mõned liigid (*Azotobacter*) on väga tundlikud happele ega kasva alla pH 6,5, kuna teised (*Lactobacillus*) kasvavad ka hapus söötmes (pH 4,0 või vähem). Mõned liigid (*Vibrio comma*) kasvavad hästi leelisese reaktsiooniga söötmes (pH 7,6—8,0). Äärmised pH piirid, kus veel mikroobide kasv esineb, erinevad igal mikroobiliigil. Mitmel mikroobiliigil on vaba hapniku tarvidus seotud söötme pH väärtusega (*C. acnes, Lactobacillus* jt.).

Mikroobidele soodsais kunstlikes söötmeis tarvilikke aineid võib jagada kahte pealiiki: ühed moodustavad mikroobi toidu; need on substantsid, mida mikroob vajab oma moendavaks tööks ja millede kulul ta saab tarvilikku energiat elamiseks ning sigimiseks; teised on substantsid (aktsessoorsed faktorid), mis toimivad ergutavalt mikroobi kasvule ja elutegevusele.

Toitumise suhtes võiks mikroobe jagada mitmesse liiki:

1) Autotroofsed mikroobid, mis toiduks orgaanilist ainet ei tarvita ja selle anorgaanilistest ühenditest ($CO_2$, $CH_4$, $NH_3$, $N_2$) sünteesivad. Nende liiki kuuluvad nitrifitseerijad, lämmastiku-

sarnastajad, lämmastikuhapendajad, väävli-, rohelised ja teised mikroobid.

2) Heterotroofsed mikroobid, mis võivad osalt mineraalollustest (ammooniumisoolad) orgaanilist ainet sünteesida, kuid süsiniku (C) allikana tarvitavad peamiselt valmis orgaanilisi aineid. Siia kuulub suurem osa mikroobe, nagu patogeensed mikroobid, seened, pärmid, aktinomütseedid jne.

3) Mikroobid, mis tingimata vajavad orgaanilist ainet oma (sageli natiivsete) C ja N nõuete rahuldamiseks.

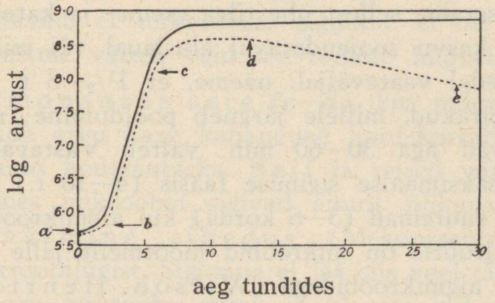
Paljud bioloogid (Goy, Euler, Petersson, Fränkel jt.) on katsunud selgusele jõuda, kas vitamiinid on mikroorganismidele nende normaalseks arenemiseks samuti tarvilikud kui loomadele. Nagu teada, on vitamiinid aktiivsed säärases väikeses kontsentratsioonis, et nad vaevu osutuvad sünteesimaterjaliks ja energiaallikaks. Ühelt poolt väidetakse, et mikroobid ei vaja oma kasvuks vitamiinisarnast ollust. Kui mõne aine lisandamine väikeses kontsentratsioonis mikroobide algsöötmele kiirendab kasvu, siis ei tarvitse veel lisatud aine väike hulk olla vitamiinisarnase toimega. Uuemal ajal on siiski korda läinud eraldada pärmidest, uriinist ja teistest ainetest säärast ollust, mis kiirendab paljude mikroobide kasvu ja mis on aktiivne kontsentratsioonis 0,00002%. Säärasel korral ei ole nähtavasti tegemist toiteainega, vaid aktsessoorse faktoriga, mille toime sarnaneb vitamiini toimega. 0,9% NaCl-lahusega mitmesugustest organitest (veri, maks, süda, põrn, neerud jne.) valmistatud ekstraktid mikroobide söötmele väikesel hulgal lisandatult kiirendavad paljude mikroobide (*Neisseria gonorrhoeae, N. intracellularis, Hemophilus influenzae* jt.) kasvu. Võimalik, et ka siin on tegemist spetsiifilise stimuleeriva ollusega, mis sarnaneb toimelt vitamiinidega.

Erilisi aktsessoorseid faktoreid vajavad soodsaks kasvuks influentsa batsill (*Hemophilus influenzae*) ja mõned teised liigid. Säärasteks faktoriteks on osutunud X faktor, mis esineb hematiinis ja teistes rauda sisaldavais orgaanilisis ühendeis, ja V faktor, mis esineb loomade ja taimede värsketes kudedes, pärmirakkudes ja paljudes bakterites. Viimast faktorit peetakse

sarnaseks vitamiiniga (vitamiin C). Üldiselt on teada, et paljud mikroobid (seened, pärmid jt.) ise valmistavad aineid, mis väikese hulgana toimivad ergutavalt teiste mikroobide ja ka katseloomade kasvule ning mis sarnanevad vitamiinidega.

## Bakterite sigimine kunstlikes söötmeis.

Bakterite sigimine soodsas söötmes ja optimaalseis kasvutingimusis toimub alul säärase kiirusega, et teoreetiliselt peaks söötmesse külvatud bakterite väike arv kasvama mõne päeva vältel raskelt kujuteldava hulgani. Tegelikult näeme, et nende sigi-




63. joon. (Topley ja Wilson'i järgi.)
——— mikroobide üldarv.
- - - - elusate mikroobide arv.

mine jälgib teatavat käiku, mida demonstreerivad graafiliselt esitatud kõverad (63. joon., Topley ja Wilson'i järgi), kus puljongis sigivate bakterite arvude logaritmid on kantud ordinaatidele ja kasvu aeg tundides on märgitud abstsissidel. Kasvu kõverates paistavad järgmised neli astet ehk faasi.

1) Viivitusaste *(a—b)*, kus bakterite sigimine on väga aeglane. Alul ei toimu konstateeritavat sigimist, kuna mõned külvatud mikroobest surevad, mille tõttu elusate bakterite arv kahaneb. Mainitud aste, mis kestab üldiselt mõni tund, oleneb külvatud mikroobide arvu ja söötme hulga vahekorrast: mida arvukam on külv, seda lühem on viivitusaste ja vastupidi, mida väik-

semaarvuline on külv, seda pikem on viivitusaste. Teatava vanuse piirides (16—24 t.) on viivitusaste seda lühem, mida nooremast kultuurist tehakse ümberkülv. Kui selleks kasutatakse kultuuri, kus toimub mikroobide sigimine maksimaalselt (5—8 t.), siis kaob viivitusaste. Viivitusaste on ka siis lühem, kui kasv toimub optimaalses temperatuuris ja kõige soodsamas söötmes. Viivitusastet, mille kestus varieerub vastavalt ühele või teisele mikroobiliigile, on katsutud seletada toksiliste substantside toimega, harjumatusega uue söötmega, šokiga jt., kuid uuemate uurimiste tulemused näitavad, et selles astmes toimub mikroobirakkude aktiivne kasv ilma nende pooldumiseta. Seda võime jälgida, kui külvame noorest kultuurist väikese arvu mikroobe vedelasse (45° C) agarsöötmesse ja asetame sellest ühe tilga eseme- ja kateklaasi vahele. Jälgides külvi kasvu soojendataval aluslaual või mikroskoop-termostaadis pimedal vaateväljal, näeme, et $1^1/_2$—3 t. vältel suurenevad mikroobirakud, millele järgneb pooldumine; noored tütarrakud poolduvad aga 30—60 min. vältel. Vastavad mõõtmised näitavad, et maksimaalse sigimise faasis (4—10 t.) on tütarmikroobid märksa suuremad (3—6 korda) kui algmikroobid. Vanemas (24—48 t.) kultuuris on mikroobid mõõtmeilt jälle võrdsed külviks kasutatud algmikroobidega (Wilson, Henrici jt.). Viivitusastmes toimuvad intensiivselt hingamise ($O_2$ tarvitamine) ja metabolismi protsessid ning mikroobid on, samuti kui noortes kultuurides, tundlikumad kuumuse, külma ja desinfitseerivate ainete toimele. Sellega ei ole viivitusaste mikroobidele puhkeperioodiks, vaid see on aktiivse elutegevuse ja mikroobirakkude noorenemise faas (Topley ja Wilson).

2) Logaritmiline aste (*b—c*), kus mikroobide regulaarne pooldumine toimub maksimaalse kiirusega. Mikroobide arv kasvab geomeetrilises progressioonis ja nende arvude logaritmid annavad tõusva sirgjoone. Kui mikroobide arv oli külvi alguses $A$, siis on see esimese generatsiooni lõpul $A \times 2$, teise generatsiooni lõpul $A \times 2 \times 2$ ja $n$ generatsiooni lõpul $A \times 2n$. Märgime viimase arvu tähega $B$, siis saame esimeses valemis $B = A \times 2n$ ja teises: $\log B = \log A \times n \log 2$, millest järgneb $n = \frac{\log B - \log A}{\log 2}$.

Kui meil on teada uuritava kultuuri kasvu kestus $T$, siis võrdub ühe generatsiooni kestus $T : n$. Need valemid vastavad tõeolule ainult siis, kui logaritmilise astme maksimaalse sigimise vältel jäävad ellu ja sigivad edasi kõik mikroobid. Tõeliselt on elusate, sigimisvõimeliste mikroobide arv kasvu logaritmilises astmes väiksem mikroobide üldarvust (Wilson, Kaplan jt.). Surnud mikroobide protsent on seda suurem, mida halvemad on mikroobide kasvutingimused (20—50%).

Generatsioonide kestus logaritmilises astmes on väga varieeruv ja oleneb üldiselt mikroobiliigist (*E. coli* 20 min., *Lactobacillus* 40—80 min.), kasvu temperatuurist, söötmest ja teistest faktoritest. Uuemad uurimised (Rogers ja Greenbank, Walker jt.) näitavad, et mikroobide sigimine ei ole ühtlane kogu logaritmilise astme vältel, vaid see toimub hüppeliselt.

3) Statsionaarne aste *(c—d)*, kus mikroobide sigimise kiirus ja nende arvu kasv kahanevad kord-korralt ja muutuvad lõpuks ligikaudu konstantseks. Beil ja teised väidavad, et igas vedelas söötmes mikroobid sigivad ainult niikaua, kuni saabub mikroobide äärmine tihedus (M-kontsentratsioon), mis on sõltuv mikroobiliigist. Sigimine ei jää siis veel täielikult seisma, kuid teatav arv mikroobe sureb ja elusate mikroobide tihedus ei tõuse üle normi. Statsionaarses astmes algab uuesti mikroobide kiirendatud sigimine, kui juhime läbi kultuuri hapnikku või lisame söötmele kergesti assimileeruvaid süsivesikuid (glükoosi).

4) Mõõna- ehk kahanemisaste *(d—e)*, kus hakkab kahanema elusate mikroobide arv, kuni kõik mikroobid surevad ja kultuur muutub steriilseks. See aste kestab ühe mikroobiliigi puhul 2—3 päeva, teise puhul aga mitu kuud. Ka selles astmes võivad esineda hüppelised mikroobide sigimised, kuid väga piiratud ulatuses. Üldine mikroobide arv (surnud ja elusad) jääb mõõnaastmes enam-vähem konstantseks.

Bakterite kasvu uurimistel on leitud (Burke jt.), et eosed ja vegetatiivsed vormid võivad viibida söötmes pikema aja vältel ilma sigimata. Säärane uni võib vastavais tingimusis katkeda ja mikroob alustab uuesti oma harilikku kasvu.

Mikroobide kasvu uurimisel, mis moodustab huvitava peatüki teaduslikus bakterioloogias, tuleb määrata elusate ja surnud mikroobide üldarv ning elusate, sigimisvõimeliste mikroobide arv.

A. Üldarvu võib määrata järgmiste menetluste abil.

1) Kindel hulk hästi segiloksutatud kultuuri (tilk) määritakse ühtlaselt kateklaasile, mille pindala on teada, kuivatatakse õhus, fikseeritakse ja värvitakse. Siis loetakse mikroobide arv mikroskoobi mitmes vaateväljas ja arvestatakse keskmine arv ühes vaateväljas. Teades üksiku vaatevälja suurust ja preparaadi pinna suurust, võib matemaatilise arvestamise abil saada mikroobide arvu kogu kultuuris. Veavõimalused: kõik mikroobid ei värvu ja osa vabaneb preparaadi loputamisel.

2) Kindel hulk vedelat kultuuri või mikroobide suspensiooni segatakse kindla hulga inimeseverega, milles on teada erütrotsüütide arv (5,5 miljonit 1 $mm^3$-s), segust määritakse üks tilk klaasile, kuivatatakse, fikseeritakse ja värvitakse. Mikroskoobi abil määratakse mikroobide ja erütrotsüütide arvu suhe ja arvestatakse mikroobide hulk uuritavas suspensioonis. Veavõimalused: raske saada ühtlast segu ja ühtlaselt värvitud preparaati.

3) Kõige täpsemad andmed saame lugedes mikroobide arvu teatavas hulgas suspensioonis erilises lugemiskambris (Helber) pimedal vaateväljal (ultramikroskoop), või suspensioonile värvainet lisandades hariliku mikroskoobi abil.

4) Tiheduse määramisel võrreldakse uuritava suspensiooni opaaksust kontroll-suspensiooniga, milles on teada mikroobide arv. Võrdlust toimetatakse varustamata silmaga või vastavate aparaatide abil (nefelomeeter, fotomeeter jt.). Veavõimalus: opaaksus oleneb mitte ainult mikroobide arvust, vaid ka mikroobirakkude suurusest.

5) Tsentrifuugides teatava aja vältel suspensiooni, mis on mahutatud kapillaartorusse, sadestuvad mikroobid; sademe samba kõrguse alusel arvestatakse mikroobide arv, teades iga mikroobiraku suurust. Veavõimalus: sadestumine ei toimu alati ühtlaselt.

B. Elusate mikroobide arvu määramisel lahjendatakse suspensioon või kultuur füsioloogilise söögisoola lahusega, millest

külvatakse täpse pipetiga kindel hulk sulatatud ja kuni 45° C jahutatud agarsöötmesse või želatiinsöötmesse (24—26° C), segatakse hoolega, keerutades katsuklaasi kahe käe vahel, ja valatakse siis Petri kaussi. Kasvatada (agaris 37° C t°-s, želatiinis 22° C t°-s) 48—72 t. ja lugeda kasvanud pesad. Saadud arv näitab elusate mikroobide arvu külvatud suspensioonis, mille alusel saab teada lihtsa arvestamise abil elusate mikroobide arvu kogu uuritavas suspensioonis või kultuuris.

## Mikroobide liikumine.

Mikroobide kohta kuulsime ülalpool, et paljud neist võivad iseseisvalt liikuda, milleks nad on varustatud liikumisorganellidega (viburid, ripsmed jne.). Sageli on raske otsustada, kas mikroob liigub aktiivselt või esineb Brown'i molekulaarliikumine, mis ilmsiks tuleb mikroobi ühe koha peal värisemise ja hõljumise näol. Seesugusel korral peab värvimise abil mikroobi vibureid otsima, mis liikumisvõimalust lubavad oletada. Lisandame mikroobide suspensioonile 5% *acid. carbol.* või 1‰ *sol. sublimati* ja uurime neid rippuvas tilgas mikroskoobi all või ultramikroskoobis. Kestab endine liikumine neis lahustes edasi, siis on tegemist Brown'i liikumisega, sest surnud mikroobidel ei ole aktiivset liikumist.

Kui suspensioonis liiguvad ainult vähesed mikroobid, siis on liikumise üle otsustamine raske ainult mikroskoobi abil. Parema tulemuse annab külv, milleks võetakse pooltahke agarsööde (0,3% lihaekstrakti, 0,5% peptooni ja 0,5% agarit, pH 6,8—7,2), millesse külvatakse uuritavad mikroobid pistena õige nõelaga ja kasvatatakse 37° C t°-s kuni 6 päeva. Liikuvad mikroobid annavad difuusse või sõlmelise äärekasvu pistejoont ümbritsevas agaris.

Fischer'i arvates võivad mõned mikroobid varustatud olla viburitega, kuid sellele vaatamata puudub neil iseseisev liikumine. Mikroobide liikumise kiirus on väga mitmesugune ja oleneb paljudest teguritest. Mikroobide liikumise kadumine ei tähenda veel nende surma.

## Optiline tegevus.

Juba ammu oli tuntud ookeanivee, mäda, puu, kala ja liha helendumine. Säärase helenduse põhjuseks on fotogeensete ainete hapendumine, mida tekitavad mitmesugused fotobakterid. Pflüger leidis esimesena helenduvate merekalade küljest 1875. a. fotobaktereid *(Micrococcus phosphoreus)*. Fotobakterid elavad suuremalt jaolt ookeani- ja merevees, kus kontsentreerunud meresoolalahused nende eluprotsesse soodustavad. Nad armastavad kasvuks madalat temperatuuri ja helenduvad madalas temperatuuris (5—30° C). Soojendame neid üle 45° C, siis kaotavad nad lõplikult oma helenduse. Kõik ümbruskonna toimed, mis harilikult bakterite kasvu takistavad, katkestavad silmapilkselt fotobakterite helendumise.

Fotobakterid võivad elada ja mitte helenduda, kuna ümberpöördud nähtus on võimatu. Et fotobakterite helendust püsivamalt säilitada, tarvitatakse nende söötmeks kalaleem-agarit või -želatiini, mis mereveega valmistatakse ja millele 1% peptooni, 1% glütseriini ja $^1/_2$% asparagiini juurde lisatakse; kasvatada 20—30° C t°-s. Merevee asemel võib tarvitada 3% meresoolalahust. Kuid ka seesuguses söötmes kaotavad fotobakterid lõpuks oma helenduse. Helenduvate bakterite kultuuri saamiseks võetakse tükk lahtiselt seisnud liha või sisikonnast vabastatud kala, parem merekala, ja asetatakse pooleni 3% NaCl lahusesse või merevette. Lastakse seista külmas kohas (5—10° C) klaaskupli all, kus helendus tekib 1—3 p. vältel. Fotobakterid tarvitavad vaba hapnikku, ilma milleta kustub nende helendus. Seepärast helendub merevesi kõige rohkem laeva kiilvees, kus vahutavas vees palju hapnikku mikroobidele juurde pääseb. Fischer'il õnnestus helenduvat heeringat fotografeerida. Kõikide fotobakterite helendumise mõjul avaldavad taimed positiivset fototropismi.

Helenduvaist merebaktereist võib nimetada: *Photobact. balticum* (Euroopa meredes) ja *Ph. indicum* (India meredes). Helenduvaid seenekesi tuntakse kaunis palju. Mädas puus leiduvad seened, millede niidikesed helenduvad. Toiduainete helendumine on laialt

tuntud nähtus. Tervishoiuliselt on helenduvad produktid kahjutud, sest kahjuliku roiskumisprotsessi algusega kustub nende helendus.

Demonstreerimiseks segatakse 3% NaCl lahusele kõrges silindris suuremal hulgal helenduvaid mikroobe agarsöötmelt ja loksutatakse või valatakse kõrgelt teise nõusse, kusjuures vedelik annab ilusa helenduse.

## Soojuse tekkimine.

Mikroobide ainevahetusprotsesside tagajärjel tekib nende kultuuris soojus, mille hulka võime mõõta selle tarvis valmistatud kalorimeetri abil. Energiliselt tekitavad soojust pärmseened käärivas suhkruvedelikus. Kõige kõrgemale tõuseb soojus 8 tundi pärast käärimise algust ja alaneb 2 päeva hiljemini. *Escherichia coli* ja *Proteus*'e kultuurides seisab temperatuur kolmel esimesel kasvupäeval kõige kõrgemal ja langeb siis pikkamisi, jäädes veidi kõrgemale algtemperatuurist. Temperatuuri tõus on *Escher. coli* kultuurides 0,2—0,3° C ja *Proteus*'e kultuurides 0,4—0,8° C.

Paljude mikroobide kultuuris tekib suuremal hulgal soojusenergiat. Seesuguseid mikroobe nimetatakse termogeenseiks mikroobeks. Nii on tuntud rõskete heinte, sõnniku, rõske tubaka, puuvilla ja teiste ainete kuumenemine ja koguni põlemasüttimine, mis saab alguse termogeensete mikroobide tegevusest. Mikroobid, kasvades säärases aines, tekitavad soojust, ja kui soojus tõuseb juba üle 70° C, jääb nende elutegevus seisma ning algab energiline hapendumisprotsess, mille tõttu temperatuur nii kõrgele võib tõusta, et roiskuv aine põlema süttib. Hapendumisprotsessis etendab katalüsaatori osa aines peituv raud.

## Mitogeneetilised kiired ja elektrilaeng.

Gurwitsch ja paljud teised näitasid katsete abil, et taimed, eriliselt nende noored juured, kus toimub rakkude kiire vohamine, samuti ka loomade koed, eraldavad nn. mitogenee-

tilisi kiiri, mis on võimelised stimuleerima nende toimepiirkonda asetatud taimede ja loomade kudede kasvu, kutsudes esile rakes kiirendatud mitoosi. Mõned väidavad, et mainitud radiatsioon sarnaneb ultravioletsete kiirtega ja et nende toime jälgimine on võimalik bioloogiliste meetoditega, kuna füsioloogilised meetodid on seni andnud negatiivseid tulemusi. Mainitud mitogeneetiliste kiirte tekkimist on õnnestunud jälgida ka mõne mikroobiliigi noores kultuuris, kus rakud sigivad maksimaalse kiirusega (pärmid jt.). Katseteks külvatakse uuritavad mikroobid soodsasse vedelasse söötmesse kahte katsuklaasi. Viimaseist on üks kvartsklaas, mis laseb läbi mitogeneetilised kiired, ja teine harilik klaas kontrolliks, millest ei pääse läbi mainitud radiatsioon. Need mahutatakse söötme pinna sügavuseni kahte suuremasse katsuklaasi, milledes viibivasse vedelasse söötmesse on külvatud vastavad mikroobid, milledel jälgitakse mitogeneetiliste kiirte toimet. Lugedes viimastes kultuurides mikroobide arvu korduvalt iga tunni järel ja võrreldes saadud arve, saame andmed mitogeneetiliste kiirte toime kohta. Bakterite mitogeneetiliste kiirte suhtes püsivad paljud bakterioloogid skeptilisel seisukohal.

Katsed kataforeesi abil näitavad, et enamik mikroobe kannab negatiivset elektrilaengut ja liigub seepärast anoodi poole, kuna teised kannavad positiivset laengut (*Eberth. typhosa* jt.) ja liiguvad katoodi poole. Elektrilaeng võib muutuda vastupidiseks happe tekkimisel söötmes, samuti ka mõnede (Ce··· ja La···) elektrolüütide toimel. Puhkavad pärmseened kannavad positiivset laengut; käärimise alguses muutub nende laeng negatiivseks, kuid hiljemini muutub see uuesti positiivseks. Girard ja Audubert nägid, et laengu kahanemine mõne kolmevalentse katiooni (positiivse iooni) toimel põhjustab mikroobide aglutineerumist, kuna tugev kahanemine võib mikroobidesse toimida surmavalt. Elektrilaengust sõltuvad bakteriraku pindpinevus, sadestumine soolalahustes ja elektrijuhtivuse muutus bakterite suspensioonis. Kataforeesikatsete korraldamiseks on ehitatud erilised aparaadid Northrup'i ja teiste poolt.

## Bakteriaalsed pigmendid.

Paljud mikroobid valmistavad värvolluseid — pigmente, mis on väga mitmekesised oma värvuse, keemilise ehituse ja füsioloogiliste omaduste poolest. Pigmendi suhtes võib mikroobe järgmiselt grupeerida: 1) kromopaarsed mikroobid, mis pigmenti ümbrusse eritavad ja ise seejuures pigmendist vabaks jäävad, ja 2) kromofoorsed mikroobid, millel pigment raku sisse püsima jääb. Üks ja sama mikroobitõug võib mitmesugust pigmenti valmistada, mis oleneb mikroobi toitumistingimusist. Näiteks *Pseudomonas syncyanea* (sinise piima bakter) valmistab sinist pigmenti söötmes, mis sisaldab *ammonium citricum*'i ja rohekaskollast pigmenti asparagiini sisaldavas söötmes, kuna mõlemad pigmendid tekivad *ammonium lacticum*'i sisaldavas söötmes. *Pseudom. aeruginosa* valmistab sinist püotsüaniini, kollakas-rohelist bakteriofluorestseiini ja punast püoksantiini.

Mikroobide kromogeensed funktsioonid olenevad väga paljudest faktoritest. *Pseudomon. aeruginosa* ja *Serratia marcescens* valmistavad rikkalikult pigmenti, kui nende söötmes leidub magneesiumi ja väävlit ($MgSO_4$ 0,2%) ja sööde on nõrgalt hapu reaktsiooniga. Kõik faktorid, mis takistavad mikroobide kasvu, avaldavad takistavat toimet ka pigmendi valmistamisele. Pigmendi tekkimiseks on tarvilik vaba hapniku juurdepääsemine mikroobidele ja ainult üksikud liigid toodavad pigmenti anaeroobseis tingimusis. *Serratia marcescens, Sarcina flava, Actinomyces violaceus* jne. tarvitavad 20—25° C t° ja *Pseudomon. aeruginosa* 37° C t° kõige kiiremaks pigmendi valmistamiseks. Kõrgemas temperatuuris kaotavad paljud mikroobid *(Serratia marcescens)* pigmendi produtseerimise funktsiooni mitmeks põlveks. Mõned harilikult pigmendita mikroobid võivad anda pigmenti valmistava generatsiooni.

Pigmentide elimineerimiseks kultuurist võib katsuda neid sulatada soojas või külmas vees, alkoholis, amüülalkoholis, kloroformis, eetris, bensoolis, väävelsüsinikus jne. Saadud lahusest võib pigmenti sadestada kloorkullaga, kloorplaatinaga, tanniiniga, sublimaadiga, fosformolübdeenhappega või KJ lahusega.

Mikroobide pigmentidest on tuntud järgmised:

1) Pigmendid, mis vees lahustuvad ja söödet värvivad. Siia kuuluvad: fluorestseeruv kollakas pigment (bakteriofluorestseiin), mida produtseerivad *Pseudomon. fluorescens* ja teised. Sinine pigment — püotsüaniin ja süntsüaniin; esimest valmistab *Pseudomon. aeruginosa*, teist *Pseudomon. syncyanea*. Püotsüaniin on kristalne aine, mida võib vesilahusest eraldada kloroformiga. Happed muudavad tema punaseks, leelised siniseks. Süntsüaniin muutub hapete toimel mustjas-siniseks, leeliste toimel pruunikas-mustaks.

2) Pigmendid, mis alkoholis lahustuvad. Siia kuulub punane pigment (prodigiosiin), mida valmistab *Serratia marcescens*. Peale alkoholi lahustub ta eetris, kloroformis, väävelsüsinikus ja bensoolis. Leelised muudavad ta kollaseks, mõned happed violettpunaseks, tsink ja soolhape valastavad. See pigment tekib kõige rikkalikumalt kartulil ja leival. Kollane pigment, mida valmistavad *Sarcina lutea ja aurantiaca, Staphylococcus aureus* ja teised. Kontsentreeritud väävelhape muudab ta sinikas-roheliseks, leelised kollakaspunaseks või punaseks. Sellega sarnanevad taime- (porgandi) ja rasvapigmendid (karotiin, lipokroom). Violetne pigment, mida valmistab *Chromobact. violaceum*. $H_2SO_4$ muudab ta kollaseks, leelised roheliseks, tsink valastab.

3) Pigmendid, mis ei lahustu vees ja alkoholis. Neid valmistavad *Azotobacter chroococcum* (alul pruun, pärast must) ja mitmesugused seened.

Sageli näeme, et mikroobide kultuur muudab söötme mustjas-pruuniks või koguni mustaks. Säärastel kordadel on enamasti tegemist türosiini hapendumisproduktidega või väävlisraua-terakestega, mida eritavad mikroobirakud.

Fülogeneetiliselt pakuvad suurt huvi nn. rohelised bakterid, millede rakuprotoplasma on homogeenselt roheline, ja spektraal-analüüs tõendab, et see roheline pigment sarnaneb taimede klorofülliga. Et aga rohelised bakterid valguse toimel süsinikku ei sarnasta, siis arvatakse, et siin on tegemist inaktiivse klorofülliga. Selle põhjal tekib arvamus, et rohelised mikroobid sei-

savad lähedases suguluses roheliste vetikatega *(Chlorophyceae)*. Väga võimalik, et roheliste bakterite inaktiivne klorofüll on prototüübiks taimede klorofüllile.

**Mikroobide biokeemiline toime ja ensüümid (fermendid).**

Mikroobide toimet mitmesugustesse ainetesse põhjustab ja reguleerib mikroobide poolt valmistatud ensüümide ehk fermentide keeruline süsteem. Ensüümide poolt põhjustatud oksüdatsiooni ja reduktsiooni reaktsioonid mikroobide ja ainete vahel toimuvad järgmiselt: 1) kui aine molekul võtab vastu hapniku (O) või annab ära vesiniku (H), siis toimub aine molekuli oksüdeerumine; 2) kui aga aine molekul annab ära hapniku või võtab vastu vesiniku, siis redutseerub aine molekul. Hapniku ja vesiniku aktiveerimist säärasel korral põhjustavad mitmesugused ensüümid. Warburg arvab, et tsellulaarse oksüdatsiooni puhul toimub hapniku ülekandumine, milles raud etendab olulist osa. Molekulaarne hapnik ühineb raku ainetes leiduva redutseeritud rauaühendiga; viimane oksüdeerub ja kui see puutub kokku vastava orgaanilise molekuliga, siis annab ta viimasele hapnikku ja oksüdeerub ise uuesti molekulaarse hapnikuga. Säärane rauaühendi oksüdeerumine-redutseerumine kordub piiritult. Wieland arvab, et mikrobiaalne oksüdatsioon toimub vesiniku äraandmise teel, kus aine molekul kaotab vesiniku otseselt, või aine molekuliga liitub enne vee molekul. Selle reaktsiooni toimumisel on tarvilik soodsa aine kaasabi vesiniku vastuvõtmiseks. Lisandame näiteks *E. coli* suspensioonile glükoosi või manniiti ja metüleensinist ja hoiame segu õhuvabas torus 45° C t°-s, siis aktiveerib mikroobirakkudes esinev ensüüm dehüdrogenaas glükoosi või manniidi molekuli vesiniku; viimane liitub metüleensinisega ja redutseerib selle värvituks leuko-metüleensiniseks. Katsed näitavad, et aktiveeritud vesiniku ülekandumist soodustavad mitmesugused substantsid (glutatioon ja tsütokroom).

Ülalpool kuulsime, et mõned mikroobid on võimelised kasutama molekulaarset (vaba) vesinikku. Uuemad katsed (Stephenson ja Stickland) tõendasid, et molekulaarset vesinikku aktiveerib mikroobide poolt valmistatud spetsiifiline ensüüm hüd-

rogenaas. Peale selle valmistavad mõned mikroobid (*Escher. coli* jt.) veel ensüüm hüdrogeenlüaasi, mis vabastab teatud ainetest molekulaarse vesiniku.

Üldiselt peab mainima, et bakteriaalsete ensüümide keemilise iseloomu ja toimimise mehhanismi suhtes on teadmised alles väga puudulikud. Ensüümina mõistetakse substantsi, mille minimaalne hulk võib lõhustada suure hulga liitorgaanilist ainet, ilma et tema enese hulk seejuures kahaneks (katalüsaatorid). Ensüüm on elusa raku tegevusprodukt, kuid ta ei hävi ühes raku surmaga. Meil on võimalus ensüümi elimineerida mikroobirakkudest ja saadud ensüümiga esile kutsuda käärimist (fermentatsiooni). Selleks autolüüsitakse mikroobirakke vees või glütseriinis ja ekstrakt eraldatakse. Samaks otstarbeks võib mikroobe hõõruda räniliivaga või infusoormullaga ja ensüümilahus eraldada segu tugeva pressimise abil. Ensüümi ei ole veel korda läinud saada puhtal kujul, kuid ülalmainitud ensüümisegudest võib sadestada mitteaktiivseid valkaineid ammoniumsulfaadi või uranüülatsetaadi lahusega. Ensüüme võib hoida aktiivsetena külmas, lisades igale 100 $cm^3$ lahusele 1—2 $cm^3$ toluooli, kloroformi või 2 g tümooli. Pikemaajaliseks alalhoidmiseks kuivatatakse ensüümisegu kiiresti õhuvabas ruumis ja hoitakse *in vacuo* kinnijoodetud torukestes pimedas külmas kohas.

Ensüümid sadestuvad vesilahusest alkoholi toimel, dialüüsuvad raskelt, nad on amorfsed ained, *calcium phosphoricum* ja mõned teised soolad viivad neid lahusest kaasa sademesse, nad on vastupidavad mürkidele, 50—60° C $t^0$ lõpetab nende tegevuse, kuivalt võivad nad 100° C kuumusele vastu pidada, valgus on neile kahjulik. Oma tegevuse iseloomult on nad sarnased keemiliste katalüsaatoritega, mis reaktsioonist otseselt osa ei võta, kuid ainult ergutavad ja kiirendavad reaktsiooni. Ensüümide kui katalüsaatorite toimet võivad pidurdada (mürgistada) mitmesugused keemilised ained (narkootilised vahendid, KCN, CO ja $H_2S$). Üks ja sama mikroob võib valmistada mitmesuguseid ensüüme. Ühed ensüümid vajavad tegevuseks haput, teised leelisest keskkonda.

Keemiliste muutuste suhtes, mida mikroobid põhjustavad kultuuris viibivais aineis, võib ensüüme järgmiselt liigitada:

I. Lämmastikaineid lõhustavad ensüümid (proteolüütilised fermendid):

1. Proteaas — lõhustab proteiine.
2. Trüptaas — sarnaneb trüpsiiniga ja lõhustab želatiini ning hüübinud vereseerumit.
3. Pepsinaas — sarnaneb pepsiiniga.
4. Želatinaas — lõhustab želatiini.
5. Kaseaas — lõhustab kaseiini.
6. Nukleaas — lõhustab nukleiinhapet.
7. Erepsiin — lõhustab albumoose ja peptoone.
8. Hemolüsiin — lõhustab erütrotsüüte.
9. Laapferment — kalgendab piima.
10. Autolüsiin — lõhustab mikroobe.
11. Ureaas — lõhustab kusiainet, andes $NH_3$, $CO_2$ ja $H_2O$.

II. Rasvaineid lõhustavad ensüümid (lipolüütilised fermendid):

1. Lipaas (steapsiin) — lõhustab rasva glütseriiniks ja rasvhapeteks.
2. Letsitinaas — lõhustab letsitiini.
3. Monobutürinaas — lõhustab monobutüriini.
4. Esteraas — lõhustab alifaatseid ja aromaatseid liitestreid.
5. Karboksülaas — lõhustab alifaatseid ja aromaatseid ketohappeid.

III. Süsivesikuid lõhustavad ensüümid:

1. Tsellulaas — lõhustab tselluloosi.
2. Amülaas — lõhustab tärklist dekstriiniks ja maltoosiks.
3. Dekstrinaas — lõhustab dekstriini.
4. Invertaas — lõhustab roosuhkru viinamarja- ja puuviljasuhkruks.
5. Laktaas — lõhustab piimasuhkru viinamarjasuhkruks ja galaktoosiks.
6. Tsümaas — käärib suhkrud alkoholiks.
7. Maltaas — lõhustab maltoosi.
8. Emulsiin — lõhustab glükosiide.
9. Pektaas — sulatab pektiini.

10. Želaas — sulatab agar-agarit ja fermenteerib seda suhkruks.
11. Inulaas — lõhustab inuliini.

IV. Oksüdeerivad ja redutseerivad ensüümid:

1. α-oksüdaas — toimetab hapendamist.
   a. Türosinaas — hapendab türosiini.
   b. Lakaas — hapendab aromaatseid ühendeid.
   c. Salitsülaas — hapendab salitsüüli.
2. p-oksüdaas — hapendab $H_2O_2$ kaasabil.
3. Reduktaas — taandav ferment.
4. Katalaas — lagundab $H_2O_2$ veeks ja hapnikuks.

**Lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsioon.**

Lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsioon.

Valkude ja teiste lämmastikku sisaldavate ainete lõhustumist, kusjuures tekivad halva lõhnaga produktid, nimetatakse igapäevases elus roiskumiseks *(putrefactio)*. Mikrobioloogias mõistetakse roiskumisprotsessi all ainete põhjalikku lõhustumist mikroobide toimel, millele järgneb aine mineralisatsioon. Orgaaniline aine roiskub looduses harilikult kahes faasis: esimene on tingitud aeroobseist mikroobest, teine anaeroobseist. Roiskub vedel aine, siis tungivad sellesse alul aeroobid, mis sealt toitu ning hapnikku leiavad elamiseks ja sigimiseks. Nende toimel eralduvad roiskuvast ainest produktid, mis on harilikult lõhnata. Peale seda kui hapniku hulk aines väheneb, kogunevad aeroobid pinnale, et absorbeerida õhu hapnikku. On kõik hapnik ainest ära tarvitatud, siis hakkavad seal takistamatult sigima anaeroobid, mida kaitseb õhu hapniku eest aeroobide kiht.

Valkude lõhustumine — fermentatsioon — esineb laialt maapinnas, vees, sooltes ja surnud organismides. Veel ei tunta kõiki mikroobide ensüüme, mis põhjalikku valgu lõhustumist esile kutsuvad, kuid selle tagajärjel tekkivaist produktidest on juba paljud tuntud. Proteolüütiline ferment lõhustab valgu hüdrolüüsi teel järkjärgult albumoosideks ja edasi peptoonideks. Peptolüütiliste fermentide toimel lõhustuvad peptoonid polüpeptiidideks ja edasi amiinohapeteks (glükokoll, leutsiin, arginiin, lüsiin, histidiin, asparagiin jt.). Amiinohapped lõhustuvad mitmesuguste ensüümide toimel, andes:

1) alifaatsed happed (sipelgahape, äädikhape, propioonhape, piimahape jne.); viimased annavad lagunemisel lõpp-produktidena $CO_2$ ja $H_2O$, kusjuures tekivad harilikult vaheproduktidena aldehüüdid;

2) aromaatsed ühendid (indool, skatool, fenool, trüptofaan, kresool, fenüülalaniin jt.); need oksüdeeruvad mikroobide toimel ja annavad lõpp-produktidena $NH_3$, $CO_2$ ja $H_2O$;

3) roiskumisalkaloidid ehk ptomaiinid (metüülamiin, di- ja trimetüülamiin, putrestsiin, kadaveriin, koliin, neuriin, neuridiin, muskariin jt.); need oksüdeeruvad mitmesuguste ensüümide toimel, mille tulemusena tekivad lõpp-produktid $NH_3$, $CO_2$ ja $H_2O$.

Valkudes ja teistes lämmastikainetes leiduv väävel (S) eraldub $H_2S$ (väävelvesinik) ja $CH_3SH$ (metüülmerkaptaan) näol; fosfor (P) eraldub $PH_3$ (fosforvesinik) ja fosforhappesoolade näol. Peale mainitud lõpp-produktide tekib valkude lõhustumisel veel hulk teisi: $N_2$, $H_2$, $CH_4$ jne. Valkude lõhustumise lõpp-produktid, samuti ka vaheproduktid, ei ole veel kõik teada, kuid üldjoonis toimub loomsete ja taimsete valkude fermentatsioon mikroobide toimel esitatud skeemi raamides. Seejuures jääb aga küsitavaks, millises ulatuses suudavad need mikroobid, mis lõhustavad valke, kasutada toiduks neid keerulise ehitusega aineid, kui neil puudub söötmes mõni teine soodus lämmastiku allikas. Näiteks *Proteus vulgaris* lõhustab kanamunavalku ainult siis, kui ta saab kasvuks tarvilikku lämmastikku kergesti seeduvast ainest. Valkude lõhustamine oleneb üldiselt suurel määral kultuuris leiduvatest ainetest, mis on soodsad mikroobi kasvuks (süsivesikud jt.).

Peale valkude leidub looduses palju teisi lämmastikku sisaldavaid aineid, mida energiliselt lõhustavad mitmesugused mikroobid oma ensüümidega. Kusiainet lõhustavaid mikroobe leidub alatasa õhus, reovees, sõnnikus ja mullas. Mikroobe, mis kusiainet iseäranis energiliselt lõhustavad, nimetatakse urobakteriteks. Nende mikroobide kasvatamiseks on soodsaks söötmeks lihapuljong, mis sisaldab 2—5% kusiainet, milles urobakterid kiiresti sigivad. Lõplikuks isoleerimiseks külvatakse neid sellest algkultuurist järgmisele tahkele söötmele: keedetakse 20 g press-

pärmi 100 g veega, lisandatakse 2—3% kusiainet ja 10% želatiini. Juba mõne päeva järel tekib urobakterite pesade ümber valge rõngas $CaCO_3$ ja $CaHPO_4$ sademest. Urobakterite ensüümi ureaasi ehk uraasi toimel laguneb kusiaine järgmiselt:

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O = (NH_4)_2CO_3 + 7 \text{ calor.}$$
$$(NH_4)_2CO_3 = 2NH_3 + CO_2 + H_2O.$$

Ureaasi tegevus on kõige suurem 30—33° C t°-s. Sahharoos, glütseriin ja valgus kiirendavad tema tegevust; sublimaat, *cupr. sulfur.*, *acid. boricum*, *natr. causticum*, mineraalhapped ja kloroform lõpetavad kiiresti tema tegevuse.

Kusihape ja hipuurhape lõhustuvad mitmesuguste mikroobide toimel järk-järgult ja lõpuks tekivad $NH_3$, $CO_2$ ja $H_2O$. Sellest näeme, et mikroobid lõhustavad energiliselt neid orgaanilisi aineid, millega inimesed ja loomad iga päev ümbrust roojastavad.

Tüüpilistest valke ja lämmastikku sisaldavaid aineid lõhustavatest (roiskumise) mikroobest võiks mainida:

*Proteus* — leidub suurel arvul maapinnal, vees, õhus, sõnnikus, roojas jne. Ta tekitab fermentatsiooni ka niisuguseis aineis, kus teised mikroobid ei suuda tegevust avaldada. *Proteus*'e liike tuntakse mitu: *Proteus vulgaris, mirabilis* jne.

*Bacillus mycoides* — tuntud roiskumismikroob, mis valgu fermentatsiooni peamiselt maapinnas toimetab. *Bac. mycoides* on peafaktoriks musta muda tekkimisel merede, järvede ja limaanide põhjas.

*Aerobacter cloacae* — on samuti tuntud energiline roiskumise tekitaja, mida leidub reovees, mullas ja roojas.

*Bacillus subtilis* — leidub õhus, mullas, reovees ja heintel.

Alatasa sooltes viibivaist anaeroobidest võib mainida *Clostr. lentoputrescens*'it ja *Bac. cadaveris sporogenes*'t kui energilisi valgu, põhjaliku fermentatsiooni tekitajaid. Roiskumismikroobide hulka kuuluvad ka paljud patogeensed mikroobid, näit. *Cl. perfringens, Cl. tetani, Staphylococcus* jne.

Mikroobide elutegevuse tagajärjel toimuva valkude ja lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsioonil tekkinud produktide uurimine on keeruliseks ülesandeks mikrobioloogilises keemias, mille lahendamine vajab veel palju tööd. Praktilises mikrobio-

loogias piirdutakse vaid tähtsamate produktide määramisega lihtsustatud ja peamiselt kvalitatiivsete meetodite abil.

Proteolüütiliste fermentide määramisel võetakse harilik želatiinsööde, või puljong, millele lisandatakse koaguleerunud valgu tükikesi (hüübinud vereseerumit, hüübinud kanamunavalku või fibriini), külvatakse uuritavaid mikroobe juurde (želatiinile pistekülv) ja lastakse kasvada želatiinikultuuri 20—22° C t°-s, puljongikultuuri 37° C t°-s. Sulab võetud želatiin ja valk lühema või pikema aja jooksul, siis on tegemist mikroobiga, mis trüpsiini valmistab.

Proteolüütilise ensüümi valmistamise funktsioon on mikroobidel väga muutlik. Nii on teada, et mõned liigid, kasvades kunstlikul söötmel, omandavad kord-korralt suurema želatiinisulatavuse, kuna teistel mikroobidel samades tingimustes see võime kahaneb. Huvitav on, et ühe ja sama mikroobiliigi üksikute pesade ümber võib želatiin sulada, kuna teiste pesade ümber ei ole seda näha. Säärane mikroobidele omane želatiini sulatamise funktsiooni muutlikkus vähendab märksa selle laialt tarvitusel oleva katse tähtsust mikroobide eristamises.

Hemolüsiini uurimiseks lisandatakse mitmesse katsuklaasi võetud 2 cm³ 0,85% söögisoolalahusele 1 cm³ pestud erütrotsüütide 5% suspensiooni ja siis kord-korralt suurenev hulk (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 cm³ jne.) mikroobide vedela kultuuri filtraati, või tahkelt söötmelt füsioloogilise lahusega ärapestud ja hästi läbiloksutatud suspensiooni tsentrifugeerimisel saadud mikroobidevaba vedelikku. Kultuurid peab võtma mitmesuguse kasvuaja (1, 2, 3, 4 päeva jne.) järel. Segu lastakse seista 2 tundi 37° C t°-s ja siis 20 tundi jääkapis. Sulamata erütrotsüüdid langevad katsuklaasi põhja; mida rohkem neid on sulanud, seda punasem on pealmine vedelik. Eijckman soovitab sulale agarsöötmele (45° C) lisandada pestud erütrotsüüte, hästi segada, segu Petri kaussi valada ja hangunud söötme pinnale uuritavaid mikroobe külvata. Valmistavad mikroobid hemolüsiini, siis tekivad mikroobide pesade ümber läbipaistvad rõngad. Hemolüsiinide uurimiseks võib sulale (45° C) agarsöötmele korraga juurde lisada erütrotsüüdid ja uuritavad mikroobid ning siis Petri kaussi lajali kallata. Ei ole veel

lõplikult teada, kas hemolüsiin kuulub fermentide hulka või sulavad erütrotsüüdid mõnede teiste keemiliste ainete toimel. Katseks peab kasutama inimese, oina, jänese ja merisea erütrotsüüte, sest hemolüsiinid erinevad oma toimelt.

Ammoniaagi ($NH_3$) tekkimist N sisaldavaist aineist mikroobide tegevusel võib järgmiselt näidata: katsuklaasi, kus kasvab mikroobikultuur, riputatakse topise vahelt Nessleri reaktiivis märjaks tehtud filterpabeririba, klaas kaetakse pealt vahaga või plastooliga ja hoitakse 37° C t°-s. Muutub paber kollaseks või pruuniks, siis eraldub kultuurist $NH_3$.

Väävelvesiniku ($H_2S$) uurimiseks riputatakse kontsentreeritud *plumbum aceticum*'i lahuses märjaks tehtud filterpabeririba kummikorgi vahelt kultuuri klaasi, nii et see söötmega kokku ei puutuks, ja hoitakse 37° C t°-s 3—5 p. Tekib kultuuris $H_2S$, siis muutub paber pruunikaks või koguni mustaks. Katset peab sageli kontrollima, sest mustaks muutunud paber võib värvi uuesti kaotada hapendumise mõjul.

Ernst soovitab $H_2S$ tekkimise tõestamiseks želatiinsöötmele lisandada 3% järgmist lahust: *ferri tartar. oxydat.* 0,5 + *aq. dest.* 50,0 + $Na_2CO_3$ leelisese reaktsioonini ja külvatakse mikroobid juurde. $H_2S$ värvib söötme mustaks (mustad rõngad mikroobide pesade ümber).

Paljud gram-negatiivsed mikroobid (*Escher. coli, Vibrio comma* jt.) valmistavad kiiresti indooli, kasvades söötmes, mis sisaldab vaba trüptofaani, kuna teistes söötmeis peavad mikroobid alul ensüümide abil valkaineist trüptofaani ja sellest hiljemini indooli valmistama.

Indooli tekkimise uurimiseks soovitatakse mitmesuguseid erisöötmeid, kuid harilikult kasvatatakse uuritavaid mikroobe tavalises peptoonpuljongis kuni 5 p. või järgmises trüptofaani sisaldavas söötmes: trüptofaani 0,3 g + *ammonium lacticum* 5 g + *kalium phosphoricum* 5 g + *magnes. phosphoricum* 0,3 g + *aq. destill.* 1000 $cm^3$; sööde neutraliseeritakse ja steriliseeritakse.

Paljudest indooli reaktsioonidest võiks tarvitada järgmisi:

1) Salkowski reaktsioon: 10 $cm^3$ kultuurile lisandatakse $^1/_3$ osa 50% väävelhapet (*acid. sulfuric. conc.* + *aq. destill. āā*),

loksutatakse hästi segi ja lisatakse juurde tilkade viisi naatriumnitritilahust (*natr. nitrosi* 0,02 g + *aq. destill.* 100 $cm^3$). On kultuuris indooli, siis tekib punane värvus, mille intensiivsus sõltub indoolihulgast. Kahtlase reaktsiooni puhul võib punast värvainet nähtavamaks teha, kui seda segust ekstraheerida amüülalkoholi või kloroformi abil.

Seda reaktsiooni tarvitatakse sageli mikrobioloogias, kuid seda ei saa pidada spetsiifiliseks, sest sama reaktsiooni annavad indooli tekkimise esimese etapi produktid (indool-äädikhape).

2) Ehrlich-Pringsheim'i reaktsioon: 5 $cm^3$ kultuurile lisandatakse 5—10 tilka järgmist reagenssi: 5 g p-dimetüülamiidobensaldehüüdi, 50 $cm^3$ metüülalkoholi (96%), 50 $cm^3$ *acid. hydrochloric.* (erikaaluga 1,19) ja loksutatakse segi. On kultuuris indooli, siis ilmub punane värvus. Naatriumnitriti-lahuse lisandamine kõvendab reaktsiooni. Amüülalkohol ja kloroform ekstraheerivad punase värvaine.

Seda reaktsiooni peetakse spetsiifiliseks indoolile.

Fenooli määramiseks kasutatakse kultuuri destilleerimise meetodit, kuid märksa lihtsam on Marquis' reaktsioon. Selleks võetakse katsuklaasi 1—2 $cm^3$ *acid. sulfurici*, lisandatakse 2—3 tilka formaliini ja kallatakse siis ettevaatlikult längus klaasi serva pidi juurde uuritavat kultuuri vedelas söötmes. Leidub kultuuris fenooli, siis ilmub kultuuri ja reagensi kokkupuutekohal roosakaspunane või pruunikas-punane rõngas. See reaktsioon on ülitundlik.

Fenooli võib leiduda ainult mõningate mikroobiliikide (*Escher. coli, Proteus vulgaris*) vanades kultuurides.

Trüptofaani valmistavad valgust väga paljud mikroobid (*Eberth. typhosa, Salmonella schottmuelleri, Vibrio comma, Streptococcus pyogenes*). Trüptofaani uurimiseks kasutatakse Monceaux' reaktsiooni. Selleks lisandatakse lihapuljongis kasvavale mikroobikultuurile esiteks 5—6 tilka 1% glüoksüülhappe vesilahust ja siis *acid. sulfuric. conc.* Leidub kultuuris trüptofaani, siis ilmub happe ja eelmise segu kokkupuutekohale violetne rõngas.

Roiskumist, mis toimub vaba õhu juurdepääsemisel, nimetatakse sageli kõdunemiseks.

Loomade ja inimeste korjused satuvad mikroobide toime alla, mis lõhustavad valkaine järk-järgult lihtsamaiks aineiks, nii et korjuste roiskumine lõpeb valkainete täieliku mineralisatsiooniga. Korjuste roiskumine algab mitte ainult pindmistest, vaid ka sisemistest osadest. Sooltes viibivad roiskumismikroobid tungivad peale surma kiiresti kudedesse ja vallutavad mõne päeva jooksul kogu organismi, kus nad jõudsasti sigivad ja oma fermentatiivset tööd toimetavad. Juba surmaheitluse ajal võivad mikroobid sooltest verre pääseda ja kogu organismis laiali valguda, iseäranis kui surmaheitlus on kestev. Harilikult võib juba mõni tund pärast surma leida roiskumismikroobe südames ja nendes osades, mis viibivad soolte lähikonnas. Mida soodsamad on roiskumismikroobide kasvu- ja sigimistingimused, seda kiiremini edenevad korjuse dekompositsiooniprotsessid.

Kui mikroobid ei toimetaks valkude ja lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsiooni ehk roiskumist, siis muutuksid maapind ja veekogud lühikese aja jooksul korjuste ja rooja laoks, kus elu oleks võimatu. Praktilist kasutamist leiavad roiskumisprotsessid nahaparkimises (karva mahavõtmiseks) ja peamiselt põlluväetamises, kus sõnnikus viibivad orgaanilised ained lõhustuvad mikroobide toimel ja nende lammutusproduktid taimedele toiduks lähevad.

### Rasvainete lõhustumine mikroobide toimel.

Rasvad seebistuvad kiiresti leeliste toimel soojendamise tagajärjel; samuti lõhustuvad nad spetsiifiliste fermentide — lipaaside — toimel, mida valmistavad inimene, loomad, taimed ja mõned mikroobid. Üldiselt lõhustuvad rasvad mikroobide ensüümide toimel raskemini kui teised orgaanilised ained. Rasvainete lõhustumist (hüdrolüüsumist) glütseriiniks ja rasvhapeteks toimetavad järgmised mikroobid: *Pseudomon. fluorescens, Serratia marcescens, Pseudomon. aeruginosa, Escher. coli, Staphylococcus* ja paljud seened.

Rasvade lõhustajate bakterite (lipobakterite) isoleerimiseks mullast valmistatakse peptoonvesi (1% peptooni ja 1% NaCl), millele lisandatakse 1—2% rasvaemulsiooni ja kriiti, ning külvatakse sisse väike hulk mulda. Rasvaemulsiooni valmistamiseks hõõrutakse 60 g mandliõli 30 g peeneks tambitud araabia kummiga ja 45 $cm^3$ peptoonveega; sellest lisandatakse vedelale söötmele või agarile tarvilik hulk.

Lipaasi produtseerivate mikroobide tähtsus on looduses suur, sest maapinnas ja reovetes lõhustuvad rasvollused nende mikroobide toimel glütseriiniks ja rasvhappeiks, mis omakorda oksüdeeruvad teissuguste mikroobide fermentide toimel lihtsaiks ühendeiks. Sel teel toimub looduse puhastamine rasvajäätmeist.

Lipobakterite toimel muutuvad mõrkjaks või ja teised rasva sisaldavad toiduained. Üksikud mikroobiliigid suudavad valmistada rasva süsivesikutest.

Lipolüütilise ensüümi uurimiseks valatakse Petri kaussi sula looma- või searasva ja kauss tühjendatakse sellest kiiresti, kusjuures klaasi külge jääb õhuke rasvakiht. Siis valatakse kaussi võimalikult jahedat sula agarsöödet ja külvatakse mikroobid peale. Nende mikroobipesade all, kus tekib lipaas, seebistub rasv ja muutub tuhmiks (Eijkmann). Samaks otstarbeks võib katta rasvaga katsuklaasi seesmise pinna, valada klaasi vastav vedel sööde ja külvata uuritavad mikroobid sisse. Lipaasi toimel muutub rasv kohati valkjas-tuhmiks.

## Süsivesikute fermentatsioon.

Süsivesikute fermentatsiooni all mõistetakse nende lõhustumist lihtsamaiks aineiks, mis keemilise iseloomu poolest erinevad algainest. See protsess on laialt tuntud käärimise nimetuse all. Käärimine on üks neist protsessidest, mis toimetab süsiniku (C) ringimist looduses ja puhastab maapinda peamiselt taimseist surnud jäänuseist. Käärimisprotsessi kasutatakse paljudeks praktilisteks otstarveteks nii tehnoloogias kui ka põllumajanduses.

Juba ammu oli teada, et paljude mikroobide ensüümid atakeerivad monosahhariide, millede oksüdeerumise lõpp-produktidena tekivad vesi ja süsihappegaas ($CO_2$). Suuremalt jaolt ei toimu säärane täielik oksüdatsioon, kuid käärimisel ilmuvad väga mitmesugused vaheproduktid. Süsivesiku molekul hüdrolüüsub, kusjuures üks osa hüdrolüüsunud molekulist oksüdeerub ja teine osa redutseerub. Dekstroosi fermentatsioon *Escher. coli* toimel demonstreerib seda reaktsiooni:

$$\underset{\text{dekstroos}}{2C_6H_{12}O_6} + H_2O = \underset{\text{piimahape}}{2CH_3CHOH \cdot COOH} +$$
$$+ \underset{\text{äädikhape}}{CH_3 \cdot COOH} + \underset{\text{alkohol}}{C_2H_5OH} + 2CO_2 + 2H_2.$$

Olenedes reaktsiooni tingimusist, võivad sellel fermentatsioonil tekkida veel väga mitmesugused teised vaheproduktid (sipelgahape jt.). Kõik tuntud süsivesikute liigid alluvad mikroobide ensüümide toimele, kuid selle toime mehhanismi ja tekkivate produktide suhtes on teadmised alles puudulikud.

Tselluloosi fermentatsioon toimub looduses vahetpidamatult, kusjuures surnud taimorganismid mikroobide ensüümide toimel lihtaineiks lõhustuvad. Selle tagajärjel vabaneb hulk aineid, mis taimedesse on koondunud; need hakkavad uuesti osa võtma ainete ringimisprotsessist. Tselluloosi fermentatsiooni protsessi leiame igas tiigis, kus põhjamuda liigutamise korral gaasimullid ($CH_4$) üles tõusevad, mis tselluloosi lõhustumise lõpp-produktide hulka kuuluvad. Tselluloosi käärimist põhjustab ensüüm tsellulaas, mida toodavad väga mitmesugused mikroobid (*Bac. cellulosae hydrogenicus* ja *methanicus, Proteus nadsoni*, mitmesugused seened, aktinomütseedid jt.). Tselluloosi käärimine esineb loomade sooltes, mullas ja sõnnikus. Taimede fermentatsioon on seotud mustmulla — huumuse — tekkimisega, mis nii suurt osa etendab inimkonna heas käekäigus. Taimede karbonisatsioon ehk süsistumine on samuti suuremalt osalt mitmesuguste mikroobide elutegevuse avaldus.

Tselluloosi käärimise lõpp-produktidest on tuntud $CH_4$, $CO_2$, $H_2$ ja orgaanilised happed.

Tselluloosi käärimine toimub aeroobselt ja anaeroobselt. Aeroobse käärimise demonstreerimiseks võetakse kolbi 1 cm kõrgune kiht kraanivett, millele on lisandatud 0,1% *ammon. chlorati*, 0,5% $K_2HPO_4$ ja kriiti. Kolbi riputatakse filterpaberi ribad ja vedelikule lisandatakse (infitseerimiseks) mulda või jõelima. 3—4 näd. vältel laguneb paber 28—35° C t°-s vedelikku ulatuvas osas.

Anaeroobse käärimise demonstreerimiseks võetakse pikakaelaline kolb, täidetakse suuni soolalahusega (1000 $cm^3$ *aq. destill.* + 1 g *ammon. phosphor.* + 1 g $K_2HPO_4$ + 0,5 g *mag. sulfuric.* + jäljed NaCl), põhja asetatakse filterpaberi tükid ja kriiti. Infitseeritakse mullaga või jõelimaga. Käärimisel tekivad hape ja gaasid.

Tärklis $(C_6H_{10}O_5)_n$ hüdrolüüsub amülaasi toimel dekstriiniks, viimane lõhustub dekstrinaasi toimel maltoosiks ja isomaltoosiks; maltoos hürolüüsub maltaasi toimel dekstroosiks.

Valge leivataigna valmistamisel tekib amülaasi toimel tärklisest suhkur, mis käärides alkoholi ja süsihappegaasi ($CO_2$) annab. Viimasest oleneb taigna kerkimine. Hapuleiva käärimisel tekitavad bakterid suhkru fermentatsiooni, mille tagajärjel ilmuvad äädik-, piima- ja sipelgahape, kuna alkoholi tekkimine siin väiksemal määral ilmsiks tuleb. Kõik tärklised ei fermenteeru ühtviisi. Kõige kergemini fermenteeruvad kliistriks keedetud ja vees lahustuvad tärklised.

Amülaasi toime uurimiseks lisandatakse agarsöötmele tärkliskliistrit ja külvatakse joonena mikroobid peale. Pärast 2—3 p. kasvu tõmmatakse joodilahusega üle söötme ja jälgitakse värvust. Sööde on sinine, kultuuri ümbrus pruunikas-punane või värvitu, kui mikroob valmistab amülaasi.

Tärkliste käärimist toimetavad *Bac. anthracis, Bac. megatherium, Malleomyces mallei* ja paljud seened *Mucoraceae* sugukonnast. Tööstuse alalt võiks nimetada atsetooni ja butüülalkoholi valmistamist tärklisest mitmesuguste mikroobide fermentide abil.

Polüsahhariidide fermentatsioon võib toimuda astmeliselt mitme mikroobiliigi abil. Nii on tuttav, et *Bac. mesentericus'e*

fermendid sulatavad tärklist, hallitusseente fermentide abil valmistatakse sellest suhkur ja lõpuks kutsutakse pärmseentega esile suhkru käärimine alkoholiks.

Invertaasi, mis lõhustab roosuhkru (sahharoosi) viinamarja- ja puuviljasuhkruks, uurimiseks võetakse 2% roosuhkrulahust, lisandatakse uuritavad mikroobid ja lastakse kasvada 37° C t°-s termostaadis. Siis tehakse reaktsioon viinamarjasuhkrule Fehlingi lahusega või teiste reaktiividega. Invertaasi valmistavad *B. megatherium, Pseudomon. fluorescens, Proteus vulgaris, Vibrio comma* jne.

Suhkru käärimist alkoholiks tunti juba kaugeil möödunud aegadel, kuid selle käärimisprotsessi kemismi õnnestus ligemalt selgitada alles uuema aja bioloogidel.

Käärimisprotsessi avastajaks oli Lavoisier. Pasteur nägi käärimisprotsessis pärmide tegevust. Buchner näitas 1897. a., et suhkru käärimist alkoholiks põhjustab pärmseente ensüüm — tsümaas. Pärmseente rakke purustades ja siis pressides vesipressi abil sai Buchner pärmirakkudevaba vedeliku, mis peale tsümaasi sisaldas veel teisi ensüüme: invertaasi, maltaasi, glükogenaasi, proteaasi, oksüdaasi, reduktaasi ja katalaasi.

Tsümaasi toimel lõhustub glükoos etüülalkoholiks ja süsihappegaasiks, kusjuures vabaneb soojusenergia. Keemilise valemiga võiks seda protsessi järgmiselt märkida: $C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_6O + 2CO_2 +$ 51 calor. Lähemad uurimised näitavad, et käärimisel kaduma läinud suhkru kaal vastab vaid ligikaudu saadud alkoholi ja süsihappegaasi kaalule. Sellega pidi fermenteeruma osa glükoosi teisteks aineteks ja lähemad uurimised näitavad, et peale alkoholi ja süsihappegaasi tekib suhkru fermentatsiooni puhul 3—4% glütseriini, 0,5% merivaikhapet, propüül-, isobutüül- ja amüülalkoholi, mitmesuguseid aldehüüde, happeid ja liitestreid. Kahtlemata ei lõhustu glükoos otseselt alkoholiks ja süsihappegaasiks, vaid selle juures tekib veel palju tundmatuid vaheprodukte.

Kõrvaliste produktide hulk glükoosi fermentatsioonil on väga varieeruv ja oleneb paljudest tingimusist, mida on võimalik soovikohaselt muuta. Kui suhkrulahusele lisandada 2—3% $Na_2SO_3$, $NaHSO_3$ või $CaSO_3$ ja kutsuda esile käärimine pärmidega, siis

tekib suuremal või väiksemal määral äädikhappealdehüüdi ja glütseriini järgmise valemi kohaselt:

$$C_6H_{12}O_6 = CH_3 \cdot COH + C_3H_8O_3 + CO_2.$$

Mainitud soolad liituvad aldehüüdiga ja takistavad selle redutseerumist alkoholiks. Süsihappe-, boorhappe- ja fosforhappesoola lisandamine käärivale vedelikule muudab käärimise käiku, kusjuures tekivad alkohol, äädikhape ja glütseriin (Neuberg). Sellest näeme, et pärmseente fermendi tegevus on funktsioon, mis oleneb mitmesuguseist tegureist. Viimaste uurimine areneb uuemal ajal kiiresti.

Glükoosi fermentatsioon toimub peamiselt anaeroobseis tingimusis, kuid Pasteur näitas, et teatavas faasis on selleks tarvilik ka vaba hapnik. Käärimisprotsess on kõige energilisem 30—36° C t°-s. Alla 0° C ja üle 56° C jääb käärimisprotsess seisma. Sisaldab vedelik üle 30% suhkrut või üle 15% alkoholi, siis lõpeb käärimisprotsess. Tsümaas kutsub esile ainult monosahhariidide fermentatsiooni (glükoos, galaktoos jt.) ja ei kääri disahhariide (sahharoosi, laktoosi, maltoosi jne.) ja polüsahhariide (inuliini, tärklist, dekstriini).

Looduses laialt tuttavad suhkru käärijad on mitmesugused pärmseened (*Saccharomycetes*). Bakteritest tekitavad seda käärimist: *Serratia marcescens, Vibrio comma, Eberth. typhosa* jne. Pärmseened valmistavad maksimaalselt 16% alkoholi, kuna bakterid samus tingimusis seda 3—8% võivad valmistada.

Hansen'i suur teene on, et ta veini ja õlle valmistamisel tarvitusele võttis kultuurpärmid, mille tõttu võimalik oli käärimisproduktide väärtust tõsta.

Lima ehk dekstraani tekkimist ensüümide toimel nimetatakse sünteetiliseks käärimiseks, mis erineb eelmistest käärimistest, sest selle protsessi puhul näiliselt liituvad lihtsamad suhkurained uueks liitaineks.

Ammu oli teada, et paljud mikroobid võivad süsivesikuist limaollust — dekstraani $(C_6H_{10}O_5)_n$ — valmistada, mis on osalt tselluloosi sarnane, kuid ei muutu joodi toimel siniseks. Suhkru-

vabrikuis võib *Leuconostoc mesenteroides* ühe öö jooksul muuta suure kogu suhkruvedelikku limaks. *Micrococcus viscosus* valmistab veinis ja õlles manniiti ja lima ning rikub nende ainete väärtust (õlle- ja veinihaigus). Limase piima (veniva piima) tekkimise põhjustajaks on *Micrococcus lactis viscosus*. Säärast venivat piima, mis ei ole kahjulik, tarvitatakse paljudes maades toiduks. Aedvilja, jahu ja leiva limastumist tekitab laialt tuntud *Bac. mesentericus*.

Schardinger'i uurimiste järgi on väga võimalik, et lima tekib õieti mitte süsivesikuist, vaid mikroobide kesta limaks muutumise tagajärjel.

Paljude puude (ploomipuu, kirsipuu, akaatsia jne.) koorest imbub välja paljude haiguste kaasnähtusena isesugune kummiaine, mida valmistavad mitmesugused mikroobid. Viimaste toimel muutub tselluloos eeskätt suhkruks (levuloos, maltoos), mis pärast muutub käärimise tagajärjel kummiaineks.

Glükosiidid, mis seisavad suhkurainetega ligidases suguluses, lõhustuvad taimede ensüümide toimel. Peale selle võivad sama toimega ensüüme valmistada paljud mikroobid: hallitusseened, üksikud pärmseente liigid ja mõned bakterid *(Escherichia coli)*. Mikroobide ensüümide toimel lõhustuvad glükosiidid suhkruks ja alkoholiks, mille juures tekivad mitmesugused happed. Glükosiidide lõhustumisel mikroobide toimel on suur tähtsus farmaatsias ja toksikoloogias. Mittesteriilselt valmistatud leotised ja keedised, mis sisaldavad harilikult glükosiide (amügdaliin, arbutiin, *Digitalis*'e glükosiidid jne.), võivad mikroobide ensüümide toimel muutuda kõlbmatuks või koguni kahjulikuks seguks.

Pektiin kujutab arvatavasti mitmesuguste ainete segu, mille ülesandeks on siduda taimerakke. Mitmesugused keemilised reaktiivid (leeliste lahused) lõhustavad pektiini, mille tulemuseks on taimekoe lagunemine — matseratsioon ehk kostumine. Pektiini sulamist kutsub esile ensüüm pektaas, mida valmistavad mitmesugused mikroobid: *Clostr. butyricum, Bac. subtilis, Bac. mesentericus* jt. Pektiini käärimist kiudtaimede (lina, kanepi jt.) leotamise puhul tekitab harilikult anaeroobne *Clostridium acetobutylicum*.

Patoloogilise nähtusena esineb pektiini käärimine taimedel, kus selle protsessi tekitajaiks on mitmesugused taimedele patogeensed mikroobid: *Clostr. butyricum* (kartuli mädanemine), *Erwinia phytophthora, Phytomonas pruni* (lehtede bakterioos) jne. Pektiini käärimisel on suur praktiline tähtsus linade ja teiste kiudtaimede matsereerimisel. Peale selle on pektiini käärimisprotsess esimeseks astmeks määratu hulga taimede lõhustumises, mis igal sügisel surevad ja maapinda katavad. Kui kiudtaimede leotisvette satuvad ka tselluloosi fermenteerivad bakterid, siis hävib kiudaine (linaleotise haigus).

## Hapekäärimised.

Ülalpool kuulsime, et mitmesugused orgaanilised happed võivad tekkida vahe- või kõrvalproduktidena süsivesikute fermentatsiooni puhul. Hapekäärimiste all mõistetakse sääraseid protsesse, kus mikroobide ensüümide poolt põhjustatud käärimisel tekivad orgaanilised happed peaproduktina. Mainime siin vaid peajoontes neid käärimisi, kus tekivad äädikhape, piimahape, propioonhape, sidrunhape, oblikahape ja õlihape.

Äädika valmistamine oli tuntud kaugetel hallidel aegadel. Peamiselt tekib äädikhape etüülalkoholi hapendumise tagajärjel. Uurimised näitavad, et see protsess toimub kahes faasis: alul hapendub alkohol äädikhappe-aldehüüdiks ja siis hapendub viimane äädikhappeks. Seda reaktsiooni võib keemilise valemi abil järgmiselt märkida:

$$1)\ 2C_2H_6O + O_2 = 2C_2H_4O + 2H_2O;$$
$$2)\ 2C_2H_4O + O_2 = 2C_2H_4O_2.$$

Äädikhapekäärimist toimetavad mitmesugused, looduses väga levinud äädikhappe bakterite endofermendid. Morfoloogiliselt kujutavad äädikhappe bakterid lühikesi, mitteliikuvaid pulgakesi. Nende üksikud liigid valmistavad ka suuremal hulgal lima. Nad kõik on tüüpilised aerofiilid ja tekitavad fermentatsiooni ainult siis, kui neile ligi pääseb küllalt hapnikku, mida tuleb sil-

mas pidada äädika valmistamisel. Kasvutemperatuuri optimum on äädikhappe baktereil 20—34° C. Nende isoleerimiseks ja kasvatamiseks tarvitatakse harilikku agar- või želatiinsöödet, millele lisandatakse pärmivett või õlut, suhkrut või mett, asparagiini, lämmastikhappesooli ja pärast steriliseerimist 2—2,5% alkoholi.

Äädikhapekäärimine toimub 4—16% alkoholilahuses (olenedes mikroobist) ja jääb seisma, kui käärivas segus tekib 10—13% äädikhapet. Äädikhappe baktereid leidub palju õhus, maapinnas, puuvilja ja marjade pinnal. Kus looduses tekib etüülalkoholi, seal hapendavad nad selle kohe äädikhappeks ja saavad tihti veinivalmistajate vaenlasteks.

Äädikhappe bakteritest on tuntumad: 1) *Acetobacter aceti*, mis kasvab vedela söötme pinnal voldilise, valkja, tuhmi ja paksu nahana; 2) *Acetobacter pasteurianum;* 3) *Acetobacter rancens*; 4) *Acetobacter xylinum;* 5) *Bact. orleanense* jt. Tehnoloogiliselt äädika valmistamisel kasutatakse erilise kultiveerimise abil saadud tüvesid, mis valmistavad äädikhapet suuremal hulgal ja kõrvalprodukte võimalikult piiratud hulgal. *Bact. xylinum* ehk nn. teekalja seen valmistab suurel hulgal lima, mille tõttu nad kokku kleepuvad suurteks tükkideks, mida harilikult seente nime all rahva keskel tuntakse.

Piimahapekäärimine oli esimene bioloogilistest protsessidest, millele Pasteur (1857) rajas mikroobide spetsiifilisuse teooria. Seda fermentatsiooni demonstreerib meile igapäevases elus harilik piima hapendumine, kus laktoos mikroobide ensüümide toimel lõhustub piimahappeks ja seejuures sadestub piimast kaseiin. Piimahape tekib paljude ainete käärimisel, näit. glükoos, levuloos, galaktoos, maltoos, laktoos, sahharoos, dekstriin, manniit, õunahape ja valgud. Piimahapefermentatsioon toimub kõige kiiremini keskmiselt 30—35° C soojuses. Keemilise valemiga võib glükoosi käärimist järgmiselt märkida:

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3 + 34 \text{ calor.}$$

Piimahapekäärimist tekitavaid mikroobe — laktobaktereid — leidub suurel hulgal õhus, vees, piimas, maapinnas, sõnnikus jne. Ehtsaid ehk spetsiifilisi laktobaktereid, millede elu-

tegevuse produktide hulgas seisab piimahape esikohal, võib jagada kahte peagruppi: 1) Laktokokid, kujult sõõrjad, mis moodustavad streptokokkide sarnaseid kette, või teravaks veninud otstega kaksikkokke. Siia kuuluvad: *Streptocóccus lactis, Streptococcus cremoris, Streptococcus thermophilus* jt. 2) Laktobatsillid, pulgasarnased mikroobid. Siia kuuluvad: *Lactobacillus bulgaricus, L. helveticus, L. bifidus, L. casei, L. caucasicus* jt. Peale nende on tuntud hulk mitteehtsaid ehk mittespetsiifilisi laktobaktereid, mis kasvavad paremini aeroobselt ja produtseerivad piimahapet kõrvalproduktina: *Escherichia acidilactici, Alcaligenes viscosus, Escherichia coli, Proteus vulgaris* ja mitmesugused kokid.

Kõik ehtsad laktobakterid on ilma eosteta, mitteliikuvad, grampositiivsed, fakultatiivsed anaeroobid. Nad võivad sigida söötmes, kus leidub 0,6—0,8% piimahapet; tõuseb happe kontsentratsioon üle selle, siis jääb nende kasv seisma. Selles suhtes on erandiks *Lactobacillus bulgaricus*, mis kannatab happe kõrgemat protsenti. Laktobakterid kasvavad piimas ja harilikus leeliseses lihapuljongis, millele lisandatakse linnaseekstrakti. Tahketest söötmetest sobib nende isoleerimiseks järgmine: 500 $cm^3$ veele lisandada 25 g odralinnaseid ja keeta 10 min.; kurnata läbi linase riide, lisandada vett kuni 450 $cm^3$, selitada kanamunavalguga hariliku korra järgi, lisada 1,5% peptooni, 2% piima- või roosuhkrut ja 2% agarit; sulatada, lisandada 3% puhast kriiti, steriliseerida autoklaavis 45 min. 105° C, loksutada ja valada Petri kaussidesse. Kasvamise aegu ilmuvad laktobakterite pesade ümber läbipaistvad rõngad.

Kasvades vedelas söötmes kaotavad laktobakterid piimahappe toimel oma aktiivsuse. Nende aktiivsuse alalhoidmiseks peab söötmele lisandama kriiti, mis hapet neutraliseerib. Sageli säilitatakse laktobaktereid kuivalt, kuid siis võib juhtuda, et mõned laktobakterite liigid ära surevad. Piimahapefermentatsiooniks (piima hapendamisel ja piimaproduktide valmistamisel) peab tarvitama spetsiifilisi laktobaktereid, mis valmistavad rohkem piimahapet ning vähem kõrvalisi produkte.

Jogurdi ehk bulgaaria hapupiima valmistamisel kasuta-

takse pärmialust, mille aktiivse teguri moodustab *Lactobacillus bulgaricus*, mis valmistab piimasuhkrust 1,2—3,2% piimahapet ja vähe ebasoovitavaid kõrvalprodukte. Jogurti soovitatakse kui värskendavat ja toitvat ainet, mis ühtlasi reguleerib seedimiskorratusi (kõhukinnisust ja kõhulahtisust). Mida hapum on jogurt, seda suurem on tema kõhtulahtistav toime. Jogurdi valmistamisel kontsentreeritakse aurutamise teel piima emailitud nõus veevannis kuni $^1/_2$ või $^2/_3$ algmahuni, või selleks kasutatakse 80° C t°-s kuumutatud või keedetud täispiima. Kuni 45° C jahutatud kontsentreeritud või täispiimale lisandatakse „maiat" (kuivatatud jogurt) või *Lactobacillus bulgaricus*'e, *Thermobacter. jugurt*'i ja *Strept. thermophilus*'e kultuuri ja hoitakse 42—45° C t°-s, kuni piim kalgendub (4—12 t., olenedes lisandatud bakterite hulgast). 42—45° C t°-s ei sigi ebasoovitavad bakterid (*Streptococcus lactis*), mis sageli pääsevad piima koos *Lactobacillus bulgaricus*'ega.

Keefiri valmistamiseks lisandatakse keedetud või pastöriseeritud piimale värskeid keefiriteri („pärmi") ja lastakse seista 15—18° C t°-s 8—12 tundi. Kuivanud teri leotatakse enne 5—6 t. leiges vees ja siis 4—5 korda 3—4 t. vältel soojas piimas, kuni nad täielikult tursuvad. Keefiriterad sisaldavad mitmesuguseid mikroobe. Keefiri valmistamise põhimõte seisab selles, et piimasuhkur käärib terades leiduvate pärmide (*Saccharomyces kefir* jt.) toimel etüülalkoholiks ja süsihappegaasiks ning mitmesuguste piimahappe bakterite (*Lactob. caucasicus* jt.) toimel piimahappeks (kombineeritud käärimine). Müügilolevates keefiriterades sageli ei leidu neid mikroobe, mis on tarvilikud mainitud käärimisteks. Keefir on toitev, söögiisu tõstev ja seedimist reguleeriv aine, mida soovitatakse haigustest paranejaile ja nõrkadele isikutele.

Kumõssi valmistatakse hobuse, eesli või kaameli piimast, kus suhkru käärimist alkoholis toimetab pärm *Torula kumys* ja piimahappeks laktobakterid (*L. bulgaricus* jt.). Peale selle toimub kumõssis mõnede valkainete lõhustumine proteolüütiliste ensüümide toimel. Käärida lastakse piima 1—7 p. vältel. Vana kumõss on alkoholirikkam kui keefir.

Piimahapekäärimist kasutatakse veel paljude teiste piimaproduktide, näit. juustu ja või valmistamisel.

Propioonhapekäärimist toimetavad mitmesugused propioonhappe bakterid, mis leiduvad piimas, juustus, aiamullas ja sõnnikus. Need on mitteliikuvad, ilma eosteta, grampositiivsed, želatiini mittesulatavad, katalaasi valmistavad fakultatiivsed anaeroobid. Kujult on nad kas kokkide sarnased (*Propionibacterium freudenreichii*), lüheldased pulgakesed (*Propionibacterium jensenii*) või pikad pulgad (*Bact. acidi propionici*). Kasvavad 30—37° C t°-s anaeroobselt järgmisil söötmeil: 50 g presspärmi hõõruda uhmris 100 $cm^3$ destilleeritud veega, siis lisandades viimast kuni 1000 $cm^3$ keeta Koch'i aparaadis 1 tund, lasta seista kõrges silindris külmas kohas, dekanteerida ja saadud ekstrakt kurnata; filtraadile lisandada destilleeritud vett kuni 2000 $cm^3$, siis lisandada 20 g peptooni ja 20 g *natr. lacticum*'i. Keeta 30 min. Koch'i aparaadis, neutraliseerida kuni pH 7,0—7,2; selitada kanamunavalguga, kurnata läbi paberi ja läbi Seitz'i selituskurna. Steriliseerida 105° C t°-s 40 min. Tahke söötmena kasutatakse pärmiekstraktagarit, millele lisandatakse 2% dekstroosi ja 2% *calc. carbonati*, pH 7,0. Kasvatada anaeroobselt 6—8 p. Propioonhape tekib mainitud mikroobide toimel piimahappest ja laktaatidest, glütseriinist, *acid. tartaricum*'ist jne. Glükoosist ja laktoosist tekib piimahapekäärimise ensüümi toimel alul piimahape ($C_3H_6O_3$), millest osa redutseerub propioonhappeks ($C_3H_6O_2$) ja osa oksüdeerub äädikhappeks ($C_2H_4O_2$), kusjuures vabaneb $CO_2$ ja $H_2O$. Propioonhapekäärimine leiab kasutamist peamiselt juustutööstuses.

Väga mitmesugused looduses laialt levinud seened, näit. *Aspergillus niger, Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum* jt. hapendavad oma ensüümide abil suhkru (glükoosi) oblikahappeks ($C_2H_2O_4$).

Glükoosi hapendamist sidrunhappeks ($C_6H_8O_7$) toimetavad seened *Citromyces*'e perekonnast (*Citromyces pfefferianus*) ja *Aspergillus niger*, kui söötmes on palju suhkrut ja vähe lämmastikaineid. Kriidi lisandamisel sidrunhapet sisaldavale kultuurile sadestub *calcium citricum*.

Kui pikakaelalisse pudelisse mahutatud steriliseeritud ja 70° C

jahutatud piimale lisandada aiamulda või kartulikoori, lasta seista 1 tund, jahutada kuni 35° C ja kasvatada, siis tekib lühema või pikema aja järel õlihapefermentatsioon, mille tagajärjel eraldub gaasi ja halba lõhna.

Õlihapefermentatsiooni all mõistetakse niisugust süsivesikute, alkoholide, piimahappe ja selle soolade lõhustumist, mille puhul tekivad õlihape, süsihappegaas, vesinik ja kõrvalproduktidena: metaan, äädik-, propioon- ning teised happed ja butüülalkohol.

Õlihapefermentatsioon toimub kõige kiiremini anaeroobselt 35° C t°-s. Selle fermentatsiooni esilekutsumiseks võib võtta 10% glükoosilahust, millesse asetatakse tükike mäda juustu. Lahuse põhja asetatakse kriiti. Samuti võib võtta 1—3% suhkrulahust, millele lisandatakse 0,1—0,2% peptooni, ja sellesse söötmesse külvatakse väike tükk sõnnikut. Õlihapefermentatsiooni mikroobe leidub palju piimas, juustus, inimese ja loomade sooltes, maapinnas, sõnnikus jne.

Õlihapefermentatsiooni mikroobe on mitu liiki. Liikumata õlihappemikroobest on tuntud *Clostridium perfringens*. Liikuvatest mikroobest on tuntud õlihapekäärijana *Clostridium butyricum*. Peale nende toimetavad roiskumist ja õlihapekäärimist *Clostridium lentoputrescens, Clostr. botulinum* jt.

Peaaegu iga õlihapefermentatsiooni mikroobiliik tekitab peale õlihappe hulga kõrvalprodukte, mis on iseloomulikud igale liigile. Need mikroobid on suurimad vaenlased piimasaaduste valmistamisel.

### Lõhnavate ainete tekkimine mikroobide toimel.

Paljude mikroobide kultuurid eraldavad spetsiifilist lõhna, mille abil võib sageli ära tunda kultiveeritavat mikroobi. Lõhnaga, mis on mõnel juhul äärmiselt vastik, teisel juhul aga aromaatiline ja meeldiv, võib täituda kogu ruum, kus viibivad kultuurid. Enamikul juhtudel on kultuuri lõhn vähemeeldiv, sest mikroobide toimel roiskuvad kultuuris valkained ja eralduvad lenduvad roiskumisproduktid. Näiteks *Serratia marcescens*'i kultuurid eraldavad hee-

ringa soolvee (trimetüülamiini) lõhna, *Bact. odorificans* lõhnab seisnud sõnnikust, *Gaffkya tetragena* kultuuri lõhn tuletab meelde vana liimi lõhna, *Salmonella foetida* kultuuri lõhn on vastikult lääge ja otse pööritavalt mõjuv, mis oleneb nähtavasti väävliühendeist. Sääraseid näiteid võib leida hulgana.

Teisest küljest peab mainima, et mikroobide hulgas on eriline grupp, mille esindajaid võib õigusega nimetada aromaatseiks mikroobeks. Nende kultuurid eraldavad liitestrite aroomi mitmesuguseis varjundeis, mis meenutavad maasikate, ananaste, õunte, pirnide jne. lõhna. Siia gruppi kuuluvad ka need mikroobid, mis annavad meeldiva lõhna mitmesugustele toiduainetele ja jookidele — piimale, juustule, võile, veinile, äädikale jne.

Aromaatseid mikroobe leidub võrdlemisi palju mullas, vees, heintel, piimas ja mõnel juhul ka inimese roojas. Aroomi tekkimine oleneb sellest, et kultuuris tekivad mikroobide toimel orgaanilised happed ja alkoholid, mis liitudes *in statu nascendi* annavad liitestrid (äädikhappe, õlihappe ja palderjanihappe estrid). Kasvades pikema aja vältel kunstlikes söötmeis, kaotab enamik mikroobe oma aroomitekitamise võime. On tuntud ka säärased mikroobid, millede kultuuris alul tekib meeldiv lõhn, mis selle vananedes kordkorralt muutub ja hiljemini hakkab eralduma vastik roiskumislõhn. Säärane muutlikkus takistab suurel määral aromaatsete mikroobide kasutamist peenelõhnaliste estrite saamiseks toiduainetes ja jookides; üksikutel liikidel aga on aroomi tekitamise funktsioon võrdlemisi püsiv.

Meeldiva lõhnaga mikroobe võib leida väga paljudes mikroobisugukonnis. Juba ammu tunti pärmseeni (*Mycoderma, Pichia* ja *Willia*), millede kultuurid lõhnasid liitestritest. Näiteks *Saccharomyces lactis* valmistab piimasuhkrust etüülalkoholi, äädikhapet ja vastavat liitestrit, mis annab võile mõnusa aroomi. Valmistades äädikat veinist, tekitavad äädikhapekäärimise bakterid mitmesuguseid aromaatseid aineid, mis annavad äädikale meeldiva lõhna. Samuti on tuntud, et piimahapekäärimise bakterid ja mõned teised mikroobiliigid annavad meeldiva lõhna piimale ja piimaproduktidele. Liitestreid tekitavad ka paljud hallitusseente liigid (*Penicillium aromaticum casei* jt.). Aromaatsete mikroobide hulgas leidub palju

sääraseid baktereid, mis põhjustavad valkude lõhustamist, kusjuures tekivad nähtavasti väga mitmesugused valkainete päritoluga aromaatsed ained. Uuemal ajal on köitnud viimaste mikroobide grupp (*Flavobacterium aromaticum, Bac. crassus aromaticus, Bac. odorus, Flavobact. esteroaromaticum* jt.) üldisemat tähelepanu, sest nende bioloogilise tegevusega seletatakse osalt piima ja piimaproduktide (hapupiim, juust jne.) meeldiva lõhna tekkimist, samuti ka veinibuketi tekkimise põhjust.

Kui kultuur kaotab aroomitekitamise võime, siis on sageli võimalik seda tagasi saada, kasvatades mikroobi, vastavalt tema endisele aroomile, maasika-, ananase-, õunapuu- jne. lehtede keediseis.

## VIII peatükk.

## Ainete ringimisprotsess.

### Nitrifikatsioon.

Ammoniaak ja ammooniumsoolad, mis tekivad valgu fermentatsiooniprotsesside tagajärjel, lahustuvad maapinna vees, kus nad mõnesuguste mikroobide toimel hapenduvad salpeetris- ja salpeeterhappeks. Säärast ammooniumsoolade hapendumist maapinnas toimetavad nitrifitseerijad mikroobid ja hapendumisprotsessi ennast nimetatakse nitrifikatsiooniks. Sel teel tekivad salpeeterhappesoolad, milledest taimed lämmastikku sarnastavad valgu sünteesiks.

Schloesing ja Müntz täitsid 1 meetri pikkuse klaastoru mustmullaga (väetatud põllumullaga), mille ülemisest otsast nad ammooniumsulfaadi-lahust sisse valasid ja alumisest otsast välja jooksvast vedelikust ammooniumnitraati leidsid. Kui aga mulda enne steriliseerida 100—110° C t°-s või seda impregneerida kloroformiga, siis lähevad ammooniumsulfaadid läbi mulla ilma nitrifikatsioonita. Sellest järgneb, et nitrifikatsiooni põhjustab elus organism, mis kuumuse ja kloroformi toimel sureb.

1889. a. leidis Winogradski, et nitrifikatsiooni tekitavad isesugused mikroobid, mis söötmeks ainult mineraalaineid tarvitavad, kuna orgaanilised ained nende kasvu takistavad. Nende söötmeks sobib järgmine lahus: *ammon. sulfur.* 2 g + *natr. chlorat.* 2 g + *kal. phosphor.* 1 g + *magnes. sulfur.* 0,5 g + *ferr. sulfur. oxydul.* 0,4 g + *aq. destill.* 1000 $cm^3$. Agar-agar kõlbab nende mikroobide söötme aluseks ainult siis, kui roiskumismikroobide abil temas viibiv orgaaniline aine hävitada. Ammooniumsoolade hapendumist toimetavad kahesugused mikroobid. Ühed mikroobid *(nitrosobacteria)* hapendavad neid sooli lämmastikushappe-sooladeks (nitrititeks), teised *(nitrobacteria)* hapendavad nitriteid lämmastikhappe-sooladeks (nitraatideks). Nende protsesside käik väljendub valemites järgmiselt:

I faas: $(NH_4)_2CO_3 + 3O_2 = 2HNO_2 + CO_2 + 3H_2O + 148$ calor.
II faas: $2KNO_2 + O_2 = 2KNO_3 + 22$ calor.

Nitritibaktereid leidub palju maapinnas. Nitrifikatsioon toimub kõige paremini rõskes, leelisese reaktsiooniga ja kündmise abil tuulutatud maapinnas (aeratsioon). Oma tegevust avaldavad nad nitritifermendi abil. Praegusel ajal tuntud nitritibaktereid võiks liigitada järgmiselt:

1. *Nitrosomonas:*
   a) *Nitrosomonas europaea* — lühike eosteta pulgake, liigub ühe viburiga.
   b) *Nitrosomonas javanensis* — väikesed kokid, ülipika viburiga.
2. *Nitrosococcus* — mitteliikuvad kokid.

Glükoos, peptoon ja teised orgaanilised ained on neile kahjulikud, samuti kui karboolhape teistele mikroobidele. Mustmulla ja kuivanud puulehtede ekstrakt stimuleerib nende kasvu, kuid ainult tahkes söötmes.

Nitraadibakterid on lühikesed, mitteliikuvad, ilma eosteta pulgakesed; neid leidub maapinnas. Nitraadibakter on vähem tundlik orgaanilistele ainetele kui nitritibakter ja harjub kor-

duvate edasikülvamiste tagajärjel nendega ära. Ammoniaak ja ammooniumisoolad takistavad nitraadibakterite kasvu, kuid ei takista nende hapendamisfunktsiooni; nitritid on nende kasvuks tarvilikud.

Winogradski avastis näitas, et on olemas mikroorganisme, mis valmistavad valku kemiosünteesi abil mineraalaineist, ilma et nad klorofülli abi tarvitaksid, nagu kõrgemad taimed. Teiseks selgitavad ta uurimised ülemineku-võimalust bakterite, roheliste bakterite ja taimeriigi vahel.

Peale mainitud nitrifitseerijate mikroobide on kirjeldatud veel *Bact. azotofluorescens*'it, mis tarvitab $NH_3$ lämmastikku valgu sünteesiks, ja *Bact. nitrator*'it, mis hapendab $NH_3$ otseselt salpeeterhappeks ($HNO_3$).

Nitrifikatsiooniprotsessid toimuvad peamiselt mullas. Arvatakse, et suured salpeetrilademed looduses formeeruvad osalt samade protsesside tagajärjel. Nitrifikatsiooniprotsesse kasutatakse kui bioloogilist faktorit reovee puhastamiseks, mis toimub kahes faasis: 1) reovee kogumise kaevudes toimub anaeroobne fermentatsioon, kus mikroobide fermendid ründavad orgaanilisi aineid ja kutsuvad esile nende dekompositsiooni; protsess lõpeb ammooniumisoolade tekkimisega; 2) reovesi lastakse tiikidesse, kus luuakse kunstlikult vee kontakt õhuga; sellega algab aeroobne fermentatsioon, mille tagajärjel nitrifitseerijad bakterid transformeerivad ammooniumisoolad nitraatideks.

Nitrifitseerijad mikroobid võivad elada ja sigida ka kaljumägedel, kus nad valmistavad lämmastikhapet, mis pika aja jooksul purustab kaljumäed.

## Denitrifikatsioon.

Merevees, jõevees, maapinnas, sõnnikus ja roojas leidub mikroobe, mis taandavad (redutseerivad) nitraate nitrititeks, ammoniaagiks ja vabaks lämmastikuks ($N_2$). Seesugust mikroobide tegevust nimetatakse denitrifikatsiooniks. Denitrifitseerijad

mikroobid teotsevad mullas, kus küllalt leidub orgaanilist ainet ja kus rõske, vähe tuulutatud maapind on hapnikuvaene. Sõnnikuga maapinna rikkalik väetamine suurendab denitrifikatsiooni.

Denitrifikatsiooniprotsessides võib tähele panna mikroobide etapilist tegevust. Paljud mikroobid taandavad nitraate nitrititeks, millega nende tegevus lõpeb (*Aerobacter cloacae, Escherichia coli, Flavobacterium aquatile, Actinomyces denitrificans, Penicillium glaucum* jt.). Säärast mikroobide omadust tarvitatakse mikrobioloogias nende diferentseerimise otstarbeks. Nitraate ja nitriteid taandavad ammoniaagiks ($NH_3$) *Serratia marcescens, Staphylococcus citreus, Eberthella typhosa, Bac. anthracis* jt. Ülaltähendatud mikroobid tarvitavad toiduks orgaanilist ainet, nagu peptooni ja amiinohappeid, kuna spetsiifilised denitrifikatsiooni mikroobid, mis taandavad nitraate ja nitriteid lämmastik-alahapendiks ning vabaks lämmastikuks, valku sünteesivad mineraalsooladest (*Pseudomonas aeruginosa, Flavobacterium denitrificans* jt.). Denitrifitseerijad mikroobid valmistavad suurel hulgal ensüüm peroksüdaasi.

Denitrifikatsiooniprotsessi uurimiseks lisandatakse harilikule lihapuljongile 0,25% naatriumnitraati, valatakse käärimiskolbi, külvatakse uuritavad mikroobid sisse ja külv mahutatakse termostaati 37° C soojusse. Griess'i reaktiiviga määratakse nitritite viibimine kultuuris, kuna sel teel tekkinud gaasi analüüsiks lisatakse kultuurile juurde 1) KOH; kui see gaasi ei absorbeeri, siis ei ole $CO_2$; 2) KOH + *acid. pyrogallicum;* kui gaasi hulk ei kahane, siis ei sisaldanud ta $O_2$; 3) kui ta ei põle, siis puudub seal $H_2$ ja $CH_4$. Järelejäänud gaasi analüüsitakse eriliselt $N_2$ suhtes.

Denitrifitseerijate mikroobide tähtsus on suur ainete ringimise suures protsessis. Denitrifikatsiooniprotsessid on maapinnas harilikult tasakaalus nitrifikatsiooniprotsessidega, kuid teatavail tingimusil võivad esimesed prevaleerida, mis pole põllumehele soovitav. Et denitrifikatsiooniprotsessid, mis lõhustavad taimedele tarvilikke salpeetrisoolasid, kahjulikuks ei saaks põllumehele, peab maapinda tuulutama kündmise abil. Samuti peab hoiduma maapinda väetamast ühel ajal sõnnikuga ja salpeetrisooladega, sest vastasel korral langevad viimased denitrifikatsiooni ohvriks.

## Vaba lämmastiku sidumine.

Mitmesuguste bioloogiliste protsesside puhul vabaneb hulk lämmastikku ($N_2$), mis õhku lendub. Me teame, et iga aasta viiakse ära ühelt ja samalt maapinnaühikult heintega või maharaiutud puudega suur hulk seotud lämmastikku. Sellele vaatamata ei vähene vastavalt lõikus, ehkki maapinda kunstlikult ei väetata. Seesugust lämmastikku sisaldavate ainete rikkust maapinnas seletatakse mitmesuguste mikroobide tegevusega, sest maapind ei suuda ise siduda õhulämmastikku. Ühed säärastest mikroobidest elavad vabalt maapinnas, teised elavad sümbioosis kaunviljaliste taimedega (herned, oad, vikk, ristikhein jne.), kasvades nende juuremügarates.

Vabalt maapinnas viibivaist lämmastikusarnastajaist mikroobidest on tuttav *Clostridium pasteurianum*. See on kaunis suur eostega pulgakujuline mikroob, mis kasvab kiiresti anaeroobseis tingimusis ja esineb paljude variatsioonidena. Tema füsioloogilised funktsioonid on väga muutlikud ja sõltuvad suurel määral söötmest, millel ta kasvab. Kunstlikel söötmeil kahaneb tema $N_2$ fikseerimise jõud.

Mullas toimetavad vaba lämmastiku sarnastamist aeroobsed mikroobid — azotobakterid. Need mikroobid kasvavad söötmeil, mis sisaldavad väikesel mõõdul seotud lämmastikku. Õhulämmastikku sarnastavad nad ainult orgaaniliste ainete (süsivesikute, alkoholide, orgaaniliste hapete) kaastoimel. Azotobakteritest on tuntuim *Azotobacter chroococcum*, morfoloogiliselt lühikesed, paksud pulgad, või piklikud munakujulised; nad on ilma eosteta, gram-negatiivsed, noorelt otsaviburi abil kiiresti liikuvad, vananedes mitteliikuvad ja võrdlemisi paksu kihnuga ümbritsetud. Esemeklaasile fikseeritult on sobiv neid värvida karboolerütrosiiniga, järelvärvida 15—30 sek. hästi lahjendatud gentsiaanavioletiga ja loputada kiiresti veega.

Kultiveerimiseks võetakse 50 $cm^3$ vett, lisatakse 1—2% manniiti ja 0,2—0,3% *natr. phosphoricum*'i; steriliseerida 30 min. 100° C soojuses. Külvata juurde mulda ja kasvatada 30° C t°-s. Mõne päeva järel ilmub söötme pinnal pruunikas azotobakteritest koos-

nev kelmeke. Azotobakterite isoleerimiseks on väga sobiv järgmine silikaatide sööde: Erlenmeyeri kolbi võetakse 200 $cm^3$ 10—15% *kal. silicicum purum*'i vesilahust ja lisatakse loksutades büretist 4% *acid. hydrochloricum*'i niipalju, et segu seistes 2—3 min. muutuks süldiks (enne proovida väiksema hulgaga). Segu valatakse Petri kaussidesse, 30—35 $cm^3$ igaühte, ja lastakse seista, kuni see muutub hästi vibreeruvaks süldiks. Kausid asetatakse 24 t. kraanivee alla ja siis veel 24 t. 2—3 korda vahetatavasse destilleeritud vette, kuni vesi ei anna *argent. nitric.* lahusega kloorireaktsiooni. Saadud söötme impregneerimiseks võetakse 2 $cm^3$ järgmist lahust: 100 g *aq. destill.* + 0,5 g *kal. monophosphoric.* + 0,3 g *magnes. sulfuric.* + 0,3 g *natr. chlorat.* + jäljed *ferr. sulfuric.* + jäljed *mangan. sulfuric.*, millele lisandatakse 0,5 g manniiti, 0,1—0,2 g $CaCO_3$, 2 tilka 2% KOH ja pisut destilleeritud vett, keedetakse mõni minut, valatakse kuumalt silikaatsüldi pinnale ja vesi aurutatakse ära mõne tunni jooksul 37° C $t^0$-s termostaadis. Söötme pinnale külvatakse aasaga või läbi traatsõela mulda ja kasvatatakse rõskes ruumis (kupli all) 28—30° C $t^0$-s. 48—72 t. järel ilmuvad limased pesad, mis hiljemini muutuvad pruuniks.

Mõlemad mainitud mikroobid (*Cl. pasteurianum* ja *Azotobacter*) seovad õhulämmastikku, muutes seda ammoniaagiks, nitritiks ja nitraadiks. Kui maapinna vesinikuioonide kontsentratsioon on suurem kui pH 6,0 ja kui seal leidub suuremal määral nitraate, siis jääb seisma õhulämmastiku sidumine azotobakterite poolt.

Peale tähendatud mikroobide on veel palju teisi, mis vabalt elavad ja õhu $N_2$ fikseerivad (*Bacillus polymyxa, Bac. azohpile, Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum* jne.). Et maapinda nende mikroobide abil rikastada seotud lämmastikuga, selleks peab teda korduva kündmisega tuulutama ja süsivesikuid juurde lisama, mis nende mikroobide tegevust kiirendavad.

Liblikõieliste (*Leguminosae*) sugukonda kuuluvad taimed rikastavad maapinda seotud lämmastikuga. Õhulämmastiku fikseerimist toimetavad mikroobid, mis sigivad ja kasvavad isesugustes mügarates nimetatud taimede juurtel. Selle mikroobiliigi esindajana mainime *Rhizobium leguminosarum*'i ehk *Bacillus radicicola*'t. Taimejuure küljest võetud hernetera- või kirsikivisuurustest müga-

ratest võib isoleerida selle mikroobi puhta kultuuri järgmisel kunstlikul söötmel: 0,2% kuiva ekstrakti, valmistatud ühe liblikõieliste sugukonda kuuluva taime juurest, + 7% želatiini + 0,25% asparagiini + 5% roosuhkrut.

*Bacillus radicicola* nime alla asetatakse palju variatsioone ja mikroobiliike. Kujult lühikesed, liikuvad, pulgataolised, või mitteliikuvad kokid. Kultuuris esinevad väga mitmesugused vormid, olenedes nende arenemisastmest; gram-negatiivsed; vahel võivad olla kihnuga. Nende sümbiootiline elu taimejuure küljes on lühidalt järgmine: mikroobid tungivad juureniidikeste kaudu koesse ja tekitavad juuremügaraid. Alul tarvitavad mikroobid toiduks taimeraku orgaanilist ainet ja sigivad kiiresti. Hiljemini hakkavad nad ise suurel hulgal valmistama lämmastikku sisaldavat orgaanilist ainet ja nitraate, tarvitades selleks õhulämmastikku. Seetõttu tekivad taime juuremügarates lämmastikku sisaldavad limaolluse-tagavarad. Imedes endasse mikroobide valmistatud limaollust ja surnud mikroobide orgaanilist ainet, saavad taimed oma kaotuse mitmevõrra tagasi.

Silmas pidades seesugust mikroobide omadust, katsuti maapinda kunstlikult väetada nende mikroobide puhaskultuuride seguga. Selleks on soovitatud palju preparaate: nitragiini, azotogeeni, nitrobakteriini ja pookmulda, s. o. mulda niisuguselt väljalt, kus kaunviljad andsid hea lõikuse. Tuleb aga silmas pidada, et mikroobid nendes preparaatides oleksid eluvõimelised.

### Käärimisel tekkivate lämmastikuvabade ainete saatus.

Ülalpool kuulsime, et käärimisprotsessidel tekivad mitmesugused alkoholid. Nende lõhustamist toimetavad mikroobid oma fermentidega. Suures kontsentratsioonis on üheaatomilised alkoholid (metüül-, etüül-, propüül- ja butüülalkohol) mikroobidele mürgised, kuid nõrgad lahused võivad olla neile heaks toiteaineks.

Metüülalkoholi fermentatsiooni toimetab *Bact. methylicum*, etüülalkoholi fermentatsiooni kutsuvad esile äädikhappe mikroobid, hallitusseened, *Mycoderma* jne. Äädikhappe mikroobid oksüdeerivad propüülalkoholi pro-

pioonhappeks, butüülalkoholi võihappeks ja manniidi levuloosiks. *Bact. aethaceticum* kutsub esile glütseriini fermentatsiooni, mille tagajärjel tekib etüülalkohol; *Bact. orthobuthylicum*'i toimel muutub glütseriin happeks.

Orgaaniliste hapete lõhustumist põhjustavad mitmesugused bakterid, pärmid, aktinomütseedid ja hallitusseened aeroobseis ja anaeroobseis tingimusis. Sipelgahape ja selle soolad lõhustuvad *Bact. methylicum*'i ja *Bact. formicicum*'i toimel kaltsiumkarbonaadiks, süsihappegaasiks ja vesinikuks. Mõned mikroobid kutsuvad esile sipelgahappe-soolades fermentatsiooni, kusjuures tekib metaan ($CH_4$).

Äädikhape ja teised happed lõhustuvad äädikhappe mikroobide, hallitusseente jne. toimel. Õunahappe- ja viinahappesoolad on paljudele mikroobidele heaks toiteaineks. Aromaatilised happed on kõlblikud kasvuks ainult üksikutele mikroobiliikidele.

Metaani ja vesiniku, mis tekivad mitmesuguste fermentatsioonide tagajärjel, hapendumist põhjustavad paljud mikroobid. Metaani hapendavad süsihappegaasiks ja veeks *Methanomonas methanica, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas aeruginosa* jt. Vesinikku hapendavad veeks *Carboxydomonas oligocarbophila* ja *Hydrogenomonas pantotropha.*

Nagu teada, tekib põlemise aegu mürgist vingugaasi (CO) ja suurel hulgal söetolmu suitsu näol. Neid produkte võivad hapendada süsihappegaasiks ($CO_2$) mitmesugused mikroobid, millega saavutatakse õhu ja maapinna puhastamist.

**Mikroobide toime väävli-, fosfori- ja rauaühenditesse.**

Väävel (S) esineb looduses lademetena puhtal kujul ja mitmesuguste ühenditena (sulfitid, sulfaadid, tiosulfaadid, anhüdriidid ja väävelvesinik). Peale selle tekib suurel hulgal väävelvesinikku väävlit sisaldavate orgaaniliste ainete lõhustumisel (roiskumisel) mikroobide toimel. Mikroobid toimivad väävliühenditesse kahesuguselt:

1) Desulfuratsioon on protsess, kus mikroobid taan-

davad mitmesuguseid väävli- ja väävlishappeühendeid (sulfiteid, sulfaate ja tiosulfaate) väävelvesinikuks ($H_2S$) või kuni vaba väävlini. Säärast käärimist põhjustavad mikroobid, mis esinevad merevees, reovees ja mullas (*Spirillum desulfuricans* ja *Spirillum aestuarii*). Väävelvesiniku tekkimine (väävli hüdrogenisatsioon) sulfaatidest ja sulfititest toimub roiskumise puhul metaani ja vesiniku toimel *in statu nascendi*. Suurel hulgal tekib väävelvesinikku ookeanide, merede, järvede ja limaanide põhjas, kus roiskuvad surnud veeloomad, taimed ja teised orgaanilised ained roiskumisbakterite toimel (*Proteus vulgaris, Bac. mycoides, Actinomyces albus* jt.). Mainitud protsessid etendavad tähtsat osa kleepuva ja limase muda — r a v i m u d a — tekkimisel veekogude põhjas.

2) S u l f u r a t s i o o n on protsess, kus mitmesugused väävlibakterid hapendavad väävelvesiniku ja väävli kuni väävelhappeni. Alul hapendub $H_2S$ väävliks ja veeks. Tekkinud väävel ladestub tilkadena v ä ä v l i b a k t e r i t e s, kus ta hapendub edasi väävelhappeks. Väävlibakterid, mida leidub igal pool vees, kus toimub roiskumine ja $H_2S$ eraldumine, on kahte liiki: värvuseta, sõõrjad, niidi- või spiraalikujulised ja väävlitilku sisaldavad mikroobid (*Beggiatoa, Thioploca, Thiothrix, Thiospirillum* jt.); purpurbakterid, mis on kujult mitmesugused ja esinevad väävelvesinikuga rikastatud vees.

$H_2S$ hapendumisel tekib väävelhape ja mitmesugused väävelhappe-soolad. Viimased on kõlblikud toiduks loomadele ja taimedele.

F o s f o r (P) moodustab paljude valkainete molekuli olulise osa (nukleiin jt.). Fosforit sisaldavad liitorgaanilised ühendid roiskuvad maapinnas ja mineraliseeruvad seal täielikult biokeemiliste protsesside toimel. Roiskumise puhul vabaneb fosforhape, mis annab maapinnas raskelt lahustuvad fosfaadid (Ca, Mg, Fe). Viimaste lahustamiseks vajalikku hapet valmistavad ja eritavad kõrgemate taimede juured ja väga mitmesugused hapet valmistavad mikroobid (*Bac. mycoides*, nitrifitseerijad bakterid, väävlibakterid jt.).

R a u d (Fe) ja rauasoolad on looduses laialt levinud. Nad

põhjustavad savi, liiva, mulla ja soise vee värvust ja moodustavad mitmesuguste valkude olulise osa. Ilma rauata ei teki klorofülli ja hemoglobiini; rauapuudus pidurdab loomade, taimede ja mikroobide normaalset kasvu. Raua ringimist looduses toimetavad erilised r a u a b a k t e r i d, millede rakud võtavad enesesse rauaalahapendi-soolasid ja muudavad neid seal rauahapendi-sooladeks. Rauasoolad sadestuvad mikroobi kihnus rauahüdraathapendi näol, põhjustades rauabakteri pruunikat värvust. Kujult niitjad rauabakterid esinevad peamiselt soodes, tiikides, järvedes ja rauavee allikais (*Leptothrix ochracea, Clonothrix fusca, Gallionella ferruginea* jt.).

Väävlit, fosforit ja rauda sisaldavad orgaanilised ained roiskuvad ja mineraliseeruvad mikroobide toimel. Seejuures tekkinud sooli transformeerivad spetsiifilised mikroobid kõlblikuks uue elusa mateeria sünteesiks. Kõige selle suure bioloogilise protsessi kohta kehtib seadus: mateeria ei hävi, vaid muudab ainult kuju ja paika.

## Vähem uuritud ensüümid ja ained.

Ülalpool kuulsime, et elusate mikroobide kultuuris toimuvad mitmesuguste ainete oksüdeerumise ja redutseerumise protsessid. Kuid teisest küljest võib tähele panna, et samad protsessid võivad toimuda mitte ainult elusate, vaid ka surnud mikroobide ja mikroobest vabastatud filtraatide kaasabil. Seesugusel korral on tegemist spetsiifiliste ensüümidega: oksüdaasiga ja reduktaasiga.

O k s ü d a a s seob kergelt hapenduvaid orgaanilisi aineid vaba hapnikuga (türosiin, kinoon jt.). Taimede juures on laiemalt tuntud t ü r o s i n a a s, mis hapendab türosiini. Oksüdaasi leidub mõningate hallitusseente ja *Actinomyces chromogenes*'i kultuurides. Sellest fermendist oleneb sageli mõnede söötmete värvuse muutumine mikroobi kultiveerimisel.

R e d u k t a a s, mida leidub peaaegu kõikides taimerakkudes ja enamikus loomarakkudes, toimetab ainete taandamist. Liivaga puruks hõõrutud mikroobest saadud vesiekstrakti lisandamine kergelt redutseeruvatele lahustele (metüleensinine, sinine indigo, telluur jt.), mida kaitstakse vaba hapniku juurdepääsemisest, muu-

dab lahuse värvuse lühema või pikema aja vältel, kui ekstraktis leidub reduktaasi.

Katalaasi, mis lahutab vesinikülihapendi ($H_2O_2$) kiiresti veeks ja hapnikuks, leidub paljudes mikroobikultuurides suuremal või väiksemal määral. Teda leidub rohkem vanades kultuurides. Ta on vähe püsiv ja kaotab oma toime 60° C t°-s. Katalaasiproovi, mis on väga kasulik mikroobide diferentsimisel, võib toimetada järgmiselt: täiesti puhtale esemeklaasile võetakse samuti puhta klaaspulgakesega (mitte plaatina ega raud) väike osa uuritavat kultuuri, lastakse kuivada ja lisatakse juurde klaaspipetiga 1 tilk 3% $H_2O_2$ lahust. Viibib kultuuris katalaasi, siis eralduvad kiiresti gaasimullikesed. Katalaasi leidub peaaegu alati *Pseudomonas aeruginosa* kultuuris.

Mikroobide vitamiinid. Juba ammu pandi tähele, et mitmesugused mikroobid valmistavad kasvu jõutavat (stimuleerivat) ainet (limabakterid, eostega aeroobid, happeresistentsed bakterid jt.). Damon konstateeris, et vitamiinidevabal söötmel kasvatatud mittepatogeensete happeresistentsete mikroobide lisandamine kuivatatud pulbrina noorte rottide toidule suutis asendada toidust kõrvaldatud vitamiine. Mainitud mikroobirakkudes leiduv kasvu jõutav aine osutus analoogiliseks B-vitamiiniga. Ei ole veel teada, millest mikroobid valmistavad seda vitamiini. Üldiselt on teada, et paljud mikroobid valmistavad rasvainet tärklisest ja proteiine anorgaanilistest ammooniumisooladest. Siis paistab küllalt tõelisena, et nad ka vitamiinisarnaseid aineid suudavad valmistada.

## IX peatükk.

## Mikroobide sümbioos ja parasitism.

Looduses elavad koos harilikult mitut liiki mikroobid, kus nad koos töötades moodustavad bioloogilisi assotsiatsioone. Ühise tegevuse korral võivad iga mikroobiliigi bioloogilised funktsioonid olla palju energilisemad ja spetsiifilisemad,

kui üksikult puhaskultuuris. De-Bary nimetas niisugust erinevate oleste kooselu ehk assotsiatsiooni sümbioosiks.

Me kuulsime ülalpool, et ammoniaagi hapendamine lämmastikhappeni on võimalik ainult nitriti- ja nitraadibakterite ühisel toimel. Piimahapekäärimiste puhul on peaaegu alati tegevad mitu mikroobiliiki. *Bac. acidi propionici* valmistab piimasuhkrut sisaldavas söötmes 6—7 korda rohkem propioonhapet, kui söötmes kasvab samal ajal *Streptococcus lactis* või *Lactobacillus casei* (Sherman ja Shaw).

Sageli võib mikroobide sümbioosi puhul tähele panna funktsionaalseid muutusi ja uute funktsioonide ilmumist sümbiontidel. Me teame, et *Escher. coli* valmistab gaasi, kasvades laktoospuljongis, kuid ta ei valmista gaasi säärases laktoospuljongis, milles kasvas varemini 3—4 p. vältel *Salmon. schottmuelleri*. Kui söötmes, mis sisaldab maltoosi, manniiti või sorbiiti, kasvavad koos *Eberth. typhosa* ja *Proteus*, või *Shigella paradysenteriae* ja *Proteus*, siis tekivad mainitud ainete fermentatsiooni tagajärjel hape ja gaas, kuna sama koostisega söötmes lahus kasvades ei teki gaasi (Castellani).

Sümbioosi puhul võivad sümbiondid kasvu vastastikku või ühepoolselt soodustada. Seda nähtu demonstreerib anaeroobide ja aeroobide kasv ühes ja samas kultuuris. Anaeroobid kasvavad söötme sügavamas osas, kuna aeroobid kasvavad pinnapoolses osas ja tarvitavad hapniku ära, nii et see esimestele ligi ei pääse. Üldiselt on tuntud nähtused, kus ühed mikroobid teistele elamiseks tarvilikku ainet valmistavad. Näiteks pärmseened valmistavad suhkrust alkoholi, mis äädikhappe mikroobidele toiduks läheb (metabioos).

Vastastikku soodustav sümbioos kujutab vähepüsivat tasakaalu, mis katkeb kergesti ümbruse mõjude muutuse tagajärjel.

Mikroobide assotsiatsioonides võib sageli jälgida antagonistlikke nähtusi, kus mikroobid (sümbiondid) vastastikku või ühepoolselt pidurdavad kasvu. Külvates želatiinsöötme pinnale mitmesuguseid mikroobe üksteisele ligidal seisvate viirudena, võib näha, et mõned mikroobid kasvavad teiste lähikonnas takistatult

või ei kasva sugugi. Kui me külvame vedelasse söötmesse mitut liiki mikroobe, siis leiame sageli, et mõni liik kaob sealt aja jooksul hoopis ära. On teada, et *Lactobacillus bulgaricus* valmistab kasvades suhkursöötmes või sooltes suurel hulgal piimahapet, mis takistab paljude teiste mikroobide kasvu (antibioos). Äädikhappe bakter *Acetobacter aceti* pidurdab *Escherichia coli* kasvu ühes ja samas kultuuris. *B. anthracis* kasvab halvasti koos *Pseudomonas aeruginosa*'ga.

Mikroobide antagonistlikku tegevust võib jälgida ka infitseeritud looma organismis. Näiteks siberi katku *(anthrax)* haigeid loomi võib sageli päästa surmast, infitseerides neid kunstlikult *Streptococcus pyogenes*'ega. Mikroobide antagonistlik toime oleneb suurel määral mikroobiraku substantsidest. Katsed näitavad, et alkoholiga ja eetriga ekstraheeritud *Pseudomonas aeruginosa* ja *Escher. coli* lipoidid surmavad *in vitro* 3—6 t. vältel tõuvõõraid gram-positiivseid ja -negatiivseid baktereid. Schiller leidis, et pärmseened, kasvades koos mitmesuguste bakteritega lämmastikainetest vabas, kuid suhkrut sisaldavas söötmes, võivad kasutada oma toiduks elusaid baktereid (nende hulgas ka *Mycobact. tuberculosis)*. Lämmastikku sisaldava toiteaine puudumine (nälg) sunnib pärmseeni kasutama elusaid baktereid, mida nad seedivad erilise ensüümi abil, mis eritub pärmirakkudest ja on võimeline sulatama mesilaste vaha (sunnitud antagonism). Kasvades koos vedelas söötmes, võivad mõned mikroobid *(B. subtilis, B. mycoides* jt.) hävitada teist liiki mikroobe bakteriolüüsi abil. Juustust eraldatud *Tyrothrix*'i liigid sulatavad kauemat aega kestva kooskasvu korral väga mitmesuguseid mikroobe *(Vibrio comma, Eberth. typhosa, Escher. coli, Proteus* ja *Staphylococcus)*. Sääraste lüsobakterite toime on kõige tugevam, kui nad kasvavad kilena söötme pinnal.

Parasitismiks nimetatakse niisugust organismide kooselu, kus üks oles kasvab ja elab teise olese kulul, tarvitades toiduks selle keha, mille tagajärjel teine oles nõrgeneb või koguni sureb. Seesugused söödikud on kõik haigust-tekitavad (patogeensed) mikroobid inimese ja loomade organismis. Praktiliselt on tähtis tunda mikroobide kooselu tingimusi, sest üksikult on

mõned mikroobid kahjuta olesed (saprofüüdid), kuna nad koos teistega rasket infektsiooni võivad tekitada (parasiidid). Sageli omandavad vähepatogeensed mikroobid teistega koos kasvades suure virulentsuse.

X peatükk.

## Mikroobide toksiinid.

Mitmed mikroobid valmistavad spetsiifilisi mürkaineid ehk toksiine, mis inimesele või loomadele süstitult kutsuvad esile iseloomulikke vigastusi nende elundeis ja kudedes. Mikroobide toksiinid on spetsiifilised üksikule mikroobiliigile. Mikroobide toksiinid erinevad Ehrlich'i arvates keemilistest mürkidest järgmiste iseärasustega: 1) mikroobide toksiinid tekitavad organismis antitoksiine; 2) nende toime organismisse avaldub pärast teatavat lõimetusjärku (inkubatsiooni); 3) neil on silmapaistev tundlikkus soojuse (60—70° C) ja keemiliste ainete (hapete, leeliste, hapniku) suhtes.

Mikroobide toksiine, mida ei ole veel õnnestunud saada puhtas olekus, võiks liigitada järgmiselt.

1) Ektotoksiinid. Christmas, Roux ja Yersin olid esimesed, kes leidsid, et mõnede mikroobide puljongkultuuri filtraat sisaldab aineid, mis avaldavad mürgist toimet loomade organismisse. Fränkel ja Brieger nimetasid neid mürgiseid aineid toksalbumiinideks ehk „mürgisteks valkudeks".

Ektotoksiin (resp. eksotoksiin) vabaneb elusast mikroobirakust ja leidub vabana kultuuris. Ektotoksiinide saamiseks külvatakse vastavasse vedelasse söötmesse mikroobid, lastakse kasvada pikema aja jooksul (5—14 päeva) ja kurnatakse läbi mikroobide filtri. Filtraati võib aurutada vaakuumaparaadis (45° C) toksiini kontsentratsiooni tõstmiseks. Sadestades toksiini alkoholiga või ammooniumsulfaadiga ja eraldades ammooniumsulfaati toksiinist dialüüsi abil võib saada toksiini võrdlemisi puhtal kujul. Ekto-

toksiini säilitamiseks pikema aja vältel kuivatatakse filtraat kiiresti vaakuumis ja hoitakse kuivana õhuvabas ampullis. Ektotoksiinid lahustuvad vees ja glütseriinis ega difundeeru suuremalt osalt läbi orgaaniliste membraanide. Vesilahuses nad kaotavad 50—60° C t°-s oma mürgise toime 1—2 t. vältel. Lisandame toksiini vesilahusele väikesel hulgal hapet, leelist, joodilahust, kloori, formaliini, antipüriini, kolesteriini või neuriini, siis kaotavad nad oma mürgise toime. Hapnik ja valgus avaldavad nendesse sama toimet. Täielikult kuiv toksiin kannatab pikema aja jooksul 100° C t°. Sarnaseid omadusi leiame ensüümidel.

Seedimiskanali kaudu sissevõetult ei avalda suurem osa ektotoksiine mürgist toimet organismisse. Ektotoksiinid toimivad surmavalt väikeses annuses, kui nad otseselt verre pääsevad; niisama kiiresti toimivad nad kehaõõnte kaudu, väiksem on nende toime, kui neid naha alla süstitakse.

Ektotoksiinidest on ligemalt tuntud: *Clostridium tetani, Clostr. botulinum, Corynebact. diphtheriae* ja *Shigella dysenteriae* toksiinid. Nende ektotoksiinide tekkimine oleneb: 1) mikroobi iseloomust; 2) söötme koosseisust ja selle reaktsioonist; 3) kasvu temperatuurist ja kestusest.

Ektotoksiinidele on iseloomulik nende elektiivne afiinsus ühele või teisele koele. Sellega on seletatav ektotoksiinide minimaalsete dooside surmav toime. Nii on tuntud, et teetanuse toksiin fikseerub peamiselt motoorsetele ergurakkudele. Nad halvavad nende rakkude tegevuse, millede normaalne funktsioon on organismi eluks esmajärgulise tähtsusega.

Ektotoksiinide toimivuse määramiseks (standardimiseks) süstitakse täpselt mõõdetud hulk toksilist filtraati vastava kaaluga tundlikule loomale ja määratakse see filtraadihulk, mis surmab looma teatava aja vältel. Seda toksiinihulka nimetatakse minimaalseks surmavaks doosiks (*dosis letalis minima* ehk lühendatud D. L. M.). Näiteks difteeriatoksiini minimaalseks surmavaks doosiks nimetatakse seda kõige väiksemat toksiinihulka, mis süstituna nahaalusi surmab 250 g raskuse merisea 96 tunni vältel. Teetanuse toksiini standardimisel kasuta-

takse harilikult valgeid hiiri kui odavamaid ja sellele toksiinile väga tundlikke loomi. Säärast meetodit saab kasutada ainult värskete toksiinide toimivuse määramisel, kuna seismisel osa toksiini muutub toksoidiks, millel puudub toksiline toime, kuid on püsima jäänud loomi aktiivselt immuniseeriv toime. Nende toksiinide standardimist toimetatakse püsivate standarditud antitoksiliste seerumite abil, millest edaspidi kuuleme ligemalt.

2) Endotoksiinid on seotud elusate mikroobirakkudega ja vabanevad ainult siis, kui mikroobid surevad või kui kunstlikult esile kutsutakse mikroobide destruktsioon. Mõne mikroobi värskes kultuuris ei leidu toksiine, kuna vanade kultuuride filtraat loomadele süstitult väga mürgist toimet avaldab. Toksiinid vabanevad nähtavasti mikroobide autolüüsi tagajärjel.

Endotoksiini valmistavad paljud patogeensed mikroobid (*Vibrio comma, Eberthella typhosa, Escher. coli, Streptococcus pyogenes* jne.). Endotoksiini eraldamiseks pestakse uuritavaid mikroobe 0,85% NaCl-lahusega ja sadestatakse tsentrifuugimise teel. Saadud sademega toimitakse järgmiselt: 1) mikroobid hõõrutakse koos liivaga või ilma selleta puruks ja pressitakse mürgine vedelik välja; 2) mikroobe lastakse autolüüsuda 37° C t°-s mõne päeva jooksul; 3) mikroobe purustatakse keemiliste ainetega (leelistega, glütseriiniga, eetriga jne.); 4) mikroobe lastakse külmuda vedelas õhus ja sulatatakse, korrates seda mitu puhku; 5) mikroobidele lisandatakse proteolüütilist fermenti (trüpsiin), mis nad purustab ja endotoksiinid vabastab.

Endotoksiini tõestamiseks süstitakse tundlikkudele loomadele surmatud mikroobide suspensiooni, eeldades, et endotoksiin vabaneb bakteriolüüsi tagajärjel *in vivo*. Endotoksiinide süstimine ei kutsu esile spetsiifilise iseloomuga sümptoome ja nende surmav annus on märksa suurem ektotoksiini omast. Endotoksiinid on termostabiilsemad kui ektotoksiinid. Näiteks koolera endotoksiin hävib 1 t. vältel 80—100° C t°-s ja *Neisseria intracellularis*'e endotoksiin vajab selleks 120° C t° 1 t. vältel. Endotoksiinide aktiivne immuniseeriv toime on palju nõrgem ektotoksiini omast ja endotoksiinide süstimisel sageli ei ole võimalik saada antiendotoksilist seerumit. Korduvate süstimiste abil on võimalik saada seerumit, mis

neutraliseerib vaid vähese hulga endotoksiini surmavaid doose (D. L. M.).

3) Bakterite teised aktiivsed produktid. Kui keedame mõne tunni jooksul $^1/_2$% *kal. causticum*'i lahuses mikroobe, siis saame segu, millest võib hapetega sadestada proteiine. Sel teel saadud sadet pestakse korduvalt 0,85% NaCl-lahusega ja lahustatakse nõrgas soodalahuses. Säärased bakterite proteiinid, mis püsivad keetmisel, avaldavad toksilist toimet. Loomale süstitult põhjustavad nad palavikku, põletikku ja mädanikku süstimise kohal, põrnapaistetust ja hüperleukotsütoosi.

Viimasel ajal on isoleeritud paljudelt bakteritelt komplekt polüsahhariide, mis on seotud erilise mitteproteiinilise osaga. Viimane sisaldab lämmastikku, fosforit ja rasvahappeid. Bakteriaalsed polüsahhariidid on toksilised loomadele, kuid lõhustuvad kergesti nõrkade hapete toimel mittetoksilisteks komponentideks (Boivin, Topley jt.).

Paljudes mikroobides (*B. anthracis*) ei ole veel õnnestunud toksiini leida ja seepärast on ka teadmata, kuidas need mikroobid oma patogeenset tegevust avaldavad. Paljud mikroobid (*Clostridium tetani, Staphylococcus, Streptococcus* jt.) valmistavad toksiini, mis erütrotsüüte sulatab (hemotoksiin ehk hemolüsiin), teised (*Staphylococcus aureus*) valmistavad toksiini, mis vigastab valgeid vereliblesid (leukotoksiin ehk leukotsidiin). Hemotoksiini ehk hemolüsiini keemiline loomus ei ole teada. Ta kaotab 56—60° C t°-s oma toime. Hemotoksiinid võivad asuda väljaspool mikroobirakku, mis neid ektotoksiiniga osalt sarnastab. Teisest küljest on mikroobide endo- ja ektotoksiinid, samuti ka hemotoksiin osalt sarnased ensüümidega.

Korduvate uurimiste abil on kindlaks tehtud, et *Staphylococcus pyogenes* valmistab koagulaasi, mis kiirendab inimese vereplasma kalgendumist. Paljud inimesele patogeensed *Streptococcus pyogenes*'e tüved valmistavad võrdlemisi termostabiilset fibrinolüsiini, mis sulatab inimese vere fibriini.

Peale mainitud produktide on tuntud agressiinid, millede all mõistetakse niisuguseid mikroobide poolt valmistatud aineid,

mis organismi enesekaitse mehhanismi nõrgendavad ja võimaldavad mikroobide sigimist kudedes. Bail väidab, et agressiinid avaldavad leukotsüütidesse negatiivset kemotaktilist toimet ja takistavad leukotsüütide kaitse tegevust. Nad neutraliseerivad veres leiduvaid kaitseaineid (immuunkehasid) ega ole ise organismile mürgised või on seda vähesel määral. Agressiine võib leida siberi katku ja teiste haiguste puhul ödeemivedelikust ja ekssudaatidest. Süstides loomale mikroobidest vabastatud ödeemivedelikku või ekssudaati, osutub vastava mikroobi surmav annus palju väiksemaks kui mittesüstitud loomal.

Agressiine saame, kui katseloomale kõhukoopasse süstime mikroobe ja kohe pärast surma sealt ekssudaati võtame ning selle filtrimise teel mikroobidest vabastame. Mõned autorid (Wassermann, Citron, Doerr jt.) arvavad, et agressiinid on üksnes ekssudaadis lahustunud mikroobide produktid, mis nõrgestavad või murravad organismi enesekaitset. Agressiine võib mikroobest eraldada sel teel, et neid destilleeritud vees pikema aja jooksul loksutame ja siis ekstraktvedeliku mikroobest tsentrifuugimise abil vabastame.

Juba ammu on teada, et mikroobid valmistavad produkte, mis neid kaitsevad fagotsüteerimise vastu (viruliin, antifagiin). Peseme mikroobid korduvalt 0,85% NaCl-lahusega puhtaks antifagiinist, siis õgivad neid kiiresti fagotsüüdid. Vaba antifagiini saame, kui mikroobid kultuuripinnalt 0,85% NaCl-lahusega ära peseme ja neid tsentrifuugimise teel sadestame. Lahuse pealmine vedelik sisaldab antifagiine. Antifagiine on leitud *Diplococcus pneumoniae*'s, *Pseudomonas aeruginosa*'s, *Staphylococcus pyogenes*'is, *Vibrio comma*'s ja mõnes teises mikroobis.

Uurimised näitasid, et mikroobide ektotoksiinid kaotavad oma toksilise funktsiooni formaliini toimel. Uurides formaliiniga mõjustatud toksiini toimet loomadesse leidis Ramon, et see ei ole mürgine, kuid immuniseerib looma ja põhjustab spetsiifilise antitoksiini tekkimist. Sel teel saadud mittetoksilised toksiinid (toksoidid) kannavad nimetust anatoksiinid. Formaliini abil saadud anatoksiini ei ole õnnestunud tagasi toksiliseks muuta (irre-

versiibel). Happe lisandamisel kaotab ektotoksiin mürgisuse ja ühtlasi ka antigeense omaduse, kuid leelisega neutraliseerituna muutub segu uuesti mürgiseks ja saab tagasi antigeense toime (reversiibel).

## XI peatükk.

## Infektsioon.

Infektsioon- ehk nakkushaiguste põhjustamine on paljude mikroobide üks tähtsamaid omadusi. Need haigused tabavad inimesi, loomi kui ka taimi. Haiguse tekkimiseks on tarvilik infektsioon, milleks nimetatakse eluvõimelise teguri — mikroobi tungimist välismaailmast organismi. Haiguse arenemiseks on tarvis, et organismi tunginud mikroobid püsiksid seal eluvõimelistena, suudaksid sigida ja valmistaksid mürkaineid, mis organismisse kahjulikult toimivad ja mitmesuguseid funktsioone halvavad (*functio laesa*). Infektsiooni alla ei kuulu niisugused juhtumid, kus mikroobid, sigides väljaspool organismi ühes või teises aines, mürgiseid aineid (toksiine) valmistavad, mis organismi pääsedes intoksikatsiooni põhjustavad. Säärastel kordadel on võimalik hulkade haigustumine (näiteks botulism), mis meenutab infektsioonilist haigustumist, kuigi seda ei ole.

Haiguste tekitamise suhtes jagatakse tavaliselt kõik mikroobid kahte gruppi: 1) patogeensed mikroobid — parasiidid ehk nugilised, mis elusas organismis võivad sigida ja haigussümptoome põhjustada; 2) saprofüüdid ehk mädarikud, mis organismis võivad viibida, kuid haigust ei tekita. Viimastest leidub hulk mitmesuguseid liike nahal ja limanahkadel (sooltes, suus, ninas jne.). Harilikes tingimusis ei tekita saprofüüdid haigust. Kui aga organismi enesekaitse ühe või teise teguri (nälgimise, külmetuse, trauma jne.) toimel nõrgeneb, siis võivad paljud saprofüüdid alustada patogeenset tegevust. Tuntud on ka ümberpöördud võimalused, kus patogeensed mikroobid viibivad organismis pikema aja vältel, ilma et nad haigust põhjustaksid. Soodsal silmapilgul

võivad nad organismis kahjulikku tegevust alustada ja esile kutsuda haigusnähte (autoinfektsioon ehk autogeenne infektsioon). Seega ei ole praegusel ajal võimalik kindlat piirjoont tõmmata patogeensete mikroobide ja saprofüütide vahel. Mikroobid, mis on patogeensed ühele loomaliigile, võivad täiesti kahjutud olla teisele. Näiteks katkubatsillid (*Pasteurella pestis*) põhjustavad surmavat haigust inimesel, kuna nad aga lindudele kahjutud on. Koguni üksteisele ligidalt sugulased loomaliigid reageerivad sageli mõne mikroobi toimele väga erinevalt (põldhiired ja majahiired).

Arvestades mikroobide kahjulikku tegevust organismis võib neid jagada järgmiselt.

1) Toksilised saprofüüdid, mis elusasse organismi ei tungi ja seal ei sigi, vaid toimivad oma toksiiniga, mida nad väljaspool organismi valmistavad ja mis peamiselt toiduga organismi pääseb (*Cl. botulinum*).

2) Mikroparasiidid, mis sigivad peamiselt organismi pääsemise kohal, esijoones vigastatud kudedes koos teiste mikroobidega, kust nende toksiinid organismi laiali valguvad (*Cl. tetani*) ja vigastusi põhjustavad.

3) Mikroobid, mis sigivad limanahkade pinnal ja ainult harukordadel sügavale kudedesse tungivad. Nad toimivad organismisse peamiselt oma ektotoksiinidega, mis resorbeeruvad infitseerunud pinnalt (*C. diphtheriae, Vibrio comma, Shigella dysenteriae*). Sellesse gruppi kuuluvad ka välisnaha nakkushaigused.

4) Patogeensed mikroobid, mis toimivad oma toksiinidega, kuid tungivad varakult haiguspesast sügavale kudedesse ja verre (*Streptococcus pyogenes*).

5) Üldise infektsiooni (bakteremia) tekitajad, mis algusest peale kogu organismi vallutavad ja mõne koe või elundi endale sigimiskohaks valivad (*Eberthella typhosa, Poliomyelitis* jne.).

6) Mikroobid, mis peamiselt kroonilise iseloomuga granulomatoosseid haigusprotsesse esile kutsuvad (*Mycobact. tuberculosis, M. leprae* jt.).

Infektsioonile järgnev organismi reaktsioon ehk hai-

gus võib väga mitmesugust kliinilist pilti omada, mis oleneb peale paljude teiste faktorite organismi individuaalseist omadusist ja spetsiifilise mikroobi virulentsusest ehk mikroobi levimise ja sigimise võimest elusates kudedes. Ühe mikroobitõu virulentsus on väga püsiv, teistel on see muutlik. Näiteks *Pasteurella pestis* on virulentne, vaatamata sellele, kas ta kasvab organismis või kunstlikus söötmes; *Staphylococcus pyogenes* kaotab kiiresti oma virulentsuse, kasvades kunstlikus söötmes. Mikroobide virulentsust vähendavad tavaliselt kõik need faktorid, mis takistavad mikroobi kasvu. Mida kauemini mikroob kasvab kunstlikus söötmes ja mida halvemad on kasvutingimused, seda väiksem on tavaliselt tema virulentsus. Viimase nõrgendamiseks tarvitatakse mikroobide soojendamist teatavas temperatuuris (55—60° C), kasvatamist optimumist kõrgemas soojuses (*B. anthracis* 42,5—53° C), kuivatamist, päikesevalguse toimet, kunstlikule söötmele karboolhappe (1,6‰), *kal. bichrom.* (0,2—0,4‰), lugoolilahuse, $H_2O_2$, *kal. hypermang.* lisandamist ja mikroobide passaaže mittevastuvõtlikkude loomade organismi kaudu.

Patogeensete mikroobide virulentsuse tõstmiseks on kõige mõjuvamaks abinõuks passaažid vastuvõtlikkude loomade kaudu, kui sääraseid leidub. Mahutame patogeensed mikroobid kolloodiumkotikeses loomale kõhukoopasse, kus organismi mahlad, mitte aga leukotsüüdid, nendele juurde pääsevad, siis kasvab paljude mikroobide virulentsus kiiresti. Mikroobide virulentsust võib ka suurendada nende kasvatamiseks tarvitatavaile kunstlikele söötmeile astsiidivedeliku, vereseerumi, siseelundite ekstrakti jne. lisandamisega. Kõikide nende abinõudega võib mikroobide virulentsust suurendada ainult teatava piirini.

Virulentsuse määramiseks süstitakse vastuvõtlikkudele loomadele uuritava mikroobi värskest kultuurist valmistatud suspensiooni ja fikseeritakse kõige väiksem mikroobide hulk, mis surmab üle 50% katseloomi.

Patogeensete mikroobide kõige väiksem hulk, mis infektsiooni korral veel haigust suudab tekitada, oleneb organismi dispositsioonist ja mikroobide virulentsusest. Uurimised näitavad, et tervete loomade ja ka inimeste organismis leidub peaaegu alati üksi-

kuid patogeenseid mikroobe (*Streptococcus, M. tuberculosis* jne.), ilma et need üldist haigust tekitaksid. Kõigile kõrvalistele faktoritele vaatamata on tarvis teatavat hulka mikroobe nakkushaiguse tekitamiseks. Katku tekitamiseks jätkub mõnest üksikust mikroobist (*P. pestis*), kuna paljude teiste nakkushaiguste esilekutsumiseks peab sadasid (*M. tuberculosis*) või veel rohkem sigimisvõimelisi mikroobe organismi pääsema.

Kõigil nakkushaigustel on üldiseks tunnuseks nende tsükliline arenemine. Mikroobide organismi tungimise silmapilgu ja haiguse esimeste sümptoomide ilmumise aja vahel on lühem või pikem aste, mille jooksul mikroobid kohastuvad kiiremaks sigimiseks ja mida nimetatakse lõimetusjärguks ehk inkubatsiooniastmeks. Sellele järgneb eelimisjärk ehk prodromaalaste, mil üksikud üldise iseloomuga sümptoomid haigust veel ei iseloomusta. Pärast seda tuleb haiguse õitsejärk, kus haigus oma iseloomuliku pildi omandab, millele siis järgneb paranemine, surm või haiguse krooniliseks muutumine. Nimetatud astmete kestus on väga mitmesugune ja enam-vähem iseloomulik igale infektsioonile. Nakkushaiguste üldiseks tunnuseks on ka nende otsene või kaudne ülekandumine ja hulkade haigustumine, mis põhjustab taudi (epideemiat).

Iga nakkushaiguse tekitajaks on spetsiifiline haigusidu, kuid sageli on raske otsustada, missugust mikroobi tuleb pidada spetsiifiliseks. Seda küsimust uuris põhjalikult Rob. Koch ja töötas välja järgmised tingimused mikroobide spetsiifilisuse määramiseks, mis aga osutuvad puudulikeks meie päevil.

1) Mikroob on Kochi arvates spetsiifiline haigusetekitaja, kui ta leidub kõigi haigete organismis, kes kliiniliselt sama haigust põevad, ega leidu teiste haiguste puhul. — Kuid ühe või teise patogeense mikroobi leidumine organismis ei tõesta veel, et see on esineva haiguse põhjuseks. Me teame, et organismis võivad viibida patogeensed mikroobid, ilma et kandja kliiniliselt vastavat haigust põeks (bakterite kandjad ehk eritajad). Teiseks ei ole praeguse mikrobioloogilise tehnika abil võimalik leida kõikide nakkushaiguste tekitajaid.

2) Iga haige organismist peab saama spetsiifilise tekitaja

puhaskultuuri kunstlikul söötmel. — See tingimus patogeensete mikroobide spetsiifilisuse määramisel ei ole igal juhul täidetav, sest on palju haigusi, millede infektsioosse iseloomu üle ei kahelda, kuid mikrobioloogiline tehnika ei võimalda vastavate mikroobide kultiveerimist (*M. leprae*, filtreeruvad viirused jne.).

3) Puhaskultuur, poogituna inimesele või vastuvõtlikkudele katseloomadele, peab kutsuma esile samad haigusnähud, mis esinesid haigel, kellest mikroob isoleeriti. — Selle väite kohta peab mainima, et kõik haigeilt inimesilt või loomilt isoleeritud kultuurid ei põhjusta haigust edasipookimisel. Katsed loomadega on seotud mitmesuguste eksimisvõimalustega, sest üks ja sama mikroob võib tekitada väga mitmesugust haiguspilti ja kliiniliselt sarnast pilti võivad esile kutsuda erinevad mikroobid.

Peab tähendama, et mikroobide spetsiifilisuse määramisel on suureks abiks mitmesugused immuniteedi reaktsioonid, milledest kuuleme edaspidi.

Infektsiooni tekkimiseks on tarvilikud infektsiooniallikad, kus patogeensed mikroobid elavad, sigivad ja kust nad levivad. Kõige tähtsamaks allikaks on infitseeritud või haige inimene ja loom, kes eritavad haigusidusid, infitseerides maapinda, toiduaineid, vett, õhku, loomi ja inimesi. Patogeensed mikroobid erituvad organismist mitte ainult haiguse õitsejärgul, vaid ka inkubatsiooni- ja paranemisjärgul. Kliiniline paranemine sageli ei lange kokku bakterioloogilise paranemisega ehk haigusetekitajate kadumisega organismist. Tavaliselt kestab spetsiifiliste mikroobide eritumine pärast kliinilist paranemist lühikest aega, kuna mõnel juhtumil võib see kesta nädalaid, kuid ja aastaid, nagu seda kõhutüüfuse, düsenteeria, koolera ja difteeria puhul sageli leitakse (bakterite eritajad). Säärase kauakestva latentse ehk peitunud infektsiooniallika püsimine oleneb enamasti kroonilistest protsessidest, mida nakkushaigus organismis järele jätab (*cholecystitis, gastritis, pyelitis, appendicitis, rhinitis* jne.). Seesugused inimesed ja loomad on ümbrusele kõige kardetavamad haiguse edasiandmise suhtes ja neid tuleb kohelda kui kroonilisi haigeid, kes vajavad ravimist ja eraldamist. Mikroobide eritumine võib toimuda perioodiliselt, mis pidurdab eri-

tajate kiiret avastamist bakterioloogilise uurimise abil. Batsillide edasikülvajaiks võivad ajutiselt muutuda ka need, kes ainult puutuvad kokku haigetega või batsillide eritajatega (v a h e n d a j a d).

Sageli põeb inimene või loom nakkushaigust kergel kujul, ilma et kliinilised sümptoomid infektsiooni oletada lubaksid (kerge kõhulahtisus koolera, tüüfuse, düsenteeria puhul, nina või kurgu kerge põletik difteeria puhul jne.). Ümbrusele on säärased haiged niisama kardetavad kui rasked haiged või veel kardetavamadki, sest nad liiguvad vabalt teiste hulgas ja külvavad teadmatult haigusidusid.

Mikroobide eritumine organismist on võimalik: 1) roojaga (*typhus abdom., cholera, dysenteria, paratyphus* jne.); 2) kusega (*typhus abdom., tuberculosis, paratyphus, gonorrhoea);* 3) oksega (*cholera, typhus abdom., paratyphus);* 4) rögaga (*tuberculosis, diphtheria, influenza* jne.); 5) ninalimaga (*diphtheria, malleus, lepra, meningitis cerebrospin., influenza* jne.); 6) silmasekreediga (*trachoma);* 7) suguorganite sekreediga (*syphilis, gonorrhoea, ulcus molle);* 8) nahakestadega (*scarlatina,* katk, *tuberculosis, lepra, variola, syphilis).*

Infektsiooni edasiandmine on võimalik p ä r i m i s e teel. Mikroobide läbitungimist platsentast lootesse tõendavad katsed ja kliinilised tähelepanekud. Haigusprotsessidest vigastatud platsenta veresoontest tungivad mikroobid võrdlemisi vabalt lootesse, kuna aga vigastamata platsenta mikroobe erandjuhtumeil läbi laseb. Säärasel teel saadud infektsioon põhjustab k o n g e n i t a a l s e haiguse. P ä r i m i s e teel infektsiooni edasiandjateks võivad olla mehe seemnerakud ja naise munarakud (g e r m i n a t i i v n e infektsioon), nagu seda tegi kindlaks esimesena P a s t e u r siidiussikestel. Ka inimesel ja loomadel oletatakse sellise infektsiooni võimalust ja loote hereditaarset haigust, kuid selleks puuduvad alles kindlad tõendused. Sageli peetakse ekslikult päritud haigusteks neid, mida laps sündimise ajal või pärast sündimist oma vanematelt saab (a k v i r e e r i t u d h a i g u s) kokkupuutumise teel (*tuberculosis* jt.).

Infektsiooniks on tarvilikud nõndanimetatud i n f e k t s i o o n i t e e d, millede kaudu mikroobid oma algpesadest tervesse orga-

nismi pääsevad (alimentaarne, aerogeenne jt.). Mikroobide edasikandumine võib toimuda otseselt, kui terve organism kokku puutub haigega (kontaktinfektsioon). Kontakt etendab suurt osa nende mikroobide edasikandumises, mis väljaspool organismi kiiresti eluvõime kaotavad (süüfilis, influentsa). Kaudselt kanduvad mikroobe edasi surnud välismaailm ja elusolendid. Selles suhtes osutuvad ohtlikkudeks haigega või batsillide eritajatega kokkupuutunud riided, pesu, söögi- ja joogiriistad, raamatud, mänguasjad, mööbel jne. Mitmesugused välismaailma tegurid ja vahendid, kus haigusidud lühema või pikema aja jooksul eluvõimelisteks jäävad või koguni sigivad, on tähtsaiks infektsiooni levitajaiks.

Esimesena tuleks nimetada vett, mida inimene igapäevases elus kõige rohkem tarvitab. Infitseeritud vee kaudu haigustumine on võimalik mitte ainult selle joomise tagajärjel, vaid ka siis, kui seda söögiriistade pesemiseks, ihupesemiseks ja vannitamiseks tarvitatakse. Infektsiooniohtlikud on patogeensete mikroobidega roojastatud toiduained. Piimas leidub sageli patogeenseid mikroobe, mis lüpsmise aegu haigete või batsillide eritajate küljest sinna pääsevad ja sigivad *(Eberth. typhosa, Vib. comma, Shigella dysenteriae)*. Peale selle võivad infitseeritud loomad piimaga eritada patogeenseid mikroobe, mis piimatarvitajaid infitseerivad *(M. tuberculosis)*. Sageli on infektsiooni põhjuseks liha, mille puhul on võimalik, et loom juba enne tapmist oli haige *(tuberculosis, anthrax)* või mikroobid pääsesid lihasse pärast tapmist *(Cl. botulinum,* mõned *Salmonella* liigid jne.). Mitmesugused infitseeritud joogid, aedviljad, puuviljad, leib, koogid jne. võivad olla haiguse põhjuseks ja taudi levitajaiks.

Õhus ja tolmus võib esineda patogeenseid mikroobe *(Bac. anthracis*'e eoseid, *M. tuberculosis, Corynebact. diphtheriae, Streptococcus pyogenes* jne.), mis tolmu sissehingamise teel infektsiooni ja haigust põhjustavad. Kõnelemise, köhimise ja aevastamise puhul lendavad haige suust välja väikesed limapiisakesed, mis sisaldavad vastava haiguse tekitajaid. Õhus edasi liikudes võivad säärased mullikesed ehk tilgakesed ümbrust infitseerida (piiskinfektsioon — Flügge).

Mitmesugused elusolendid võivad kaudselt infektsiooni levitada. On kindel, et putukad (kärbsed, lutikad, prussakad) oma jalgu ja tiibu patogeenseid mikroobe sisaldavate ainetega kokkupuutumisel võivad roojastada ja siis ühest kohast teise liikudes mikroobe kaasas kannavad ning neid levitavad. Teistel kordadel imevad putukad ühes toiduga või haige verega enestesse patogeenseid mikroobe, mida nad muutumatult roojaga ja süljega eritavad ning sel kombel infektsiooni levitavad. Mõnede putukate organismis teevad verega sisseimetud mikroobid teatava arenemistsükli läbi või nende virulentsus suureneb putuka organismis (malaaria plasmoodid — *Anopheles maculipennis*'e, *Trypanosoma — Glossina palpalis*'e, *typhus exanthematicus*'e viirus — *Pediculus vestimenti* organismis). Imeb säärane infitseeritud putukas terve inimese verd, siis tungivad virulentsed haigusetekitajad tema noka kaudu inimese organismi ja tekitavad haigust. Paljude nakkushaiguste levitajaiks on peale koduloomade mõned metsloomad, rotid ja hiired. Viimased kaks loomaliiki moodustavad erilise ohu, sest peale iseseisva kiire liikumise ühest kohast teise võivad nad veel kaugemale liikuda laevadel ja raudteerongides. Nii on teada, et jänesed ja rotid levitavad tularеemiat ja rotid on katku tähtsamad levitajad.

Nakkushaiguse tekkimiseks on tarvilikud nn. v ä r a v a d, kust mikroobid kudedesse, verre ja koemahladesse pääsevad. Infektsiooni toimumise järel sõltub mitmesuguseist tegureist, kas organismi pääsenud patogeensed mikroobid haigust suudavad tekitada või peavad nad koha peal surema. Selles langeb suur osa kahtlemata organismi kohaliku enesekaitse mehhanismile. Me teame, et vigastamata sarvnahk takistab n a h a peal viibivate mikroobide edasitungimist kudedesse, mistõttu nahk on heaks kaitseks mikroobide vastu. Seedetee limanahk on kaetud paksu limakihiga, mis mikroobe kinni püüab ja ühes nendega eraldub. Hingamisteede epiteelrakkude ripsmed kannavad oma liikumistega mikroobid hingamisteedest välja. Peale tähendatud mehaaniliste faktorite on olemas paljud bioloogilised ja keemilised toimed, mis mikroobe kahjutuks teevad.

Organismis esinevad üksikud kohad (*locus minoris resisten-*

*tiae)*, kus koe enesekaitse on nõrk ja kus mikroobid võivad sigida ning alustada oma kahjulikku tegevust (*tonsilla, appendix*, kopsu ülemised tipud jne.). Säärased kohad tekivad mitmesuguste vigastuste (trauma) tagajärjel. Soolte limanaha vigastused seederikete tagajärjel kergendavad märksa koolera, düsenteeria ja teiste haiguste tekkimist. Soolte parasiidid võivad limanahka vigastada, tekitades mikroobidele väravaid edasitungimiseks kudedesse. Kurgukatarrid avavad väravad difteeriale ja teistele haigustele. Nälg nõrgestab organismi ja soodustab mikroobide pääsemist kudedesse. Ränitolm nõrgestab kopsukudet ja avab tee tiisikusele (Gardner). Haavad on lahtisteks väravateks mikroobidele organismi tungimiseks. Mikroobide tungimist (invasiooni) kudedesse limanahkade pinnalt ja juba kudedes viibivate mikroobide sigimist soodustavad väga mitmesugused aktsessoorsed faktorid, mis suruvad alla kudede enesekaitse ja annavad alguse haigusele (*kataphylaxia*). Säärast toimet avaldavad mõnel puhul kaltsiumi-, strontsiumi- ja rauasoolade suuremate annuste süstimised (Bullock ja Cramer), vitamiinide puudus toidus ja liialdatud kiiritamine raadiumiga. Gye ja Barnard väidavad, et mittepatogeensed viirused, nende hulgas ka vähitekitaja, muutuvad patogeenseiks koerakke nõrgestavate faktorite toimel.

Infektsioonhaiguse arenemisel etendab suurt osa mikroobi sobivus ühele või teisele koele. Näiteks *Shigella dysenteriae* leiab kõige soodsama pinna oma kasvuks jämesooles, *Vibrio comma* — peensooles, *Neisseria gonorrhoeae* — kusetorus ja emakakaelas. Nahk on väga vastuvõtlik *Bac. anthracis*'ele, kuna teised koed on sellele refraktaarsemad. Kops on väga vastuvõtlik *M. tuberculosis*'ele ja *Diplococcus pneumoniae*'le. Flügge leidis, et kopsu kaudu juba üksikud tuberkuloosiidud haigust võivad tekitada, kuna soolte kaudu on selleks tarvis neid miljoneid.

Ühed patogeensed mikroobid jäävad püsima ja sigivad koesse pääsemise kohal, tekitades seal lokaalse haiguspesa (*furunculus, abscessus* jne.) ja kutsudes esile raskemaid või kergemaid üldsümptoome (palavik, leukotsütoos jne.), teised aga avaldavad dissemineerumise tungi kogu organismi. Mikroobid levivad kogu organismis passiivselt verega, lümfiga ja koemahlaga, mis neid

laiali kannavad. Aktiivselt tungivad mikroobid iseseisva liikumise ja nende kord-korralt kasvamise teel sügavamale rakkudevahelistesse ruumidesse. Mikroobide sigimisvõime tsirkuleerivas veres on väga piiratud, seepärast on ka nende hulgaline viibimine veres alati tõenduseks, et lokaliseerunud haiguspesad juhivad verre rohkem mikroobe, kui suudab kõrvaldada vere puhastusmehhanism.

Mikrobiaalse haiguse arenemiseks on tarvilikud organismi vastuvõtlikkus ja soodus pind mikroobide sigimiseks. Igasugune kudede energia nõrgestamine kiirendab haiguse arenemist (isiklik dispositsioon).

Vanus avaldab suurt mõju paljude nakkushaiguste tekkimisele ja arenemisele. Lastel esinevad nakkushaigused sagedamini kui täiskasvanutel, sest laste organismi loomulik enesekaitse ei ole veel küllalt välja arenenud. Vanad inimesed surevad kiiresti mõnedesse nakkushaigustesse *(tuberculosis, typhus exanthematicus)*, sest nende loomuliku enesekaitse mehhanism on halvatud ja organite tegevus nõrgenenud.

Suguline dispositsioon nakkushaigustele on üldiselt vähe silmapaistev. Menstruatsiooni, sünnituse ja raseduse ajal on naised nakkushaigustele vastuvõtlikumad kui mehed. Peale selle on nendel ajajärkudel haiguse kulg raskem kui harilikult, mida võib seletada organismi ajutise nõrgenemisega. Tütarlapsed on vastuvõtlikumad mõnedele nakkushaigustele kui poeglapsed, kuid erinevus ei ole suur.

Kliima ja maakoha iseärasused võivad väga mitmesuguselt mõjustada nakkushaiguste levimist. Näiteks on paljud maakohad vabad mõnest haigusest, sest seal puuduvad vahendajad, kes haigusidusid edasi kannavad. Isiklik dispositsioon oleneb kahtlemata toitumisest ja osalt meile veel ligemalt teadmata maakohatingimusist.

Aastaaegade mõju nakkushaiguste tekkimisele oleneb peamiselt mitmesugustest välistest teguritest, mis haiguse levimist soodustavad ($t^0$, niiskus, suvel kärbsed, talvel tihe kooselamine jne.).

Sotsiaalne dispositsioon nakkushaigustele oleneb ela-

misviisist, puhtusest, elukutsest, toitumisest ja teistest faktoritest.

Hinnates kokkuvõttes mitmesuguste tegurite tähtsust nakkushaiguste tekkimisel, võiksime mainida prantsuse arstide väidet: „*C'est le terrain qui fait la maladie.*"

Kui haiguse tekitamisest võtavad ühel ja samal ajal osa mitmesugused mikroobid, siis räägitakse segainfektsioonist ehk mikroobide assotsiatsioonist. Osa, mida etendab mikroobide assotsiatsioon nakkushaiguste puhul, on sageli ilmne. Kui näiteks süstida loomale toksiinist puhtaks pestud *Cl. tetani* eoseid, siis ei järgne sellele teetanust. Segatakse aga eosed enne süstimist mõne saprofüüdi kultuuriga, siis tekib teatud inkubatsiooniastme järel teetanus. Esimesel juhtumil fagotsüteeritakse *Cl. tetani* eosed, teisel puhul takistavad saprofüüdid fagotsütoosi ja eosed võivad vabalt sigida ning toksiini valmistada.

Pääsevad ühe või teise nakkushaiguse ajal samad haigusidud välismaailmast uuesti organismi, siis räägitakse superinfektsioonist, mis võib suurt mõju avaldada haiguskäigule (*tuberculosis*).

Sageli võib tähele panna, et ühele infektsioonile järgneb teine ehk sekundaarne infektsioon. Mõnedel juhtumeil ei ole võimalik leida mikroobide sissepääsu kohta või sel kohal ei esine reaktsiooninähte — krüptogeneetiline ehk essentsiaalne infektsioon.

Infektsioonile järgnev haigus võib areneda ägedalt (akuutne) või pikkamisi (krooniline). Iseloomult on nakkushaigused kas aktiivsed, kui esineb haigusprotsessi pidev arenemine, või inaktiivsed, kui on seisak organismi ja mikroobide vahelises võitluses. Mikroobide eritumise suhtes on nakkushaigused lahtised, kui haigelt erituvad mikroobid, või kinnised, kui mikroobe ei eritu.

Nakkushaiguse vältel muutuvad mitmesuguste reaktsioonide toimel haige organismi omadused, mille tulemuseks on kudede tundlikkuse kasv (allergia) haigust põhjustavate mikroobide ja nende produktide vastu, või jälle organismi suurenenud resistentsus (immuunsus) samadele faktoritele.

II osa.

# Immuunsusõpetus.

Nimetuse *„immunis"* andsid vanad roomlased neile isikule, kes vabad olid maksudest. Hiljemini hakati immuunsuseks nimetama parlamendiliikmete erilist isikupuutumatust. Juba vanaaja arstid märkasid, et katku ja koolerat põdenud isikud ei haigustunud teiskordselt samadesse haigustesse. Praegusel ajal märgitakse immuunsusega arstiteaduses organismi omadust, mis teda kaitseb mikrobiaalsete ja toksiliste tegurite patogeense toime vastu.

Absoluutse immuunsuse korral on organism refraktaarne teatava haigusidu vastu ka siis, kui on olemas tingimused, mis on harilikult tarvilikud teiste organismide haigustumiseks selle mikroobi toimel. Relatiivne immuunsus, mis esineb märksa sagedamini kui absoluutne, on seotud mitmesuguste tingimustega. Näiteks organism võib olla kaitstud väikese hulga mikroobide vastu, kuna sama mikroob haiguse esile kutsub, kui teda korraga suurel hulgal organismi pääseb. Kõik faktorid, mis nõrgestavad organismi, vähendavad ka tema resistentsust nakkushaigustele (nälgimine, mürgistused alkoholiga, oopiumiga, kokaiiniga, külmetused, verekaotused, koevigastused, füüsiline ja vaimne väsimus). Pasteur ja Wagner näitasid oma katsetega, et kanad on immuunsed harilikkudes elutingimustes siberi katkule, kuid võivad saada selle haiguse, kui hoida kana jalgu enne ja pärast *B. anthracis*'e süstimist külmas vees. Külmaveresed loomad saavad ainult siis mürgistuse teetanuse toksiiniga, kui neid 30° C t°-s soojendatakse.

Immuunsusnähte grupeerides võiks mainida järgmisi erinevaid vorme:

1) Loomulik ehk kaasasündinud immuunsus.
2) Omandatud ehk akvireeritud immuunsus.

A. Aktiivne:
   a) Loomuliku infektsiooni järel omandatud.
   b) Kunstliku pookimise teel omandatud.

B. Passiivne:
   a) Loomulikul teel omandatud (kongenitaalne).
   b) Kunstlikult esile kutsutud.

XII peatükk.

## Loomulik immuunsus.

Kui organism on resistentne ühele või teisele nakkushaigusele, ilma et ta seda haigust kunagi varemini oleks põdenud, siis räägitakse organismi loomulikust ehk kaasasündinud immuunsusest. Nii on teada, et paljud loomadele patogeensed mikroobid ei tekita haigust inimesel ja paljud inimese nakkushaigused ei ole loomadele ülekantavad. Infitseerides üht loomaliiki näeme, et mõned indiviidid on resistentsed haigusele, kuna teised haigustuvad (individuaalne immuunsus). Mustad rassid on resistentsemad kollapalavikule ja malaariale kui valged rassid. Lapsed alla ühe aasta on tavaliselt immuunsed leetritele ja sarlakeile. *E. typhosa* infitseerib harva väikesi lapsi ja rauku. Säärane rassiga ja eaga seotud immuunsus oleneb kahtlemata osalt varemini põetud haigusest või emalt lapsele üleantud ajutisest passiivsest immuunsusest. Loomulik immuunsus kaitseb organismi niihästi patogeensete mikroobide kui ka nende toksiinide vastu.

Kui infitseerime immuunset organismi vastavate mikroobidega, siis leiame, et viimased sealt lühema või pikema aja jooksul jälje-

tult kaovad. Sellest näeme, et organism on varustatud mõnesuguste võitlusabinõudega mikroobide vastu, milledest oleneb loomulik immuunsus, kuid me tunneme praegusel ajal liiga puudulikult seda keerulist kaitsemehhanismi.

Nagu ülalpool kuulsime, on vigastusteta nahk tugevaks mehaaniliseks tõkkeks, mis pidurdab mikroobide pääsemist nahapinnalt sügavamale kudedesse. Peale selle esineb nahas vähetuntud bioloogiline tõke, mis kiiresti vabastab nahapinna sellele juhuslikult sattunud mikroobest (autodesinfektsioon). Näiteks mustusest puhtaks pestud käenahale määritud mikroobid (*Streptococcus pyogenes, Proteus vulgaris, Escher. coli* jt.) kaovad sealt mõne tunni vältel, kuna naha normaalset mikrofloorat (*Staphylococcus albus* jt.) on raske täielikult hävitada tugeva pesemise ja keemiliste desinfitseerivate ainete abil. Nähtavasti toimib osalt mikroobidesse surmavalt hapu reaktsiooniga higi.

Suu normaalne limanahk elimineerib sülje abil väheste tundide vältel suhu sattunud mikroobid ja katseks suhu asetatud söepulbri, kusjuures sülje bakteritsiidsel toimel osa mikroobe sureb. Ainult elektiivsetele kohtadele püsima jäänud mikroobid alustavad sigimist. Maomahla happesuse toimel hävib suurem osa allaneelatud mikroobe. Maost peensoolde pääsenud mikroobid hävivad seal osalt peensoole ülemise osa sisaldise happesuse tõttu, osalt sulatab neid soolelimas leiduv lüsosüüm, või nad liiguvad kiiresti jämesoolde koos limaga. Kui maomahla enne neutraliseerida, siis pääseb suur osa allaneelatud mikroobest peensoolde, kus neil avanevad võimalused lümfiteede kaudu kudedesse ja verre pääsemiseks.

Ninasse hingatud mikroobest fikseerub suur osa juba ninasõõrmete algosa limanaha pinnale, kuna sügavamale tunginud mikroobe seob ninakoopa tagumiste osade lima. Säärasel teel fikseerunud mikroobe juhib ninast välja epiteeli ripsmete liikumine või nad sulavad limas leiduva lüsosüümi toimel. Trahheasse ja bronhidesse pääsenud väga piiratud arv sissehingatud mikroobe kleepub limanahale, kust neid uhab tagasi ripsmeline epiteel, kuni nad erituvad rögaga. Kopsu alveoolideni pääsenud

mikroobe püüavad kinni fagotsüüdid, kandes neid regionaalsetesse lümfinäärmetesse, kus nad hävivad. Konjunktiivale pääsenud mikroobe uhavad mehaaniliselt pisarad välja või juhivad neid *ductus lacrimalis*'e kaudu ninasse. Normaalselt vabaneb konjunktiiva suspensioonina silma tilgutatud mikroobidest vähem kui ühe tunni vältel, kuid pisarakanali sulgemise korral püsivad nad seal märksa kauem. Sekreetidest sisaldavad pisarad kõige rohkem lüsosüümi, millega on osalt seletatav pisarate baktereid surmav toime ja konjunktiiva kaitse patogeensete mikroobide vastu.

Ureetrasse pääsenud mikroobe uhab välja ja halvab nende tegevust hapu reaktsiooniga uriin. *Vagina*'sse juhitud mikroobid (*Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus, Streptococcus* jt.) hävivad 21—26 t. vältel vaginaalsekreedi bakteritsiidsel toimel. Normaalsel nahal ja kõikidel limanahkadel esineb igale regioonile omapärane ja võrdlemisi vähe muutlik normaalne mikrofloora, mis muu hulgas nähtavasti suurendab naha ja limanahkade resistentsust ka teiste, välismaailmast juhuslikult sissetungivate mikroobide vastu.

Kudedesse ja koemahladesse pääsenud mikroobide kõrvaldamisel ja hävitamisel etendab suurt osa Metšnikov'i ja tema õpilaste poolt esmakordselt uuritud fagotsütoos ehk mikroobide õgimine mitmesuguste koerakkude poolt. Kui süstida katseloomale verre suspensioonina inertseid aineid, nagu karmiini, tušši, kolloidset rauaoksüüdi või mitmesuguseid intravitaalseks värvimiseks kasutatavaid värvaineid (trüpaansinist, vitaalpunast, pürroolsinist jne.), siis ladestuvad mainitud ained (elektro-negatiivsed kolloidid) väga mitmesugustes koerakkudes ja veri vabaneb nendest lühema või pikema aja vältel, olenedes süstitud aine iseloomust ja hulgast. Histoloogid nimetavad sääraseid koerakke histiotsüütideks, kuna immunoloogias neid tuntakse makrofaagidena. Paigalpüsivatest ehk sessiilsetest histiotsüütidest on aktiivsematena tuntud maksa kapillaaride endoteeli (Kupfferi rakud), põrna, lümfi ja kondiüdi siinuste endoteeli, neerupealiste ja hüpofüüsi kapillaaride endoteeli rakud. Vähem aktiivsed on põrna, lümfinäärmete, lümfikoe ja tüümuse retikulaarsed rakud. Rändavatest histiotsüütidest on tuntud kogu organismi koepiludes

leiduvad koehistiotsüüdid ja verehistiotsüüdid. Aschoff nimetas sääraste koerakkude kogu retikulo-endoteliaalseks süsteemiks (R. E. süsteem). R. E. süsteemi üksikutes gruppides esinevad erinevused rakkude aktiivsuses, olenedes loomaliigist. Peale histiotsüütide etendavad vere polümorfonukleaarsed leukotsüüdid ehk mikrofaagid aktiivset osa verre pääsenud võõrkehakeste kõrvaldamisel. Sõltumata rakulistest elementidest toimub nende ainete kõrvaldamine verest veel teise mehhanismi abil. Näiteks verre süstitud karmiini ja tuši suspensioonid ei ole stabiilsed ja dispergeeritud osakesed koonduvad veres agregaatideks (aglutineeruvad), mis jäävad peatuma kapillaaridesse, kus neid hiljemini haaravad fagotsüüdid.

Ei ole kahtlust, et vere vabanemine elusatest mikroobidest toimub üldiselt sama mehhanismi abil, mis vabastab verd inertsetest osakestest. Verre süstitud elusate mikroobide fagotsüteerimist toimetavad peamiselt maksa, põrna ja kondiüdi histotsüüdid. Veres tekkinud mikroobide agregaatide pidurdamine toimub esmajoones kopsu kapillaarides, kuhu hulgaliselt koonduvad ka polümorfsed leukotsüüdid, kutsudes esile ajutist perifeerset leukopeeniat. Leukotsüüdid fagotsüteerivad mikroobe ja rändavad siis põrna ja mujale, kus neid omakorda fagotsüteerivad sessiilsed histiotsüüdid. Elusate mikroobide verre süstimise korral on võimalik, et nad seal ka sigivad, seepärast oleneb nende kõrvaldamise kiirus mikroobide sigimisvõime ja kõrvaldamismehhanismi tasakaalust. Wright süstis loomadele verre mitmesuguse virulentsusega mikroobe ja määras nende arvu hiljemini verikultuuri abil. Selgus, et avirulentsete mikroobide arv kahanes pidevalt ja veri vabanes neist kiiresti (5—24 t. vältel). Nõrgalt virulentsetest mikroobidest hävis suurem osa kuni 5 tunni vältel, siis kasvas mikroobide arv sigimise teel ja 24—30 tunni järel hakkas see arv permanentselt kahanema, kuni mikroobid täielikult kadusid verest (96 t.). Väga virulentsete mikroobide süstimise korral kadus samuti 5 t. vältel suurem osa mikroobe verest, kuid siis võttis ülekaalu sigimine ja mikroobide arv kasvas looma surmani.

Mikroobide kadumise kiirus verest sõltub organismi resis-

tentsusest, mikroobide arvust ja virulentsusest. Inertsete osakeste (karmiin, tušš jt.) suspensiooni süstimise abil blokeeritud retikulo-endoteliaalse koega katseloomade veres püsivad süstitud mikroobid kauem ja loomad on vastuvõtlikumad mikroobidele, kui blokeerimata loomad. Üldiselt arvatakse, et mikroobid hävivad fagotsüütides eriliste ensüümide (tsütaasi) toimel, kuid mõned mikroobid püsivad elusatena pikema aja vältel fagotsüteerituina põrnas, maksas või kondiüdis. Võimalik, et fagotsüteerunud mikroobid mõnel juhul rändfagotsüütidega kaasa liikudes infektsiooni levitavad kudedesse.

Süstides peritoneumi mikroobe või inertsete osakeste suspensiooni, algab lühema või pikema aja järel (30—60 min.) ekssudaadi kogunemine kõhukoopasse, milles alul leiduvad peamiselt polümorfonukleaarsed leukotsüüdid (mikrofaagid), kuid hiljemini seltsib nendega suuremal määral mononukleaarseid fagotsüüte (makrofaagid). Mõlemad rakuliigid fagotsüteerivad süstitud mikroobe ja organismi võidule pääsemise korral vaibub reaktsioon 6—8 p. järel. Omentumi pinnale koondunud reaktsiooni kestel hulkadena süstitud mikroobide või aineosakeste agregaadid ja polümorfonukleaarsed leukotsüüdid. Omentumi kude, eriti piimaplekid *(tâches laiteuses)*, on rikkad makrofaagest, mis fagotsüteerivad omentumi pinnale sattunud mainitud agregaate, kandes neid sügavamale omentumi koesse. Fagotsütoosi toimetavad ka omentumi pinnale koondunud mikrofaagid (leukotsüüdid). Omentumi liikumine kiirendab mikroobide ja inertsete osakeste kõrvaldamist kõhukoopast. Peritoneumi süstitud mikroobid ja inertsed osakesed tungivad juba reaktsiooni alguses diafragma lümfiteede kaudu edasi verre, põrna, maksa, kopsu ja teistesse organitesse. Hiljemini on näha mikroobide ja osakeste kogunemist lümfinäärmetesse.

Subkutaanselt süstitud elusate mikroobide ja inertsete osakeste edasiliikumine toimub harilikult pikkamisi, sest histotsüüdid süstimise kohal, samuti ka regionaalsed lümfinäärmed hoiavad neid kinni enne verre pääsemist. Intramuskulaarselt süstitud mikroobid liiguvad kiiremini edasi, sest lihaste kokkutõmbumine kiirendab lümfi ja ühes sellega mikroobide liikumist.

Nahaalusi ja koguni nahasisesi süstimine on mõnel juhul kardetavam (*Bac. anthracis, Erysipelothrix rhusiopathiae*) kui peritoneumi või verre süstimine.

Suu kaudu peensooleni pääsenud mikroobid tungivad osalt läbi limanaha mesenteriaalnäärmetesse, kust nad võivad pääseda verre ja sealt tagasi pöörduda maksa ja põrna. Nende organite fagotsüütides võivad mikroobid püsida elusatena latentses olekus pikema aja vältel, põhjustades erandjuhtumitel aktiivset haigust (kõhutüüfus, paratüüfus jne.).

Katsed näitavad, et fagotsüüdid võivad siduda ja kahjutuks teha organismi pääsenud mikroobide toksiine. Peale selle leidub inimese ja loomade vereseerumis ja koemahlades toksiine neutraliseerivaid substantse (loomulikke antitoksiine), mis loomuliku resistentsuse põhjusena vaid piiratud tähtsust omavad. Juba ammu oli teada, et immuniseerimata inimeste ja loomade vereseerum ja koemahlad *in vitro* avaldavad bakteritsiidset toimet mõnedesse patogeensetesse mikroobidesse, mida seletatakse organismis leiduvate loomulikkude bakteriolüsiinide ja komplemendi (aleksiini) toimega. Enamiku loomade (eriliselt veiste ja sigade) normaalseerum sisaldab varieeruval hulgal veel teisi loomulikke (normaalseid) antikehasid (aglutiniine, komplementi siduvaid aineid, pretsipitiine jne.), mis reageerivad väga mitmesuguste mikroobidega ja millede tekkimisel ümbruse stimuleerivad faktorid etendavad nähtavasti väga piiratud osa. Loomulikkude immuunkehade tähtsuse kohta organismi resistentsuses on sageli raske otsustada, sest näiteks on koerad resistentsed siberi katku vastu, kuid nende vereseerum ei tapa *in vitro Bac. anthracis*'t, seevastu on jänesed väga vastuvõtlikud siberi katkule, kuid nende vereseerum surmab võrdlemisi kiiresti *in vitro Bac. anthracis*'e (Lubarsch).

Üldiselt põhjendatakse käesoleval ajal loomulikku resistentsust mitmesuguste koerakkude toimega (tsellulaarne teooria), kuna vereseerumi ja koemahlade toimes (humoraalne teooria) ainult osalist tähtsust nähakse. Loomulikkude antikehade tekkimise kohta organismis puuduvad ligemad andmed. Hirszfeld ja mõned teised arvavad, et normaalsed antikehad

on „biokeemilised organid", mis arenevad ja valmivad mitmesuguse aja vältel samuti kui teised organid (serogenees). Ühe ja sama toimega immuun- ja normaalantikehad ei pruugi olla identsed.

## XIII peatükk.

## Omandatud immuunsus.

Paljude nakkushaiguste põdemise järel omandab niihästi inimese kui ka looma organism lühemat või pikemat aega kestva resistentsuse, mis teda kaitseb juba põetud haiguse kordumise eest. Mõnede nakkushaiguste puhul ei teki märgatavat resistentsust, vaid koguni ümberpöördult, võib konstateerida, et organism vastuvõtlikumaks muutub juba põetud haigusele. Nii on teada, et inimesed, kes kord on põdenud rõugeid, leetreid ja sarlakeid, ei haigustu harilikult teiskordselt, kuna erüsiipelast, kopsupõletikku ja tripperit põdenud isikud infektsioonivõimaluse korral korduvalt haigustuvad samasse haigusse. Kergel kujul, sageli ilma haigussümptoome märkamata põetud haigus võib niisama tugeva ja püsiva resistentsuse esile kutsuda, nagu raske haigus. Me kuulsime ülalpool, et inimesed ja loomad, kokku puutudes patogeenseid mikroobe eritavate haigetega, võrdlemisi sageli infitseeruvad ja muutuvad ise batsillide kandjateks ja eritajateks, ilma et nad seejuures haigustuksid kliiniliselt. Säärased bakterioloogiliselt haiged ehk tumma infektsiooni kandjad isikud immuniseeruvad pikkamisi ja võivad omandada küllalt tugeva resistentsuse välismaailmast sissetungiva infektsiooni vastu (Durchseuchungsimmunität).

Kui korduvalt süstida inimesele või loomale eluvõimelisi, mitmel viisil nõrgestatud või surmatud patogeenseid mikroobe, mikroobide toksiine või nende rakusubstantse, siis põhjustavad need lokaalset ja üldist reaktsiooni, mille tagajärjel kasvab organismi resistentsus. Säärase inokuleeritud ehk vaktsineeritud inimese või looma vereseerum, koemahlad ja koerakud muu-

tuvad vaenulikeks või koguni hävitavaiks välismaailmast sissetungivatele patogeensetele mikroobidele ja nende mürkidele.

Ülalmainitud resistentsuse ehk immuunsuse omandamiseks on tarvilik elusa organismi otsene aktiivne tegevus mitmesuguste reaktsioonide näol (aktiivne immuunsus), kusjuures immuunsus tekib lühema või pikema aja vältel ja püsib harilikult aastaid. Kui võtta aktiivselt immuniseeritud loomalt või inimeselt verd, eraldada seerum ja süstida seda immuniseerimata organismi, siis omandab viimane resistentsuse vastavale nakkushaigusele. Säärasel korral saab organism süstitud seerumiga valmis kaitseolluseid, ilma et ta nende valmistamiseks oma jõudu kulutaks (passiivne immuunsus). Sel teel saadud immuunsus tekib kiiresti pärast seerumi süstimist ja ta on vähepüsiv (mõned päevad või nädalad).

Nii aktiivselt kui ka passiivselt omandatud immuunsus on relatiivse iseloomuga, mis suudab kaitseda organismi harilikes tingimusis välismaailmast sissetungivate patogeensete mikroobide väiksema ja keskmise hulga vastu, kuid millest ei piisa kaitseks massiliselt sissetungivate virulentsete mikroobide vastu. Juhul, kui relatiivselt immuniseeritud organismi infitseerimisele järgneb haigus, siis on see üldiselt kergema ja kliiniliselt rohkem lokaalse iseloomuga, kui immuniseerimata organismis. Nakkushaigus, samuti ka vaktsineerimine mikroobidega ja nende mürkidega kutsuvad esile organismis spetsiifilise immuunsuse, mis kaitseb ainult sama infektsiooni vastu. Näiteks, koolera põdemine põhjustab resistentsuse ainult koolera vastu ja kõhutüüfuse batsillidega vaktsineerimine immuniseerib ainult kõhutüüfuse vastu. Ema poolt aktiivselt omandatud spetsiifiline immuunsus kandub pärimise teel üle lapsele.

Väga mitmesuguste ainete (valgud, piim, normaalvereseerum jne.) süstimisele järgnev kudede ärritus ja reaktsioon põhjustavad organismi resistentsuse kasvu ühel ajal mitmesuguste infektsioonide vastu. Säärast mitmekülgset resistentsust nimetatakse omandatud mittespetsiifiliseks immuunsuseks.

Omandatud aktiivse immuunsuse tekkimiseks on tarvilik organismi pääsenud võõraste substantside (antigeenide) stimu-

leeriv toime kudedesse, mille tagajärjel muutuvad kudede enesekaitse omadused ja koemahlades ning veres ilmuvad mitmesugused kaitsesubstantsid (antikehad).

XIV peatükk.

## Antigeenid ja antikehad.

Antigeenideks nimetatakse sääraseid aineid, mis, pääsedes elusa looma organismi seedemahlade poolt muutmata kujul parenteraalsel teel (süstituna verre, nahaalusi, seroosõõntesse jne.), stimuleerivad spetsiifiliste antikehade valmistamist. Antikehad on substantsid, mis tekivad looma veres ja koemahlades vastusena parenteraalselt organismi pääsenud antigeeni ärritusele. Antikehad reageerivad *in vitro* ja *in vivo* vastavate antigeenidega ühel või teisel viisil, mida on võimalik jälgida mitmesuguste immuunsusreaktsioonide abil.

Juba ammu oli teada, et loomadelt ja taimedelt saadud natiivsete valkudega immuniseeritud looma veres ja koemahlades leidusid antikehad, mis reageerisid *in vitro* ainult selle valguga, mis stimuleeris antikeha tekkimist. Hiljemini selgus, et säärane immunoloogiline spetsiifilisus oleneb antigeeni keemilisest struktuurist. Uurides seda küsimust loomulikkude ja sünteetiliste antigeenide abil, leidsid Landsteiner ja tema õpilased, et immunoloogiline spetsiifilisus oleneb antigeeni molekulidega seoses olevaist keemilisist gruppidest. Mõjustades natiivseid valke mitmesuguste faktoritega (kuumutamine, hüdrolüüs, autolüüs jne.), või muutes valgu molekulide keemilist struktuuri eriliste keemiliste menetluste abil (nitratsioon, halogenisatsioon, esterifikatsioon jne.), kõrvalduvad või hävivad valgu molekuliga seotud aktiivsed spetsiifilised grupid, mille tagajärjel muutuvad osaliselt valgu antigeensed omadused ja immunoloogiline spetsiifilisus (Pick, Landsteiner jt.). Sääraseid muutunud valke nimetatakse partsiaal-antigeenideks ehk hapteeni-

deks (Landsteiner), kuna muutuseta natiivvalke nimetatakse täisantigeenideks.

Üldiselt liigitatakse antigeenseid substantse mitmesse eri gruppi. Täisantigeenid on kõrge molekulkaaluga ja suure molekulaarse pinnaga ning arvuka aktiivsete spetsiifiliste gruppidega natiivsed proteiinid ja teised proteiini komponenti sisaldavad kolloidid, mis stimuleerivad antikehade tekkimist *in vivo* ja põhjustavad homoloogilise antikehaga mingit spetsiifilist reaktsiooni *in vitro*. Komplekshapteenid on mitmesugused lihtsamate molekulidega ained, mis liituvad homoloogiliste antikehadega ja põhjustavad spetsiifilist reaktsiooni *in vitro*, kuid ei stimuleeri või stimuleerivad nõrgalt antikehade tekkimist *in vivo*, sest neil puudub osa immunoloogilisest aktiivsusest (mikroobide polüsahhariidid jt.). Lihthapteenid on võrdlemisi lihtsa molekulaarse ehitusega ained, millede immunoloogiline spetsiifilisus avaldub selles, et nad liituvad homoloogiliste antikehadega, kuid ei stimuleeri antikehade tekkimist *in vivo* ega põhjusta spetsiifilist reaktsiooni *in vitro*.

Mitmesugused rakud, nagu mikroobid, erütrotsüüdid, organite rakud jne., mis koosnevad väga varieeruvaist aineist, moodustavad keerulise ehitusega liitantigeenide grupi. Nendest on põhjalikumalt uuritud immunoloogiliste reaktsioonide abil kahjuks ainult mõne üksiku mikroobiliigi antigeeni struktuuri, kuid senisaadud tulemused näitavad, et sääraste uurimiste abil on võimalik selgitada immunoloogilisi küsimusi ja liigitada täpsemalt mikroobe (retseptorite analüüs).

Mikroobiraku antigeenide struktuur sõltub mikroobiliigi variatsioonidest. Näiteks sisaldavad *Proteus*'e ja tüüfus-paratüüfuse gruppi kuuluvate bakterite liikuvad (viburitega) vormid sääraseid antigeeni komponente, mis puuduvad samade mikroobide liikumatutel (viburiteta) vormidel. Samuti on teada, et mõned mikroobid (*Eberth. typhosa, Pasteurella, Staphylococcus, Streptococcus* jt.), kasvades agarsöötmel siledate läikivate pesadena (smooth ehk S-vorm), sisaldavad sääraseid antigeenseid komponente, mis puuduvad samadel mikroobidel, kui nad kasvavad variatsioonina agarsöötmel karedate tuhmide pesadena (rough ehk R-vorm).

Mikroobiliigi antigeensed omadused varieeruvad kahtlemata käsikäes uuritava tüve virulentsuse muutustega.

Mikroobide antigeeni struktuuri analüüsimiseks on edukalt kasutatud keemilisi meetodeid. Mõjustades mikroobirakke mitmesuguste reaktiividega (nõrgad happed, eeter, atsetoon jne.), võime nendest eraldada ligikaudu puhtal kujul proteiine, lipoide, neutraalrasvu ja polüsahhariide (eriliselt mikroobikihnudes), mis võimaldab mikroobiraku üksikute komponentide immunoloogiliste omaduste uurimist. Erilist huvi tuntakse viimasel ajal mikroobide polüsahhariidide vastu, mis paistavad mõnel juhul olevat spetsiifilised mitte ainult mikroobiliigile, vaid ka selle variantidele (komplekshapteenid). Avery leidis taimedel (araabia kummis) polüsahhariidi, mis sarnaneb immunoloogiliselt mikroobide polüsahhariididega. Samuti on leitud mitmesuguste bakterite juures Forssmani heterofiilset antigeeni, mis esineb erütrotsüütides ja mõne loomaliigi koerakkudes. Mikroobidest, erütrotsüütidest ja koerakkudest ekstraheeritud lipoidide, samuti ka looma- ja taimerasvade antigeenset toimet on tõestanud mitmed katsed (Much, Bang, Forssman jt.). Olgu mainitud, et rasvainetega on märksa raskem esile kutsuda antikehasid kui valkudega.

Tugevalt stimuleerivad kudesid antikehade valmistamisele mikroobide endo- ja ektotoksiinid, taimede mürgid (fütotoksiinid), seente (*Amanita*) mürgid, loomade mürgid (ussid, mesilased, skorpionid jne.) ja fermendid. Võrdlemisi nõrga stimuleeriva toimega ultraviirused põhjustavad mitmesuguste antikehade tekkimist organismis, kuid nende mikroobide antigeense struktuuri kohta puuduvad ligemad andmed.

Antikehad, mis esinevad immuniseeritud looma veres, on lähedases ühenduses seerumi proteiinidega; nad sadestuvad koos seerumi globuliinidega. Sellest lähtudes on võimalik saada antikehade kontsentreeritud lahuseid, milleks toimetatakse globuliinide sadestamist immuunseerumist keemiliselt $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $Na_2SO_4$, $CO_2$, atsetooni ja alkoholi toimel, või füüsikaliselt dialüüsimise, elektroultrafiltratsiooni ja adsorptsiooni abil. Antikehad inaktiveeruvad samas soojuses, kus denatureeruvad seerumi proteiinid. Vastava antigeeniga sadestatud antikehad on osu-

tunud keemilistel, kolloidkeemilistel ja füüsikalistel uurimistel sarnasteks seerumi globuliinidega. Esialgu on jäänud lahtiseks küsimus, kas antikehad on erilised globuliinid või on nad liitunud seerumi globuliinide mõne fraktsiooniga. Arvamised kalduvad selle poole, et antikehad on seerumi globuliinid, mis omavad erilisi spetsiifilisi keemilisi gruppe. Viimased hõlbustavad antikehade liitumist vastava antigeeniga (Topley ja Wilson). Jälgides antigeeni ja antikeha hulkade vahekordi nende liitumisel, võib mainida, et need vastavad ligikaudu Freundlichi adsorptsiooni isotermi alusel arvestatud väärtustele, mis näitab, et antigeen-antikeha reaktsioonid on adsorptsiooni fenomenid, kuid veel ei ole teada, millistest teguritest oleneb liitunud hulkade vahekord.

Antikehade tekkimine on kahtlemata seoses seerumi proteiinide tekkimisviisiga, kuid nii ühe kui teise mehhanismi kohta puuduvad lähemad andmed. On tõenäone, et organid ja rakud (retikulo-endoteliaalne süsteem), mis kõrvaldavad antigeense omadusega ja inaktiivseid aineid verest ja koemahladest, etendavad olulist osa antikehade tekkimisel. Katsed näitavad, et igasugused toimingud (põrna väljalõikamine, retikulo-endoteliaalsete rakkude blokeerimine või vigastamine x-kiirtega ja raadiumiga jne.), mis halvavad retikulo-endoteliaalse süsteemi tegevust, takistavad osaliselt või pidurdavad täielikult antikehade tekkimist. Koekultuuride abil on õnnestunud tõestada, et histotsüüdid on võimelised valmistama antikehasid, kuid üldiselt võib mainida, et antikehad on erilised globuliinid, mis sünteseeruvad antigeeni juhtival toimel retikulo-endoteliaalsetes rakkudes või kuski mujal, näiteks koemahlades (Breinl ja Haurowitz, Mudd jt.). Vaatamata tekkimiskohale ja -viisile, esinevad antikehad kõige suuremal määral vereseerumis, vähem lümfis, koemahlades, piimas ja teistes sekreetides, välja arvatud seljaaju-vedelik. Peale selle fikseeruvad antikehad mitmesuguste rakkudega, muutes neid tundlikeks vastavale antigeenile.

Jälgides pidevalt antikehade hulka veres pärast antigeeni süstimisi (immuniseerimist) vastavate immunoloogiliste reaktsioonide abil (aglutinatsioon, pretsipitatsioon jne.), võib saada ülevaatliku pildi antikehade tekkimiskäigu kohta. Sääraste uurimiste

tulemused näitavad, et antigeeni esmakordsele süstimisele vastab organism antikehade tekkimisega ainult siis, kui antigeeni hulk ületab igale antigeeniliigile omase *minimaalse annuse*. Suurendades antigeeni esmakordset annust, kasvab ka antikehade hulk veres, kuid mitte proportsionaalselt antigeeni hulgaga, vaid väiksemal määral. Lõpuks võime jõuda antigeeni *maksimaalse* — efektiivse annuseni, mille ületamine ei põhjusta enam antikehade hulga kasvu. Antigeeni *optimaalse* hulga süstimisele järgneb harilikult mõnepäevane (3—6 p.) *sissejuhatusfaas* ehk lõimetusjärk, mille möödudes algab antikehade ilmumine veres. Antikehade hulk kasvab kiiresti, ulatub maksimumini 10—22 p. vältel pärast süstimist, langeb siis alul kiiresti, pärast aeglasemalt kuni teatava tasemeni, mis võib püsima jääda kuude või koguni aastate vältel. Immuniseerimise tagajärjel tekkivate antikehade hulk oleneb organismi individuaalsetest omadustest ja selle harjumusest antikehade valmistamisele, antigeeni omadustest ja kontsentratsioonist (Hartley). Teatud antigeeni hulga immuniseeriv toime on siis suurem, kui me süstime seda loomale lahjendatult suuremas hulgas füsioloogilises söögisoola-lahuses. Väga mürgised antigeenid takistavad antikehade valmistamist. Antikehasid produtseeriv aparaat on võimeline vastama mitmele erinevale, ühel ajal süstitavale antigeenile, kuid säärase ärrituse tagajärjel tekib üldiselt väiksem hulk antikehasid vastavalt üksikutele antigeeni komponentidele, kui iga üksiku komponendi eraldi süstimise korral. Praktilisel immuniseerimisel segatud antigeenidega on tarvilik valida optimaalne hulk igat antigeeni komponenti süstitavas segus.

Esmakordne antigeeni süstimine loomale, kelle veres leiduvad vastavad normaalsed antikehad, põhjustab viimaste hulga ajutist langust, mida nimetatakse *negatiivseks faasiks*. Samuti esineb negatiivne faas varemini immuniseeritud või haigust põdenud loomadel pärast antigeeni suurema hulga süstimist, kuid säärasel korral ilmuvad antikehad negatiivse faasi möödudes kiiremini ja suuremal hulgal, kui pärast esmakordset süstimist. Korduvate süstimiste tagajärjel maksimumini tõusnud antikehade hulk kahaneb märksa aeglasemalt, kui pärast esmakordset süstimist. Üldiselt

võib saada antigeeni väiksemate annuste korduvate süstimiste abil suuremat antikehade hulka veres, kui antigeeni üksiku suure hulga süstimise tagajärjel. Mitmekordsete süstimiste korral näeme, et teatavast silmapilgust hakkab kahanema iga järgneva süstimise efekt, ja lõpuks jõuame vereseerumis esinevate antikehade maksimaalse hulgani (piirtiiter), mida ei suuda tõsta järgnevad süstimised.

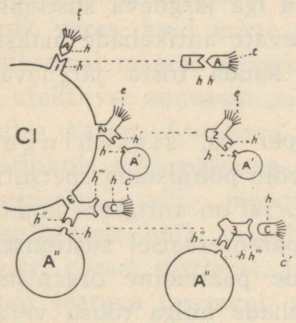
Antigeenide viimine organismi *per os*, sissehingamise või ninasse tilgutamise teel võib põhjustada spetsiifiliste antikehade tekkimist, kuid säärasel korral on antigeeni immuniseeriv efekt märksa nõrgem, kui selle parenteraalsel süstimisel. Mitmesuguste mittespetsiifiliste antigeenide pääsemine organismi võib sageli põhjustada normaalsete antikehade hulga tõusu veres ja mobiliseerida spetsiifilisi antikehasid varemini-immuniseeritud organismis.

Antikehade hulk ja tekkimise kiirus nakkushaiguse korral on väga varieeruv ja oleneb haiguse iseloomust, haigest organismist ning haigust põhjustavast mikroobist. Antikehade kadumine verest ei tähenda veel üldise immuunsuse kadumist. Samuti ei põhjusta antikehade viibimine organismis iga kord selle resistentsust, sest viimane oleneb peale antikehade veel paljudest teistest faktoritest.

Antigeenide ja antikehade vahel toimivate immunoloogiliste reaktsioonide mehhanismi seletamiseks on esitatud mitmed erinevad teooriad, milledest mainime lühidalt ainult neid, mis sobivad didaktiliseks otstarbeks ja mis on leidnud suuremat poolehoidu.

Ehrlich'i (1898—1900) poolt loodud ja tema kaastööliste poolt täiendatud teooria järgi on raku keskosa aatomite grupp tarvilik rakule elamiseks, kuna küljeahelad ehk retseptorid seovad rakku välismaailmaga; nad korraldavad sobiva toidu fikseerimist ja selle assimilatsiooni ning on rakule kaitseks võõraste, ebasobivate ainete vastu. Küljeahelad on iseloomult väga mitmesugused, millest oleneb ka reaktsioonide erinevus. Retseptorite ja raku keskosa vahekorda võib samuti ette kujutada, kui aromaatilistes ühendites bensooltuuma ja mitmesuguste gruppide vahekorda. Küljeahelad ühinevad ainult vastavate, neile sobivate antigeenidega. Seda osa retseptorist, mis keemiliselt ühineb anti-

geeniga, nimetatakse haptofoorseks grupiks. Rakule toiduks kõlvulised ained lähevad pärast retseptoritega ühinemist protoplasmasse ja assimileeruvad. Võõrad antigeenid, mida rakk toiduks ei saa tarvitada, ühinevad küll retseptoritega, kuid vabanevad siis ühes viimasega raku küljest. Vabanenud retseptorite asemele tekib endisest rohkem uusi võõrale antigeenile spetsiifilisi retseptoreid, mis on kokkukõlas Weigert'i bioloogilise seadusega, et iga vigastatud rakk regenereerub ärrituse toimel ja kadumaläinud osa asemele tekib rohkem uut ainet, kui kadumaläinud osa ise oli (hüperregeneratsioon). Suurel arvul tekkinud uued spetsiifilised retseptorid vabanevad rakult ja satuvad organismi mahladesse. Seesuguseid vabalt ringivaid retseptoreid nimetatakse antikehadeks ehk immuunkehadeks. Pääseb immuunsesse organismi vastav antigeen, siis ühineb viimane vabade retseptorite teise aktiivse osaga ehk ergofoorse grupiga, mis teda kahjutuks teevad, enne kui ta kokku puutub elusa rakuga.




64. joon. Cl — rakk. 1 — esimese astme retseptor haptofoorse grupiga *h*. 2 — teise astme retseptor haptofoorse *h'* ja ergofoorse *l* grupiga. 3 — kolmanda astme retseptor kahe haptofoorse grupiga: *h''* — tsütofiilne ja *h'''* — komplementofiilne grupp. A, A', A'' — mitmesugused antigeenid haptofoorse grupiga *h*. A omab veel ergofoorset või toksofoorset gruppi. C — komplement, *h* — haptofoorne ja c' — ergofoorne grupp. (Topley ja Wilsoni järgi.)

Ehrlich'i teooria näeb ette mitut liiki retseptoreid.

1) Esimese järgu retseptoritel, kuhu kuuluvad antitoksiinid ja antifermendid, on ainult üks haptofoorne grupp, mis antigeeniga võib liituda. Ehrlich'i arvates on toksiini molekulil kaks gruppi: mittetoksiline haptofoorne ja toksiline toksofoorne grupp. Toksiini haptofoorne grupp liitub retseptori (antitoksiini) haptofoorse grupiga, mille tagajärjel toksofoorne grupp ei suuda enam mürgist toimet avaldada koerakkudesse.

2) Teise järgu retseptoritel (aglutiniinid ja pretsipitiinid) on haptofoorse grupi kõrval veel ergofoorne grupp. Haptofoorne grupp liitub antigeeniga, kuna ergofoorne grupp oma tegevust avaldab aglutinatsiooni, pretsipitatsiooni jt. reaktsioonide näol.

3) Kolmanda järgu retseptoritel ehk ambotseptoritel on tsütofiilne ja komplementofiilne grupp. Tsütofiilne grupp liitub antigeeniga, kuna komplementofiilne grupp liitub komplemendiga, millele järgneb vastav reaktsioon *(lysis)*. Ambotseptorite hulka kuuluvad hemolüsiinid, tsütolüsiinid, Bordet' antikehad ja opsoniinid (64. joon.).

Vaatamata sellele, et Ehrlich'i keemilise teooria abil on seletatavad paljud immuunsusnähud, ei suuda see siiski vastust anda kõigile immuunsusreaktsioonide puhul kerkivatele küsimustele.

Bordet' teooria (1899, 1903), mis ei poolda harilikkude keemiliste liitumiste korral kehtivate seaduste rakendamist antigeen-antikeha reaktsioonide seletamisel, põhineb peamiselt kolloidide reaktsioonide (adsorptsioon jt.) puhul kehtivail füüsikalisil seadusil.

Madsen ja Arrhenius ei olnud nõus Ehrlich'iga, et antigeeni ja antikeha liitumine on sarnane tugevate hapete ja leeliste liitumisega. Nemad oletasid, et antigeen ja spetsiifiline antikeha liituvad nagu nõrgad alused ($NH_3$) ja nõrgad happed $H_3BO_3$, kus reaktsioon on reversiibelne ja kus saadud ühendist on mõnikord võimalik mõlemaid osi (antigeeni ja antikeha) teineteisest lahutada.

Võib mainida, et praegusel ajal leiavad osaliselt kõik mainitud teooriad rakendamist antigeen-antikeha reaktsioonide mehhanismi seletamisel.

## XV peatükk.

## Pretsipitatsioonreaktsioon.

Kui võtame *Eberth. typhosa* või mõne teise mikroobi vanema kultuuri puljongis, kurname selle läbi bakterite filtri ja lisame filtraadile juurde tüüfust põdenud inimese vereseerumit (immuun-

seerum), siis tekivad segus helbed ja väikesed terakesed, mis aja jooksul sadestuvad. Seesugust nähtust pani esimesena tähele Kraus 1897. a. ja nimetas seda pretsipitatsioon- ehk flokulatsioonreaktsiooniks. Sadet, mis selle reaktsiooni puhul tekib, nimetatakse pretsipitaadiks, antikeha, mis reaktsiooni esile kutsub, pretsipitiiniks, ja antigeeni, mis stimuleerib viimase tekkimist, nimetatakse pretsipitinogeeniks. Hiljemini selgus, et pretsipitiinid tekivad veres nii mikroobide, vereseerumi, taimede kui ka loomade valkude, puhastatud kristalse kanamunavalgu, bakteriaalsete polüsahhariidide ja ka mõnede sünteetiliste antigeenide süstimise tagajärjel.

Pretsipitatsioonreaktsiooni kasutatakse valkude diferentsimiseks, näit. kohtulikus arstiteaduses vereplekkide uurimisel, või toiduainete tervishoiulistel uurimistel. Hiljemini hakati eduga tarvitama seda reaktsiooni nakkushaiguste diagnoosimisel.

Spetsiifiliste pretsipitiinide saamiseks peab pretsipitinogeeni loomale süstima parenteraalselt. Pretsipitiini tekib veres väiksemal hulgal, kui me noortele loomadele, või 2—3 p. nälginud vanadele loomadele antigeeni sisse söödame. Nagu näha, pääseb antigeen noorte ja nälgivate loomade soolte seinte läbi kergemalt ja vähemuutunud kujul verre. Pretsipitiine leidub ka normaalses vereseerumis (normaalpretsipitiinid), kuid need on vähem spetsiifilised immuunpretsipitiinidest.

Soojuses, mis ulatub üle 60° C, kaotavad pretsipitiinid oma pretsipiteeriva toime, kuna antigeeniga fikseerumise omadus neil säilib (pretsipitoidid). Pretsipitiinide toimet vähendavad happed, leelised, formaliin, pepsiin ja trüpsiin. Spetsiifiliste pretsipitiinide kõrval leiduvad immuniseeritud looma veres ka grupi- ehk kopretsipitiinid. Grupipretsipitatsioonreaktsiooni üle selgusele jõudmiseks tarvitatakse pretsipitiinide absorptsioonreaktsiooni. Näiteks, kui inimese vereseerumiga immuniseeritud jänese seerum pretsipiteerib ka ahvi vereseerumit, siis võetakse immuunseerum, lisatakse juurde $^1/_{10}$ osa ahvi seerumit, lastakse seista, tsentrifuugitakse ja filtritakse. Seda korratakse vähemalt kaks korda. Säärasel teel saadud filtraat pretsipiteerib spetsiifiliselt ainult inimeseseerumit. Tuleb silmas pidada, et pretsipi-

tiinid avaldavad kõige spetsiifilisemat toimet nende loomade organismist saadud valkudele, kes üksteisest fülogeneetiliselt kaugel seisavad. Pretsipiteeriva seerumi valmistamine on sageli seotud suurte raskustega, sest iga loom ei anna head pretsipitiini ja paljud surevad anafülaksia tagajärjel, seepärast peab ühel ajal mitut looma immuniseerima (5—10 looma).

Vereseerumiga ja teiste valgulahustega immuniseerimiseks võetakse noored, terved ja hästi toidetud kodujänesed (valged on paremad). Turult ostetud loomad ei kõlba seks otstarbeks, sest võib juhtuda, et neid juba varemini mõnesugusteks katseteks on tarvitatud. Immuniseerimise kestel peab looma hästi toitma ja puhtas, soojas ruumis hoidma. Antigeeni süstitakse jänesele kõrva-tõmbsoonde (1—2 $cm^3$) või kõhuõõnde (5—10 $cm^3$). Süstima peab üldiselt 4—5 korda, iga 2—3 päeva järel. 7—10 päeva pärast viimast süstimist võetakse kõrvast verd (2—3 $cm^3$) ja proovitakse seerumi pretsipiteerivat toimet. Selleks lahjendatakse antigeeni 0,85% NaCl-lahusega 1:500, 1:1000, 1:5000, 1:10 000 ja 1:20 000; igast lahjendist võetakse puhtasse, kuiva, kitsasse katsuklaasi 0,9 $cm^3$ ja lisandatakse igaühte 0,1 $cm^3$ immuunseerumit (pretsipitiini), lastes seerumit pikkamisi klaasiseina pidi sisse joosta (mitte loksutada). Klaaside taha asetatakse tükk musta paberit, et pretsipitaat oleks paremini näha. Pretsipitaat tekib kas silmapilkselt või 3—5 minuti jooksul, kui immuunseerum on tugeva toimega ja antigeen kergesti flokuleeruv. Samal ajal proovitakse ka immuunseerumi spetsiifilisust, korrates sama reaktsiooni mitmesuguste antigeenidega ja füsioloogilise lahusega. Tekib sade ainult selles klaasis, kus on immuniseerimiseks tarvitatud antigeen, siis võib pretsipiteerivat seerumit spetsiifiliseks pidada. Näitavad eelproovid, et immuunseerum sisaldab küllaldaselt pretsipitiini, mis on spetsiifiline, siis lastakse jänest 12—24 tundi nälgida (ilma vee ja söögita), et selgemat seerumit saada, narkotiseeritakse, vabastatakse aseptiliselt *art. carotis;* veri kogutakse steriilsesse silindrisse ja hoitakse 24 tundi jääkapis. Selle järel kogutakse seerum klaaspipettidesse ja mõlemad pipetiotsad joodetakse tulel kinni. Pipettides peab seerum seisma mõne päeva. Siis valatakse seerum ampullidesse ja säilitatakse pimedas külmas kohas.

Kohtulikus arstiteaduses tarvitatakse seda reaktsiooni verelaikude, spermalaikude jne. uurimiseks, kus kõlvulise ekstrakti (antigeeni) saamine on sageli seotud suurte raskustega. Riietest peab välja lõikama need kohad, kus leidub vere- või spermalaike. Need osad lõigatakse puruks ja hoitakse 12—24 tunni jooksul toasoojuses või jääkapis 0,85% NaCl-lahuses. On uuritavad laigud vanad, siis lisandatakse füsioloogilisele lahusele 0,25% soodat. Kui aine on kuivanud puu- või raudasjade külge, siis tuleb see steriilse terariistaga ära kaapida ja ülaltähendatud lahustes leotada. Saadud ekstrakti peab hoolega filtrima (tarbe korral mikrofiltratsioon), et ta selge oleks. Reaktsiooniks peab tarvitama ekstrakti, mis sisaldab tarviliku hulga valku (1 : 1000). Seda võib ligikaudu kindlaks määrata järgmiselt: ekstraktile lisandatakse üks tilk 25% $NHO_3$ ja keedetakse; kui lahuses on valku parajal määral, siis muutub ekstrakt opalestseeruvalt sogaseks. Suurema sademe tekkimise korral peab ekstrakti lahjendama.

Kui on tarvis kindlaks teha, kas pesul leitud verepleki sisaldavad inimese verd või mitte, toimetatakse katse Uhlenhuth'i ja Weidanz'i järgi. Kitsastesse ja täiesti puhtatesse katsuklaasidesse võetakse:

Katsuklaas nr. 1: uuritava verepleki ekstrakti 0,9 + 0,1 inimvalgu antiseerumit — sade.

„ nr. 2: uuritava verepleki ekstrakti 0,9 + 0,1 jänese normaalseerumit — selge.

„ nr. 3: inimese seerumit (1 : 1000) 0,9 + 0,1 inimvalgu antiseerumit — sade.

„ nr. 4: heteroloogilist seerumit (1 : 1000) 0,9 + 0,1 inimvalgu antiseerumit — selge.

„ nr. 5: 0,85% NaCl-lahust 0,9 + 0,1 inimvalgu antiseerumit — selge.

„ nr. 6: substraadi ekstrakti 0,9 + 0,1 inimvalgu antiseerumit — selge.

Katsuklaasid hoitakse toasoojuses, kus sade peab ilmuma 2—5 min. vältel ja on täielik 10—20 min. möödumisel.

Sellest katsest näeme, et klaasis nr. 1 asub sama veri, mis on klaasis nr. 3, see tähendab, inimese veri.

Kui uuritavat materjali on vähe, siis imetakse kapillaarse klaastoru sisse 1—2 tilka verepleki ekstrakti ja 1—2 tilka immuunseerumit ja toru otsad suletakse vahaga. Pretsipitaat tekib kõige kiiremini vedelikkude kokkupuutumise kohal (valkjas sogane rõngas).

Kui immuniseerida jänest mikroobide ekstraktiga, siis saab veres mikroobile vastavad pretsipitiinid. Katseks lisandatakse teatavale hulgale steriilsele mikroobide ekstraktile kord-korralt vähenev hulk (0,5; 0,3; 0,2; 0,1; 0,05) immuunseerumit ja katsuklaase hoitakse 37° C t°-s kuni 24 tundi.

Ascoli soovitas pretsipitatsiooniks nn. rõnga proovi: 6 cm kõrguse ja 0,5 cm läbimõõduga katsuklaasi võetakse immuunseerumit, lisandatakse kapillaarpipetiga ettevaatlikult antigeeni peale ja lastakse seista. Vedelikkude kokkupuute-kohal tekib pretsipitaadirõngas. Pretsipitatsioonreaktsiooni on eduga tarvitatud mõnede haiguste (*malleus, anthrax, meningitis cerebrosp. epidemica, echinococcus*) diagnoosimisel.

Pretsipitatsioonreaktsiooni tarvitatakse toiduainete võltsimise kindlaksmääramisel. Selleks peavad tagavaraks olema immunseerumid igasuguste lihaliikide tarvis. Lihaekstrakti valmistamiseks võetakse tükk liha (värske, külmunud, suitsutatud või soolatud) või lihaprodukti, lõigatakse puruks, lisandatakse (1 : 50 värskele, 1 : 25 soola- või suitsulihale) 0,85% NaCl-lahust, mis sisaldab 0,5% *acid. carbolic.* Segu hoitakse 24 tundi jääkapis, loksutatakse sageli, lõpuks filtritakse ja filtraati tarvitatakse reaktsiooniks. Lähedases suguluses seisvate loomade liha on pretsipitatsioonreaktsiooni abil raske diferentsida ja saadud resultaadid on sageli kahtlased. Huvitav on, et kõikide loomade silmaläätsevalgud reageerivad ühteviisi mõne looma läätsevalguga saadud pretsipitiiniga. Samuti näitab pretsipitatsioonreaktsioon, et silmaläätsevalgud erinevad sama looma vere ja teiste kudede valkudest.

Uurimised näitavad, et siberi katku, sigade punatõve, tuberkuloosi, paratüüfuse jt. immuunseerum annab pretsipitatsioonreaktsiooni nende haigete organitest keetmise teel saadud ekstraktiga,

kuna teised antigeenid keetmisel seesuguse omaduse harilikult kaotavad. Keetmisel saadud antigeeni nimetatakse termostabiilseks bakterite antigeeniks ja reaktsiooni ennast nimetatakse termopretsipitatsiooniks. Seesuguse antigeeni valmistamiseks võetakse tükk looma elundit, lõigutakse peeneks, lisandatakse 5—10 korda suurem hulk 0,85% NaCl-lahust, keedetakse umbes 2 minuti jooksul, filtritakse läbi paberi või asbesti ja filtraati tarvitatakse pretsipitatsioonreaktsiooniks.

Pretsipitatsioon ehk flokulatsioon toimub kõige kiiremini ja pretsipitaadi hulk on kõige silmapaistvam siis, kui antigeen ja antikeha segatakse optimaalses vahekorras. Kui näiteks võtta mitmesse katsuklaasi teatav hulk pretsipiteerivat seerumit lahjendatult 1 : 20 ja lisandada igale katsuklaasile sama hulk antigeeni mitmesugustes lahjendustes, siis võib leida näiteks, et flokulatsioon tekib kõige varemini ja pretsipitaat on kõige selgemini nähtav selles katsuklaasis, millele lisati antigeeni lahjendatult 1 : 320. Säärasel korral on antigeeni ja antikeha optimaalne vahekord 1 : 16. Kui korrata sama katset, võttes antiseerumi teised lahjendused (1 : 40, 1 : 80 jne.), siis jääb ikka püsima ligikaudu sama optimaalne vahekord 1 : 16. Et eelmisis katseis oli antikeha hulk konstantne, siis nimetatakse säärast vahekorda konstant-antikeha optimaalseks vahekorraks (Dean ja Webb). Korraldame samu katseid konstantse antigeeni lahjendusega, näiteks 1 : 100, muutes antiseerumi lahjendusi, siis leiame, et ka siin tekib optimaalne flokulatsioon antigeeni ja antikeha teatava konstantse vahekorra juures, mida nimetatakse konstant-antigeeni optimaalseks vahekorraks. Viimane erineb tunduvalt konstant-antikeha optimaalsest vahekorrast. Täpsemad uurimised näitavad, et antigeen ja antikeha võivad liituda ja anda pretsipitaati väga varieeruvais proportsioones, olenedes nende kontsentratsioonist reageerivais lahuseis, kusjuures ainult üks proportsioon põhjustab optimaalse flokulatsiooni. Antigeeni või antikeha üleküllus pidurdab flokulatsiooni tekkimist.

Pretsipitatsiooni optimaalse toimumise eelduseks on elektrolüütide (soolade) optimaalse hulga esinemine reageerivates segudes. Lähtudes seisukohalt, et antigeen ja antikeha on hüdrofiil-

sed kolloidid, siis kannavad antigeeni ja antikeha molekulid enesega liitunult vee molekuli, mis neid hoiab lahuses. Elektrolüütide toimel muutub nõrgemaks antigeeni ja antikeha molekulide või antigeen-antikeha kompleksi elektrilaeng, mille tagajärjel muutuvad antigeen ja antikeha hüdrofoobseiks kolloideks, kaotades afiinsuse vee molekulile. Üldiselt väidetakse, et antigeen-antikeha kompleks on soolatundlik. Flokulatsiooni tekkimist seletatakse sellega, et antigeeni osakesed katavad antikeha globuliiniga, mistõttu hüdrofiilne antikeha muutub hüdrofoobseks kolloidiks. Mainitud muutuste tõttu kasvab antigeeni ja antikeha osakeste liginemistung; liitudes moodustavad nad kord-korralt suuremaid agregaate, mis lõpuks sadestuvad. Optimaalseks spetsiifiliseks flokulatsiooniks on peale mainitud faktorite tarvilik optimaalne temperatuur ja kontakti soodustav osakeste liikumine antigeen-antikeha segus, mida võib saavutada katsuklaaside aeglase kallutamise abil või nende asetamisega veevanni, segu pinnaga veidi pealpool veepinda.

XVI peatükk.

## Aglutinatsioonreaktsioon.

Gruber ja Durham kirjeldasid 1896. a. tähelepanekut, kus mõne bakteri suspensiooni korduva süstimise teel immuniseeritud looma vereseerumis, millele lisandati immuniseerimiseks kasutatud baktereid, tekkisid *in vitro* helbed või terakesed, mis hiljemini põhja langesid. Widal hakkas samal aastal esimesena tarvitama mainitud fenomeni praktiliselt *typhus abdominalis*'e diagnoosimisel, kasutades reaktsiooniks haigelt saadud vereseerumit. Säärast bakterite kokkukleepumist hakati nimetama aglutinatsiooniks ehk Gruber-Widal'i reaktsiooniks ja spetsiifilist antikeha, mis seda reaktsiooni põhjustas, aglutiniiniks. Hiljemini selgus, et ka mitmesugused teised rakud, näit. pärmid, võõrad erütrotsüüdid jne., süsti-

tuina looma organismi parenteraalselt, stimuleerivad spetsiifiliste aglutiniinide tekkimist. Uurides inimeste ja loomade normaalseerumeid selgus, et ka nendes esinevad sageli varieeruval hulgal mitmesuguseid mikroobe ja võõraid punaliblesid aglutineerivad substantsid — normaalaglutiniinid. Üldiselt on normaalaglutiniinid vähem spetsiifilised ja vähem resistentsed kuumusele (hävivad 55—60° C t°-s), kui immuunaglutiniinid. Termostabiilsed aglutiniinid kannatavad 62—65° C t° 1—2 t. vältel, termolabiilsed aglutiniinid kaotavad oma toimivuse 60—62° C t°-s. Aglutiniinid on resistentsed kuivamisele ja roiskumisele. Trüpsiin, pepsiin ja papaiotiin hävitavad aglutiniini 24 tunni jooksul. Happed ja leelised nõrgestavad seerumi aglutineerivat omadust.

Immuniseeritud loomadel leidub aglutiniine kõige rohkem vereseerumis, piimas (kolostrumis), koemahlades, ekssudaatides, vähem silmavees ja uriinis, ainult piiratud määral süljes ja harilikult ei leidu neid seljaajavedelikus. Aglutiniinid kanduvad passiivselt ema organismist lootele, kuid kaovad sealt kiiresti, kui lõpeb ülekandumine. Samuti on võimalik aglutiniinide ülekandumine lapse organismi rinnapiimaga; sealt kaovad nad lühikese aja vältel pärast nende kadumist rinnapiimast.

Kunstlikuks immuniseerimiseks süstitakse jänesele või hobusele 3—4 korda iga 8—10 päeva järel elusate, nõrgestatud või surmatud mikroobide suspensiooni kord-korralt suuremal hulgal verre või kõhuõõnde. 8—10 päeva pärast viimast süstimist võetakse verd seerumi saamiseks või tapetakse loom, kui tarvis on rohkem seerumit. Steriilselt kogutud vereseerum kuivatatakse tarbe korral vaakuumaparaadis, kuiv pulber mahutatakse klaasampullidesse ja hoitakse kinnijoodetult pimedas külmas kohas. Kuiva seerumi aglutineeriv toime püsib 1—2 aastat. Vedelat inaktiveeritud seerumit võib pikema aja jooksul alal hoida kinnijoodetud ampullides. Iga loom ei anna head aglutineerivat seerumit, seepärast on soovitav süstida mitut looma ja proovida verd aglutiniinide suhtes enne lõplikku vere võtmist. Ainult kõrge tiitriga (1:10 000—1:100 000) seerumid on väärtuslikud. Ühed mikroobid *(Eberth. typhosa)* tekitavad suuremal määral aglutiniini,

kuna teised (kokid ja *Escher. coli)* aglutiniini tiitri ainult 1:500—1:1000 tõstavad.

Immuniseeritud looma vereseerumis võib leida spetsiifiliste aglutiniinide kõrval veel sääraseid aglutiniine, mis aglutineerivad peale immuniseerimiseks tarvitatud mikroobide veel teisi mikroobe. Seesuguseid aglutiniine nimetatakse kaasaglutiniinideks (grupiaglutiniinid, koaglutiniinid), kuna spetsiifilisi aglutiniine nimetatakse peaaglutiniinideks. Durham seletab kaasaglutinatsiooni sellega, et iga aglutinogeen (mikroob) koosneb mitmest komponendist. Kui kahel aglutinogeenil on mõned komponendid sarnased, siis saame nendega immuniseerimisel erinevate peaaglutiniinide kõrval veel kaasaglutiniine. Näiteks, kui üks mikroob I sisaldab a, b, c, d aglutinogeene, siis esinevad selle mikroobiga immuniseeritud looma vereseerumis A, B, C, D aglutiniinid, ja kui teine mikroob II sisaldab c, d, e, f aglutinogeeni, siis esinevad vastavas immuunseerumis C, D, E, F aglutiniinid. Mõlemad mikroobid sisaldavad ühiseid c, d antigeeni komponente ja mõlemad seerumid sisaldavad nendele komponentidele vastavaid C, D aglutiniine, mistõttu mikroob I ja mikroob II aglutineeruvad mõlema seerumi toimel ja uuritavad mikroobid paistavad identsetena. Korraldades Castellani poolt soovitatud antikehade absorptsioonkatset ristamisi (mikroob I + seerum II ja mikroob II + seerum I), absorbeerib mikroob I ainult C, D aglutiniinid, jättes vabaks E, F aglutiniinid ja mikroob II absorbeerib C, D aglutiniinid, jättes vabaks A, B aglutiniinid. Vabaks jäänud aglutiniinid põhjustavad ainult selle mikroobi aglutineerumist, mis sisaldab vastavaid antigeeni komponente. Sellest näeme, et mikroob I ja II ei ole identse antigeense struktuuriga. Mikroobide diferentsimine absorptsioonkatse abil on märksa keerulisem ja vajab kvantitatiivset määramismeetodit, kui uuritavad mikroobid sisaldavad sarnaseid antigeenikomponente erineval hulgal (*Br. melitensis* ja *Br. abortus*). Kaasaglutiniinid tekivad sageli veres nakkushaigust põdevatel inimestel ja loomadel ja segavad haiguse diagnoosimist aglutinatsioonreaktsiooni abil.

Organismist isoleeritud mikroob, näiteks *Escher. coli* kõhutüüfuse-haige roojast, aglutineerub vahel haige seerumi toimel

samuti või veel paremini kui haiguse tekitaja *Eberth. typhosa*. Säärast mikroobide omadust nimetatakse para-aglutinatsiooniks. Mikroob kaotab seesuguse omaduse, kui teda pikema aja jooksul kasvatada kunstlikus söötmes. Sageli näeme, et värskelt organismist (*Eberth. typhosa*) või veest (*V. comma*) isoleeritud mikroobid halvasti aglutineeruvad. Kasvatame aga neid pikema aja jooksul kunstlikul söötmel, siis võivad nad hästi aglutineeruda. Mürkainete viibimine söötmes (happed, leelised ja küllastatud soolalahused) vähendab mikroobide aglutineerumist. Mikroobide sage ümberkülvamine, merisigade organismist läbiviimine (passaažid), söötmetele mitmesuguste ainete juurdelisamine (laktoos, glükoos ja paljud teised süsivesikud) ja sümbiootiline kasv võivad tõsta mikroobi aglutineeruvat omadust.

Segades spetsiifilist aglutineerivat seerumit vastava mikroobisuspensiooniga, hakkavad mikroobid absorbeerima spetsiifilist aglutiniini, millele järgneb vastavais tingimusis mikroobide aglutineerumine. Absorbeeritava aglutiniini hulk (absorptsioonikoefitsient) on varieeruv ja oleneb seerumi liigist ja lahjendusest, mikroobide hulgast, segu pH-st, elektrolüütidest ja temperatuurist. Absorbeeritav aglutiniinide hulk ei kasva proportsionaalselt juurdelisatud mikroobide hulgaga. Kui näiteks teatav hulk mikroobe absorbeerib teatava hulga aglutiniini, siis absorbeerib kahekordne mikroobide hulk palju vähem kui kahekordse hulga aglutiniini.

Aglutiniinide absorbeerimine mikroobide poolt võib toimuda elektrolüütidest vabas miljöös, kuid mikroobide aglutineerumiseks on tarvilikud mitmesugused elektrolüüdid (NaCl, KCl, $NH_4Cl$, NaBr jne.). Mikroobid kannavad neutraalses, madala kontsentratsiooniga soolalahuses negatiivset elektrilaengut ja iga faktor, mis kahandab pinnalaengu potentsiaali, suurendab mikroobide liginemise ja kokkukleepuvuse tendentsi. Kui lisame mikroobide suspensioonile mitmesuguseid katioone või vähendame pH, siis kahaneb negatiivne laeng ja kasvab mikroobide aglutineeruvus. Mikroobide aglutineerumist kiirendab peale elektrolüütide ka glükoosi, galaktoosi, maltoosi ja asparagiini lisandamine aglutiniinmikroobide segule. Suspensiooni pH piir ehk isoelektriline punkt, kus algab Michaelise happeaglutinatsioon, on varieeruv

ja oleneb mikroobiliigist. Paljudel mikroobidel on see pH 3,0 naabruses (Topley ja Wilson). Mõned mikroobid (*C. diphteriae, Eb. typhosa, Esch. coli, Shig. dysenteriae, Streptococcus* jt.) valmistavad kasvades suhkrut sisaldavas vedelas söötmes hapet ja aglutineeruvad ise selle happe toimel (käärimisaglutinatsioon). Lisandades mikroobide suspensioonile sääraseid katioone (Ni, Pb, Cu, Hg soolad), mis nõrga kontsentratsiooni puhul põhjustavad mikroobi pinnalaengu tugevat kahanemist, võib tekkida soola-aglutinatsioon. Harilikult hüdrofiilsed mikroobid muutuvad spetsiifilise aglutiniini toimel hüdrofoobseks ja aglutineeruvad juba nõrga kontsentratsiooniga elektrolüütide lahuses (NaCl, $Na_2SO_4$, $MgSO_4$ jt.). Üldiselt on tuntud arvamine, et aglutinatsiooni korral mikroob kattub denatureeritud globuliiniga, mis põhjustab muutust soolade kontsentratsioonis ja pH väärtuses mikroobi pinnal, mille tõttu mikroobid aglutineeruvad.

Mittespetsiifilist aglutinatsiooni põhjustavad veel väga mitmesugused keemilised substantsid: formaliin, kiniinisoolade lahused ja mitmesuguste värvainete (safraniin, krüsoidiin jne.) lahused. Mõned mikroobiliigid ja mõned tüved annavad seevõrra labiilse suspensiooni, et mikroobid aglutineeruvad juba 0,85% NaCl lahuses (spontaanaglutinatsioon). Säärase omaduse kaotavad mikroobid harilikult 80° C soojendamise järel.

Spetsiifilise aglutinatsiooni kiiremaks toimumiseks on tarvilik mikroobide suspensiooni optimaalne kontsentratsioon, aglutiniinide küllalt kõrge kontsentratsioon ja optimaalne temperatuur: 37° C enamikule mikroobidele, mõnele mikroobiliigile 50—55° C või toatemperatuur. Kui võtta mitmesse katsuklaasi konstantne hulk võimalikult nõrga kontsentratsiooniga mikroobide suspensiooni ja lisandada kord-korralt lahjemat spetsiifilist aglutineerivat seerumit, siis võib sageli näha, et antikeha (aglutiniini) kõrgem kontsentratsioon ei tekita aglutinatsiooni, kuna see aga tekib märksa rohkem lahjendatud seerumi toimel. Säärast nähtu nimetatakse pro-zooniks ehk pidurdus-fenomeniks. Mainitud omaduse kaotab värske immuunseerum harilikult 2- kuni 3-päevase seismise või 56° C soojendamise tagajärjel (Heuer, Duncan jt.).

Juba ammu pandi tähele (Felix, Olitzki, Pijper jt.), et

sigade koolera, proteus X ja tüüfus-paratüüfuse gruppi kuuluvate bakterite tüvede liikuvad H-vormid ja mitteliikuvad O-vormid sisaldavad kaht erinevat aglutinogeeni, mis immuniseerimisel valmistavad organismis kaht erinevat aglutiniini. H-vormi viburiline antigeen produtseerib aglutiniini, mille toimel vastavad (homoloogsed) mikroobid kiiresti kokku kleepuvad ja suspensioonis suuri helbeid tekitavad; viimased langevad kiiresti põhja, andes mahuka, loksutamisel kergelt homogeniseeruva sademe (suurehelbeline H-aglutinatsioon). O-vormi somaatilise antigeeni poolt valmistatud aglutiniin kutsub aeglaselt esile väikesed, kompaktsed terakesed, mis ka aeglaselt põhja langevad ja klaasile külgneva, loksutamise tagajärjel raskelt homogeniseeruva sademe moodustavad (peeneteraline O-aglutinatsioon). O-antigeen (retseptorid) on termostabiilne ja kannatab kuumutamist 100° C t°-s, kuna H-antigeen (retseptorid) on termolabiilne ja hävib kuumutamise tagajärjel.

Tüüfus-paratüüfuse gruppi kuuluvatel mikroobidel on termolabiilsed H-retseptorid spetsiifilised, kuna termostabiilsetest O-retseptoritest on ainult pearetseptorid spetsiifilised, sest kõrvalretseptorid võivad olla ühised paljudele mikroobiliikidele. Proteux X tüvede juures on mainitud retseptorite spetsiifilisus otse vastupidine. Tüüfus-paratüüfuse grupi tüvede H-retseptorid on võrdlemisi resistentsed.

Puhta O-aglutiniini saamiseks peab loomale süstima 3 korda veenisisesi 2 t. vältel 100° C t°-s kuumutatud või 96% alkoholiga mõjustatud mikroobe. Suurehelbelise H-aglutiniini saamiseks immuniseeritakse looma 45 min. vältel 60° C t°-s kuumutatud mikroobide suspensiooniga.

Kasvades agarsöötmel, millele on lisandatud desinfitseerivaid aineid (*acid. carbolic.* 2—3 $cm^3$ 5% lahust $100^3$ agarile, soolhapet, sublimaati jne.), samuti ka toiteainetevaesel (näljaagar) või kuivanud agaril, kaotavad mikroobid enamiku H-retseptoritest, kuna püsima jäävad O-retseptorid.

Jälgides mikroskoobi abil aglutinatsioonreaktsiooni paistab, et H-seerumite toimel tekkinud helbed ei liigu, sest mikroobid on

viburitega kokku seotud, kuna O-aglutinatsiooni korral jääb osa vibureid vabaks ja üksikud terad võivad liikuda.

Võrreldes mitmesugustelt loomadelt ja mitmesuguse immuniseerimismeetodiga saadud aglutiniine, on märgata erinevust nende liitumise kiiruses, täielikkuses ja püsivuses vastavate mikroobidega (aglutiniinide aviidsus). Soolavabas destilleeritud vees ja 10% roosuhkru lahuses vabaneb 37—54° C t°-s osa aglutiniine mikroobest (dissotsiatsioon), kuna osa neist jääb antigeeniga liitunuks.

Aglutineerumisvõime suhtes jagavad Nicolle ja Trenell mikroobid kolme gruppi: 1) hästi aglutineeruvad mikroobid, näit. tüüfus-paratüüfus-coli gruppi kuuluvad mikroobid, *Shig. dysenteriae, Vibrio comma, Proteus, Pseudomonas aeruginosa* jt.); 2) nõrgalt aglutineeruvad mikroobid, näit. *C. diphtheriae, Bac. anthracis, Cl. tetani, M. tuberculosis*, mitmesugused kokid, pärmid jt.; 3) väga nõrgalt või ainult kontsentreeritud seerumis 1:1 osaliselt aglutineeruvad mikroobid, näit. *Klebsiella pneumoniae* ja teised limakihnudega batsillid.

Kui lisandada hästi lahjendatud aglutineerivale seerumile või aglutiniinidest vaesele (lahjendatud) tsitraatverele vähesel hulgal homoloogseid mikroobe ja hoida segu 8—10 tundi 37° C t°-s või 24 t. toatemperatuuris, siis võib näha segust valmistatud värvitud preparaadis niidina kokkukleepunud mikroobe või nendest niitidest moodustunud võrku ja kerakesi (niitreaktsioon). Nähtavasti ei olene see fenomen ainult sigimisel otstega kokku jäänud mikroobidest, vaid siin on tegemist erilaadse aglutinatsiooniga.

Aglutinatsioonreaktsiooniks on tarvilik mikroobide ühtlane ja püsiv suspensioon, mille saamine on mõnel juhul seotud tehniliste raskustega. Mõned mikroobiliigid kasvavad puljongis ühtlase suspensioonina (*Eb. typhosa, Salmonella, Shigella dysenteriae, Escher. coli* jne.), seepärast võib sääraste mikroobide värsket (24 t.) puljongkultuuri tarvitada aglutinatsioonreaktsiooniks. Puljongkultuur ei anna aga enamiku mikroobidega ühtlast suspensiooni, seepärast kasutatakse harilikult suspensiooni saamiseks

18—24 tunni vanust agarkultuuri. Homogeense suspensiooni valmistamiseks võetakse katsuklaasi 0,85% NaCl-lahust, plaatinaaasaga võetakse agari pinnalt mikroobide kultuuri, hõõrutakse laiali veidi ülalpool füsioloogilise lahuse pinda klaasiseinale ja uhetakse sealt suspensiooni katsuklaasi liigutamise abil. Homogeense suspensiooni valmistamiseks võib põikagari kultuurile peale valada 0,85% NaCl-lahust, lasta seista, loksutades korduvalt, kuni vabanevad mikroobid, siis valada suspensioon teise klaasi, loksutada tugevalt ja tarbe korral kurnata läbi paberkurna. Aglutinatsiooniks kasutatavaid kultuure peab enne hoolega kontrollima, et nad oleksid hästi aglutineeruvad ega annaks spontaanaglutinatsiooni ning ei aglutineeruks normaalseerumitega.

Elusate mikroobide asemel võib aglutinatsioonreaktsiooniks kasutada mitmel viisil surmatud mikroobide suspensiooni (*acid. carbolicum, chloroform,* formaliin, kuumutamine jne.). Mõnede mikroobiliikide (tüüfus-paratüüfuse grupp) surmamiseks on osutunud kõige soodsamaks formaliin: 24 t. vanuse agarkultuuri pinnalt 0,85% NaCl-lahusega ärauhetud mikroobide suspensioonile lisandatakse 0,25% formaliini, loksutatakse hästi segi, lastakse seista kuni 2 p. 37° C t°-s ja tarbe korral kurnatakse läbi tiheda paberkurna. Külmas ja pimedas kohas püsib suspensioon $^1/_2$—1 a. kõlvulisena, kuid surmatud mikroobide suspensiooni kõlvulisust peab kontrollima iga 1—2 kuu järel. Sageli on tarvilik kasutada surmatud mikroobe aglutinatsiooniks, sest siis puuduvad või on maha surutud mittespetsiifiline kaasaglutinatsioon ja reaktsiooni pidurdused; suspensioon püsib kaua ja selle tarvitamine ei ole seotud infektsiooniohuga. Paljudel juhtudel on aglutinatsioonreaktsioon tundlikum elusate mikroobidega, seepärast on tarvilik toimetada väiksemagi kahtluse korral reaktsiooni rööbiti elusate ja surmatud mikroobidega. Uuemal ajal katsutakse leida igale mikroobiliigile vastavat optimaalset standardsuspensiooni ja optimaalseid reaktsioonitingimusi, mis võimaldaksid ühtlaste tulemuste saavutamist.

Aglutinatsioonreaktsiooni tarvitatakse harilikult kaheks otstarbeks: 1) tuntud spetsiifilise seerumi abil uuritavate mikroobide diferentsimiseks ja 2) tuntud mikroobide abil spetsiifilise agluti-

niini avastamiseks veres või mõnes teises aines. Mõlemal korral võib kasutada mikroskoobilist või makroskoobilist reaktsiooni, kuid viimase tulemused on alati täpsemad.

### Aglutinatsioonreaktsiooni metoodika.

Kui tahetakse teada, kas uuritav mikroob üldse aglutineerub mõnes kõrgeväärtuslikus immuunseerumis, siis tehakse alul orienteerumise eelproov. Selleks võetakse esemeklaasile üks suur tilk 1:100 lahjendatud immuunseerumit, kontrolliks eraldi üks tilk 1 : 100 lahjendatud normaalseerumit ja üks tilk 0,85% NaCl-lahust. Plaatinanõela otsaga võetakse värskest uuritavast kultuurist või pesast mikroobe ja hõõrutakse igale tilgale juurde homogeense, mitte väga tiheda suspensiooni tekkimiseni. Nõela tuleb põletada pärast mikroobide lisandamist igale tilgale. Klaasi kerge liigutamise abil segatakse suspensioonitilku ja lastakse seista mõni minut toasoojuses. Aglutinatsiooni tekkimist ja mikroobide kogude iseloomu jälgitakse varustamata silmaga või luubi abil.

Mikroskoobilist aglutinatsioonreaktsiooni toimetatakse järgmiselt: täiesti puhtale kateklaasile võetakse üks tilk lahjendatud (haige seerum 1:10, immuunseerum 1:100) seerumit ja sellesse hõõrutakse plaatinanõela otsaga võetud väike hulk 24 t. vanust kultuuri ühtlaseks suspensiooniks; kateklaas asetatakse õõnega esemeklaasile ja tehakse harilikul viisil rippuv tilk. Täpsemate tulemuste saamiseks segatakse katsuklaasis väike hulk lahjendatud seerumit sama hulga mikroobide suspensiooniga ja segust valmistatakse rippuv tilk. Kontrolliks tehakse rippuvad tilgad, lisandades uuritavaid mikroobe 0,85% NaCl-lahusele ja lahjendatud normaalseerumile. Esemeklaasid rippuvate tilkadega mahutatakse termostaati 37° C ja tulemusi vaadatakse 10, 20, 30 ja 45 minuti järel mikroskoobis. Positiivse reaktsiooni korral näeme kokkukleepunud mikroobe väikeste kogudena; vabalt liikuvaid mikroobe ei ole enam näha. Keskmiselt positiivse reaktsiooni korral näeme paigalseisvaid mikroobide kogusid ja vähem või rohkem liikuvaid mikroobe. Negatiivse

reaktsiooni puhul liiguvad kõik mikroobid nii nagu kontrolltilkades. Mikroobidega, milledel puudub iseseisev liikumine, ei anna mikroskoobiline reaktsioon selget pilti. Seisab preparaat kauemat aega, siis langevad mikroobid tilga alumisse ossa ja simuleerivad positiivset reaktsiooni.

Makroskoobiliseks aglutinatsioonreaktsiooniks võetakse väikestesse (koonusekujulise põhjaga) katsuklaasidesse uuritava seerumi lahjendeid füsioloogilise lahusega (0,5 $cm^3$—1 $cm^3$) ja kontrolliks 0,85% NaCl-lahust või normaalse seerumi lahjendeid. Igale klaasile lisandatakse teatav hulk mikroobide suspensiooni ja loksutatakse segi. Samaks otstarbeks võib plaatina-aasaga võtta elusaid mikroobe 24 t. agarsöötmelt ja hõõruda ühtlaseks suspensiooniks. Kui kontrollklaasides ei ole näha tükikesi (pseudoaglutinatsioon), mida Kuhn-Woithe aglutinoskoobi abil võib kontrollida, siis mahutatakse klaasid termostaati 37° C t°-sse või veevanni kõrgemas temperatuuris (50—55° C), mis kiirendab *Eberth. typhosa* ja mõne teise mikroobi aglutinatsiooni, või jälle hoitakse toatemperatuuris kauemat aega (4—8 t.), nagu seda nõuavad ühe või teise mikroobi aglutineerumise optimaalsed tingimused. Aglutinatsiooni tekkimist kontrollitakse varustamata silmaga, luubiga või aglutinoskoobiga. Kontrollklaasides peab suspensioon jääma homogeenseks, vastasel korral on reaktsiooni tulemused väärtuseta.

Aglutinatsioonreaktsiooni resultaatide kiiremaks saavutamiseks soovitatakse tsentrifuugida 10 minuti jooksul katsuklaase suspensiooniga ja siis sade segi loksutada. Kontrollklaasis ja negatiivse reaktsiooni puhul muutub suspensioon loksutamisel täielikult homogeenseks, kuna nendesse klaasidesse, kus reaktsioon on positiivne, jäävad nähtavad helbed või terakesed.

Maksimaalset lahjendit, mis võetud mikroobe aglutineerib, nimetatakse aglutineeriva seerumi tiitriks. Kui aglutinatsioonreaktsiooni kasutatakse haiguse diagnoosiks, siis määratakse kindlaks mikroob, mida aglutineerib haige vereseerumi kõige suurem lahjendus. Seda mikroobi peetakse infektsiooni tekitajaks, kuid seejuures esinevad sageli mitmesugused eksimisvõimalused:

1) vereseerum võib sisaldada kaasaglutiniine niisama palju või rohkem, kui haigusetekitajale vastavaid peaaglutiniine; 2) üht haigust põdeva isiku vereseerumis on vähe või puuduvad spetsiifilised aglutiniinid, kuid esinevad hoopis teise haiguse tekitajale vastavad heteroloogilised kõrvalaglutiniinid (paradoksaalne reaktsioon), ja 3) vereseerumis esinevad mõnel juhul normaalaglutiniinid. Raskustest ülesaamist ja aglutiniini spetsiifilise iseloomu kindlaksmääramist aitab osaliselt Castellani ehk aglutiniinide absorptsiooni katse.

Castellani leidis, et segades mõne mikroobiga (näit *Eb. typhosa)* immuniseeritud loomalt või sama mikroobiga infitseeritud haigelt inimeselt võetud aglutineerivat seerumit samade mikroobidega (*Eb. typhosa* + tüüfus-seerum), kaovad seerumist peaaglutiniinid ja kaasaglutiniinid. Segame aga säärast aglutineerivat seerumit heteroloogiliste mikroobidega, siis kaovad seerumist ainult need kaasaglutiniinid, mis aglutineerivad lisandatud mikroobi, kuid ei kao peaaglutiniinid. Kui organism on infitseeritud ühel ajal kahesuguste mikroobidega, siis näeme, et seerum ühe mikroobiliigiga segatuna kaotab ainult need aglutiniinid, mis seda mikroobi aglutineerivad, ja ei puuduta teisele mikroobiliigile omast aglutiniini. Aglutiniinide täielikuks absorbeerimiseks peab seerumile lisandama küllaldaselt mikroobe ja absorbeerimiseks andma küllalt aega.

Näiteks uuritakse seerumit, mis aglutineerib lahjendatult 1:200 *Eb. typhosa*'t ja 1:100 mõnda *Salmonella* liiki. Seesugusest seerumist valmistatakse 0,85% NaCl-lahusega küllalt kontsentreeritud lahjendus, näiteks 1:50, ja valatakse kahte katsuklaasi 1—2 $cm^3$. Ühele seeriale lisandatakse 4—6 aasatäit *Eb. typhosa*'t ja teisele *Salmonella* agarkultuuri. Suspensioonid mahutatakse 4—12 tunniks termostaati 37° C soojusse. Selle järel lisandatakse uuesti igale klaasile 3—4 aasatäit vastava mikroobi kultuuri ja klaase hoitakse termostaadis; seda korratakse 3—4 puhku. Lõpuks sadestatakse mikroobid mõlemas klaasis tugeva tsentrifuugimise abil ja täiesti selge pealmine vedelik kummastki katsuklaasist pipeteeritakse uutesse klaasidesse; saadud seerumist tehakse lahjendus

1:100. Nüüd lisandatakse sellele seerumile, kus alguses viibis *Eb. typhosa*, üks aasatäis *Salmonella* kultuuri ja sellele, kus alguses oli *Salmonella*, üks aasatäis *Eberth. typhosa* kultuuri. Klaasid mahutatakse kaheks tunniks termostaati ja selle järel loetakse resultaate. Aglutineerub nüüd ainult *Eberth. typhosa* endise või veidi madalama tiitri puhul, siis on seerum saadud *typhus abdominalis*'t põdevalt haigelt; aglutineerub aga ainult *Salmonella*, siis on tegemist salmonelloosiga. Leiame aga mõlema mikroobiliigi aglutinatsiooni, siis on tegemist segainfektsiooniga, kui vereandja varemini ei ole põdenud üht mainitud haigustest või teda ei ole vaktsineeritud aktiivselt nende vastu.

Hemaglutinatsioon. Kui immuniseerime looma võõraste erütrotsüütidega, siis tekivad tema organismis spetsiifilised antikehad ehk hemaglutiniinid, mis aglutineerivad immuniseerimiseks kasutatud erütrotsüüte. Isoaglutiniinideks nimetatakse antikehi, mis tekivad immuniseerimisel sama loomaliigi erütrotsüütidega, ja heteroaglutiniinideks neid antikehi, mis tekivad immuniseerimisel võõra loomaliigi erütrotsüütidega. Hemaglutinatsiooni peetakse hemolüüsi esimeseks astmeks ja hemaglutiniinid tekivad immuniseerimisel harilikult varemini kui hemolüsiinid.

Hemaglutinatsiooni põhjustavad *in vitro* väga mitmesugused substantsid: raskete metallide soolad (Cu, Ni, Fe, Th, Ce jt.), kolloidid (ränihape, baariumsulfaat jt.), alkohol, fenool, amiinohapped, protamiinid, nukleiinhape, mõned bakterid ja nende produktid (*Esch. coli, C. diphtheriae, Eb. typhosa* jt.), seentes (*Amanita muscaria, Boletus edulis* jt.) leiduvad mürgised ja mittemürgised ained, mitmesuguste taimede seemnete mürgid (ritsiin, abriin, krotiin jt.), ubadest, herneist, kartuleist ja tomateist valmistatud leotised, loomade (usside) mürgised sekreedid ja kudedest (silmaläätsest ja pahaloomulisist kasvajaist) saadud ekstraktid.

Mitmesuguste loomaliikide normaalseerum sisaldab hemaglutiniini, mis aglutineerib võõra loomaliigi erütrotsüüte (heteroaglutiniin) ja mis tekib esimeste eluaastate vältel. Inimese

ja mõnede loomade veres esinevad normaalhemaglutiniinid, mis aglutineerivad samasse liiki kuuluvate isikute erütrotsüüte (isoaglutiniin). Erandjuhtudel leiduvad seerumis hemaglutiniinid, mis aglutineerivad *in vitro* (peamiselt madalas temperatuuris 0—20° C) oma erütrotsüüte (autoaglutiniin). Uurides ligemalt Landsteineri poolt inimese veres avastatud isoaglutiniine ja erütrotsüütide aglutinogeenseid omadusi (retseptoreid), õnnestus Jansky'l, Moss'il ja v. Dungern'il ja Hirschfeld'il liigitada inimesi nende vere omaduste alusel nelja peagruppi. Veregruppide määramist kasutatakse edukalt kohtulikus arstiteaduses (paterniteedi määramisel jne.), kliinikus veretransfusiooni toimetamisel ja antropoloogilistel uurimistel.

Konglutinatsioon. Normaalseerumite uurimisel leiti, et veiste seerum sisaldab võrdlemisi suurel määral erilist substantsi, mille toimel kleepuvad kokku ja sadestuvad komplemendiga liitunud ehk sensibiliseeritud inimese, merisea, oina, kaameli ja mõne teise looma erütrotsüüdid. Bordet ja Streng nimetasid säärast substantsi konglutiniiniks ja reaktsiooni konglutinatsiooniks. Hiljemini selgus, et nõrgema toimega konglutiniini leidub ka lammaste, hobuste, jäneste ja mõne teise loomaliigi vereseerumis. Konglutineeruvad mitte ainult erütrotsüüdid, vaid ka mitmesugused bakterid (*C. diphtheriae, M. tuberculosis, Esch. coli, Eb. typhosa* jt.), leukotsüüdid, tärklise suspensioon ja piima rasvaterakesed. Konglutiniinid ei hävi 30 min. vältel 54—56° C t°-s ja nad jäävad püsima seerumisse, millest on eraldatud aglutiniinid. Konglutinatsioon tekib *in vitro* aeglasel katsuklaasi liigutamisel toasoojuses 10—30 min. vältel ja veel kiiremini 37° C t°-s. Lähtudes sellest, et konglutinatsiooniks on tarvilik komplement, hakkasid Streng jt. komplemendifikseerimise reaktsioonil kasutama konglutinatsiooni harilikult kasutatava hemolüüsi asemel. Selleks võetakse hemolüütilise süsteemi asemel merisea erütrotsüüdid ja inaktiveeritud veise seerum ning komplemendina kasutatakse hobuse värsket vereseerumit. Praktiliselt on konglutinatsioonreaktsiooni kasutatud *malleus*'e, *syphilis*'e, tuberkuloosi ja streptokokkide haiguste diagnoosimisel.

XVII peatükk.

## Hemolüsiinid ja hemolüüs.

Juba sellest ajast, kui hakati toimetama veretransfusiooni, on teada, et värske vereseerum sageli lüseerib võõrast liiki erütrotsüüte. Bordet näitas 1898. a., et seerumi hemolüüsi põhjustav toime hävib, kui soojendada seerumit 30 min. 56° C t°-s (inaktiveerimine). Lisandades säärasele inaktiveeritud seerumile mõne looma normaalset, värsket, soojendamata seerumit, avaldab segu jälle hemolüütilist toimet (aktiveerumine). Nendest katsetest selgus, et hemolüüsiks on tarvilikud spetsiifiline termostabiilne antikeha — hemolüsiin ja mittespetsiifiline, igas värskes normaalses seerumis esinev termolabiilne faktor aleksiin (Bordet) ehk komplement (Ehrlich).

Hemolüsiini leidub varieeruval hulgal normaalses vereseerumis (normaalhemolüsiin). Immuniseerides looma võõraste erütrotsüütidega, tekivad veres spetsiifilised immuunhemolüsiinid, mis lüseerivad peamiselt immuniseerimiseks kasutatud erütrotsüüte. Spetsiifiliste hemolüsiinide kõrval esinevad hemolüütilistes seerumites väiksemal või suuremal määral ka kaashemolüsiinid (grupi hemolüsiinid), mis lüseerivad immuniseerimisel kasutatud erütrotsüütidega lähemas suguluses seisvaid erütrotsüüte. Absorptsioonmenetluse abil on võimalik kõrvaldada kaashemolüsiine, saades sel teel seerumit, mis sisaldab ainult ühele vereliigile spetsiifilist hemolüsiini.

Hemolüsiinid on üldiselt termostabiilsed ja kannatavad pikema aja vältel 56—58° C t°. Normaalhemolüsiinid on vähem resistentsed kui immuunhemolüsiinid. Toime iseloomult on hemolüsiinid samuti kui hemaglutiniinidki kolme liiki: heterolüsiinid, isolüsiinid ja autolüsiinid.

Hemolüüsi fenomen avaldub selles, et erütrotsüütidest vabaneb ja väljub hemoglobiin, kusjuures muutuvad raku kuju, suurus, keemilised ja füüsikalised omadused, kuid ei hävi raku strooma. Asuvad erütrotsüüdid koos spetsiifilise inaktiveeritud hemolüütilise seerumiga, siis liitub hemolüsiin erütrotsüütidega (sensibili-

seerimine). Nüüd võib erütrotsüüdid eraldada seerumist ja neid koguni pesta füsioloogilise lahusega, kuid sellele vaatamata järgneb hemolüüs, kui neile lisandada komplementi. Erütrotsüütide, spetsiifilise hemolüsiini ja komplemendi ühendust nimetatakse hemolüütiliseks süsteemiks. Külmas (0—3° C) liitub küll hemolüsiin erütrotsüütidega, kuid komplement jääb vabaks või liitub väga pikkamisi. Energilisem hemolüütiline tegevus algab 15—37° C t°-s ja on kõige soodsam (optimum) 37° C t°-s. Kui lisandada erütrotsüütidele normaalset, värsket vereseerumit (komplementi), lasta segu seista ja lahutada erütrotsüüdid tsentrifuugimise teel seerumist, siis näeme, et erütrotsüütidele juurdelisatud spetsiifiline, inaktiveeritud hemolüütiline seerum ei tekita hemolüüsi. Sellest näeme, et komplement ei liitu otseselt erütrotsüütidega. Kontsentreeritud hemolüsiini toimel lüseeruvad erütrotsüüdid sageli nõrgemalt kui keskmise kontsentratsiooniga hemolüsiinilahus. Seda nähtust nimetatakse komplemendi kõrvalekaldumiseks. Näiliselt on komplemendil suurem afiinsus vabale hemolüsiinile kui erütrotsüütidega seotud hemolüsiinile. Võttes hemolüsiini rohkem kui erütrotsüüdid suudavad fikseerida, liitub komplement kiiresti vaba hemolüsiiniga ja teda ei jätku selle hemolüsiini tarvis, mis on seotud erütrotsüütidega (Ehrlich, Wechsberg, Neisser ja Morgenroth).

Ehrlich oletab hemolüütilise antikeha ehituses kaht haptofoorset ehk liitumisgruppi, milledest üks — tsütofiilne grupp on suuteline liituma erütrotsüüdi vastava retseptoriga, kuna teine — komplementofiilne grupp liitub komplemendi haptofoorse grupiga. Vabaks jääb komplemendi ergofoorne grupp, mis teostab hemolüüsi. Ehrlich nimetas hemolüütilist antikeha ambotseptoriks ehk kolmanda astme retseptoriks. Bordet nimetas hemolüütilist antikeha sensibiliseerivaks substantsiks, oletades, et see ei ole vahelüliks erütrotsüüdi ja komplemendi vahel. Komplement liitub otseselt erütrotsüütidega pärast viimaste sensibiliseerumist hemolüsiini toimel. Hemolüsiini liitumine erütrotsüütidega allub üldiselt adsorptsiooni seadustele.

Spetsiifilise hemolüütilise seerumi valmistamisel kasutatakse

antigeeniks harilikult oina erütrotsüüte, kuid samaks otstarbeks võib tarvitada ka teiste loomade erütrotsüüte. Inimese erütrotsüütidega on hemolüsiini saamine sageli raskustega seotud. Oinal võetakse verd harilikult kaela suurest tõmbsoonest (*v. jugularis*). Selleks pöetakse kaela alumine osa puhtaks, nahk desinfitseeritakse alkoholiga, tõmbsoon surutakse rinnaku juures sõrmega kinni, pundunud veeni torgatakse steriilne nõel, mille läbi verd lastakse. Oinas ei tohi liiga noor olla (mitte alla 1—2 a.), ka ei tohi verd liiga sageli ühelt ja samalt loomalt võtta, sest siis muutub erütrotsüütide resistentsus ja need lüseeruvad juba 0,85% NaCl-lahuses. Veri kogutakse kolbi, kuhu on asetatud klaaspärle, ja defibrineeritakse kerge loksutamise teel 5—10 min. jooksul. Tsentrifuugimise teel vabastatakse erütrotsüüdid seerumist ja neid pestakse 2—3 korda seerumi kõrvaldamiseks 0,85% NaCl-lahusega. Pärast viimast tsentrifuugimist eraldatakse vedelik ja erütrotsüütide sademele lisandatakse 0,85% NaCl-lahust niipalju, kui alguses oli verd; säärane suspensioon sisaldab erütrotsüüte samas kontsentratsioonis kui võetud veri. Pestud erütrotsüüte või nendest valmistatud suspensiooni võib 0,85% NaCl-lahuses mõne päeva jooksul jääkapis alal hoida; enne immuniseerimist peab neid uuesti pesema. Erütrotsüütide pikemaks alalhoidmiseks (20—30 päeva) soovitatakse neile lisandada formaliini (1 $cm^3$ pestud erütrotsüüte + 0,1 $cm^3$ 2% formaliini), 1% boorhapet või 0,1—0,25% kinosooli.

Hemolüütilise seerumi saamiseks immuniseeritakse harilikult korraga 2—3 jänest. Selleks kasutatakse järgmisi meetodeid: 1) Kõhuõõnde süstitakse 20,0 $cm^3$ eespool-tähendatud pestud erütrotsüütide suspensiooni ning 4—8 päeva hiljem veel kord 30,0 $cm^3$. 2) Kõrvaveeni süstitakse iga 4—5 päeva järel 1,5—2,5 $cm^3$ pestud erütrotsüütide suspensiooni 4—5 korda. Verre süstides peab hoolega valvama, et õhk süstlast ühes erütrotsüütide suspensiooniga veeni ei pääseks, mis looma võib kiiresti surmata. Niihästi erütrotsüütide pesemist kui ka jänesele süstimist peab steriilselt toimetama. Kaks esimest süstimist kannatab jänes harilikult hästi välja, kuna kolmas ja järgnevad süstimised on talle hädaohtlikud (*anaphylaxia*), seepärast võib viimaseid toimetada nahaalusi.

3) Kombineeritud meetodid, kus alul süstitakse verre ja hiljemini nahaalusi või kõhuõõnde 5—6 päeva pärast viimast erütrotsüütide süstimist proovitakse iga päev jänese seerumi hemolüütilist toimet. Ainult kõrge hemolüütilise tiitriga (1:3000) seerum kõlbab komplemendifikseerimise reaktsiooniks. Vere võtmiseks vabastatakse jänesel aseptiliselt *a. carotis* ja veri lastakse nõelaga steriilsesse silindrisse, kus seerum pärast vere hüübimist vabaneb. Vereseerum eraldatakse, inaktiveeritakse 30 min. 55—56° C soojuses veevannis. Hemolüütilise seerumi alalhoidmiseks lisandatakse sellele 0,5% karboolhapet või seerum kuivatatakse vaakuumis.

Hemolüütilise seerumi tiitri määramiseks tarvitatakse oina erütrotsüütide 5% suspensiooni 0,85% NaCl-lahuses ja komplemendina merisea värsket vereseerumit lahjendatult (1:10) 0,85% NaCl-lahusega. Hemolüütiline seerum lahjendatakse 0,85% NaCl-lahusega 1:100, 1:1000, 1:1500, 1:2000, 1:2500, 1:3000 jne. Igast lahjendusest võetakse 1 $cm^3$ katsuklaasi, lisandatakse 1 $cm^3$ komplementi, 1 $cm^3$ erütrotsüütide suspensiooni ja 2 $cm^3$ 0,85% NaCl-lahust, segatakse segi, mahutatakse termostaati 37° C soojusse 1 tunniks, pärast seda lastakse veel seista 12 tundi jääkapis ja loetakse resultaate. Kontrolliks võetakse erütrotsüüdid ühes katsuklaasis ainult ambotseptoriga, teises ainult komplemendiga ja kolmandas ainult 0,85% NaCl-lahusega, asendades väljajäänud komponendi sama hulga 0,85% NaCl-lahusega; hemolüüs nendes katsuklaasides ei tohi ilmuda. Ilmub ühes või teises kontrollis hemolüüs, siis peab mittekõlvulise komponendi kõrvaldama ja uue võtma. Kõige väiksem hulk hemolüütilist seerumit, mis tähendatud tingimusis täielikku hemolüüsi tekitab, nimetatakse hemolüütilise seerumi tiitriks ehk minimaalseks hemolüütiliseks doosiks (M. H. D.).

Mittespetsiifilist hemolüüsi tekitavad väga mitmesugused ained: destilleeritud vesi, happed, leelised, ritsiin, abriin, krotiin, robiin, tetanolüsiin, stafülolüsiin, koolera toksiin, skorpioni toksiin ja mitmesugustest taimedest (spinat, kartul jt.) saadud saponiinid. Säärased ained erinevad immuunhemolüsiinidest ja neid nimetatakse hemotoksiinideks.

XVIII peatükk.

## Bakteriolüsiinid ja tsütolüsiinid.

Pfeiffer leidis esimesena 1894. a., et kooleravibrioonidega immuniseeritud looma värske vereseerum lüseerib kooleravibrioone. Hiljemini selgus, et samasugust toimet avaldab ka nakkushaigust põdevalt inimeselt ja loomalt saadud vereseerum haiguseteki tajale mikroobile. Süstime koolera vastu immuniseeritud meriseale kõhuõõnde elusaid kooleravibrioone (1 aasatäis kultuuri + 1 $cm^3$ puljongit), võtame iga 10 minuti järel peene klaastorukesega kõhuõõnest ühe tilga mahla ja uurime seda rippuvas tilgas mikroskoobi all, siis näeme, et vibrioonid, mis alul elavalt liikusid, jäävad seisma ja transformeeruvad kuulisarnasteks kehakesteks, mis $^1/_2$—1 tunni vältel hävivad. Säärast vibrioonide lõhustamist toimetab rakkudevaba kõhuõõne-mahl, ilma et seejuures fagotsüüdid otseselt tegevad oleksid. Immuniseeritud merisiga jääb selle katse järel ellu. Immuniseerimata kontroll-merisiga, kelle kõhuõõnde süstiti sama hulk kooleravibrioone, sureb lühema või pikema aja jooksul ja tema kõhuõõne-mahlas leidub liikuvaid kooleravibrioone. Vibrioonide hävimisprotsessi võime ka siis tähele panna, kui immuniseerimata meriseale kõhuõõnde süstime kooleravibrioone koos koolera vastu immuniseeritud looma vereseerumiga (1 aasatäis vibrioone segatult 1 $cm^3$ puljongiga + 1 $cm^3$ 100—300 korda lahjendatud immuunseerumit). Mainitud immuunseerumi toimet vibrioonidesse nimetatakse Pfeiffer'i fenomeniks.

Bordet (1895) leidis, et värske immuunseerum kaotab oma lüütilise omaduse, kui ta mõne päeva seisab või kui teda hoida $^1/_2$ tundi 56° C t°-s. Immuunseerum reaktiveerub uuesti, kui sellele lisandada värsket normaalset vereseerumit. Sellest selgus, et immuunseerumi bakteriolüütiline toime oleneb termostabiilsest immuunkehast — bakteriolüsiinist (substance sensibilisatrice — Bordet' ehk bakteriolüütiline ambotseptor — Ehrlich) ja värskes vereseerumis viibivast termolabiilsest komplemendist. Bakteriolüütiline antikeha üksi ei sulata mikroobe, kuid valmistab neid sulamiseks ette (sensibiliseerib). Kui segada mikroobe spetsiifi-

lise inaktiveeritud bakteriolüütilise seerumiga ja pesta nad pärast seerumist puhtaks, siis näeme, et mikroobid jäävad sensibiliseerituks komplemendi toimele.

Spetsiifiliste bakteriolüsiinide määramiseks haige vereseerumis ja bakteriolüsiinide tiitri määramiseks Pfeifferi fenomeni abil süstitakse mitmele meriseale (250 g) kõhuõõnde 1 normaalaasatäis vastava mikroobi kultuuri suspensioonina puljongis, millele oli lisandatud 1 $cm^3$ 1:10, 1:20, 1:50, 1:100, 1:200 jne. uuritavat seerumit. Kontrollseale süstitakse mikroobid ilma uuritava vereseerumita. Jälgides Pfeifferi fenomeni, võib kindlaks määrata kõige väiksema hulga uuritavat seerumit, mis sulatab mikroobe (seerumi bakteriolüütiline tiiter).

Pfeifferi fenomen on üks tundlikumaid spetsiifilisi bioloogilisi reaktsioone mikroobide diferentsimiseks, kui katseteks tarvitatakse kõrge tiitriga immuunseerumit ja virulentseid mikroobe, sest avirulentseid mikroobe sulatab sageli ka normaalseerum.

Pfeifferi fenomeni katsed loomadega on seotud raskustega, seepärast tarvitatakse praktiliselt sama katset *in vitro*. 24-tunnisest kultuurist valmistatakse hästi nõrk suspensioon 0,85% NaCl-lahuses. 1 $cm^3$ mikroobide suspensioonile lisandatakse 1 $cm^3$ inaktiveeritud uuritavat seerumit, lahjendatult 0,85% NaCl-lahuses 1:10, 1:100, 1:200, 1:500 jne., ja 1 $cm^3$ merisea värsket seerumit (komplementi), lahjendatult 1:10. Segu lastakse 3—5 tundi seista 37° C t°-s. Pärast seda võetakse igast segust teatav hulk (0,1—0,5 $cm^3$), segatakse sula agarsöötmega (45° C), valatakse Petri kaussidesse, lastakse kasvada 37° C t°-s 24—48 tundi ja loetakse mikroobide pesad. Kontrolliks tehakse analoogne katse sama loomaliigi normaalseerumiga ja inaktiveeritud uuritava seerumiga ilma komplemendi lisanduseta. Kui uuritav seerum sisaldas spetsiifilist bakteriolüsiini, siis leiame katsekülvis palju vähem mikroobipesi kui kontrollkülvides. Täieliku bakteriolüüsi korral ei ole leida ühtki mikroobipesa. Jälgides reaktsioonikäiku segudest tehtud rippuvatest tilkades, näeme positiivse reaktsiooni korral alul mikroobide aglutineerumist ja hiljemini nende sulamist.

Immuunseerumis esineva bakteriolüsiini tiitri määramisel peab

teadma, et tõeliselt me määrame seerumi bakteritsiidset efekti, sest praktiliselt on raske eraldada baktereid lüseerivaid antikehasid — bakteriolüsiine nendest antikehadest, mis baktereid surmavad (bakteritsidiinid). Nende mõlemate antikehade toime oleneb mikroobide iseloomust. Enamik gram-negatiivseid mikroobe (*Vibrio comma, Eb. typhosa* jt.) sureb võrdlemisi kiiresti vastava antikeha ja komplemendi segus, kuna gram-positiivsed kokid ja mõned teised mikroobiliigid on vähetundlikud sellele toimele. Bakteriolüütiliste ja bakteritsiidsete seerumite uurimisel esineb sageli eeltsoon (protsoon — Neisser-Wechsberg), kus teatud seerumilahjendus ei avalda bakteritsiidset toimet, kuna märksa suuremad lahjendused toimivad surmavalt.

Normaalseerumid sisaldavad harilikult mitmesuguseid spetsiifilisi bakteriolüsiine ja nende kõrval ka grupi bakteriolüsiine.

Tsütolüsiinid ja proteolüsiinid. Immuniseerides looma mitmesuguste rakkude (leukotsüütide, epiteelrakkude, neeru-, maksa-, põrna-, ergurakkude jne.) suspensiooniga, tekivad looma veres spetsiifilised antikehad, mis lüseerivad ainult immuniseerimiseks kasutatud rakke. Sääraseid spetsiifilisi antikehasid, mis toimivad koos komplemendiga, nimetatakse tsütolüsiinideks ehk tsütotoksiinideks.

Immuniseerides inimesi ja loomi mitmesuguste loomade sperma suspensiooniga, võib saada immuunseerumit, mis kiiresti katkestab *in vitro* immuniseerimisel kasutatud spermatozoidide liikumise. Ainult mõnede ahvide spermaga immuniseeritud jänese seerum katkestab inimese spermatozoidide liikumise, millest paistab, et naiste ajutine steriliseerimine mainitud ahvi spermaga on võimalik. Tsütolüsiine on leitud vähesel määral ka normaalseerumites.

Weichardt leidis, et mitte ainult rakkudeks formeeritud valgud, vaid igasugused valgud võivad tekitada immuniseerimisel spetsiifilisi antikehasid — proteolüsiine, mis põhjustavad vastava valgu lõhustamist (seedimist). Selle tagajärjel vabanevad mürgised substantsid, mis võivad põhjustada raskeid mürgistusnähte, näiteks eklampsiat raseduse aegu.

XIX peatükk.

## Komplement.

Komplementiks nimetatakse niisugust mittespetsiifilist substantsi, mis asub kõigis normaalseerumites, mille hulk ei kasva immuniseerimise tagajärjel ja mis aktiveerib paljude immuunkehade (lüsiinide) tegevust. Komplementi viibib väiksemal määral ka eksudaatides, transsudaatides, seljaaju-vedelikus, rinnapiimas jne. Komplemendi hulka kahandavad kõik need faktorid, mis organismi nõrgestavad (mürgistus, nälgimine, mädanikud, rasked haigused jne.). Uurimised näitavad, et komplement koosneb mitmest komponendist, mida võib üksteisest lahutada. Küllastame *in vitro* merisea värsket vereseerumit $MgSO_4$-ga või lisame seerumit destilleeritud veele, siis sadestub ühes globuliinidega (euglobuliin) komplemendi vaheosa, kuna teine komponent — lõpposa jääb pseudoglobuliinidega lahusesse. Kui lahustame tekkinud pretsipitaadi 0,85% NaCl-lahuses ja segame seda pretsipitaadist eraldatud vedelikuga, siis muutub segu (vaheosa + lõpposa) aktiivseks, kuna iga osa eraldi on inaktiivne. Need mõlemad faktorid on termolabiilsed ja inaktiveeruvad 55—56° C t°-s 30 min. vältel.

Lisandades värskele normaalseerumile pärmseeni, kaotab see komplementaarse toime. Pärmseentest eraldatud seerum muutub uuesti aktiivseks, kui lisame sellele 56° C t°-s inaktiveeritud normaalseerumit. Sellest järgneb, et komplement omab pärmide poolt absorbeeruva kolmanda termostabiilse komponendi, mis puudub mõnede merisigade veres (Landsteiner, Ritz jt.). Peale selle on leitud veel neljas komplemendi komponent, mis on termostabiilne, kuid mida ei absorbeeri pärmseened. See komponent inaktiveerub, kui lisandada seerumile ammoniaaki. Filtrides korduvalt värsket seerumit läbi portselanküünla, kõrvalduvad alul termolabiilne vaheosa ja lõpposa, hiljemini kolmas ja neljas komponent.

Üldiselt on teada, et mitmesugustelt loomaliikidelt saadud normaalseerumite komplementaarsed toimed erinevad kvaliteedilt, kuid puuduvad ligemad andmed nende komplementide struktuuri

erinevuse kohta. Näib, et komplement, mis põhjustab hemolüüsi, on identne komplemendiga, mis põhjustab bakteriolüüsi.

Komplement on termolabiilne; soojavereste loomade komplement inaktiveerub 55—56° C t°-s 30 min. vältel. Kõige madalamaks soojuseks komplemendi inaktiveerimiseks on 52,5° C. Külmavereste loomade komplement inaktiveerub 45—48° C t° 20 min. jooksul. Peale soojendamise avaldavad komplemendile inaktiveerivat toimet päikesevalgus, temperatuuri kõikumised, ultravioletsed kiired, happed, leelised, fermendid, pankreatiin, kopra toksiin, kestev seerumi loksutamine ja mitmesugused soolad (anioonid J, Br, Cl jt.). Mõned soolad (NaCl, $MgSO_4$ jt.) võivad komplemendi aktiivsust alal hoida mitme päeva jooksul (konserveerimine), kuid täpseteks reaktsioonideks on tarvilik kasutada värsket komplementi.

Komplemendiks tarvitatakse harilikult merisea värsket vereseerumit. Väärtusliku ja selge seerumi saamiseks ei anta seale enne verevõtmist mõne tunni jooksul süüa ega juua. Verevõtmist toimetatakse mitmel viisil:

1) Kaela nahk aetakse habemenoaga karvadest puhtaks, nahk desinfitseeritakse eetriga, siis lõigatakse läbi *art. carotis* ühes naha ning musklitega ja veri kogutakse steriilsesse nõusse.

2) Kui soovitakse, et merisiga ellu jääks, siis vabastatakse *v. jugularis*, tõstetakse niidiga üles ja võetakse peenikese klaaspipetiga verd, või lõigatakse veen katki ja seotakse pärast vere võtmist otsad kinni.

3) Südame punktsiooni teel vere võtmiseks kinnitatakse loom seliti lauale, karvad lõigatakse rinnanahalt ära, nahk desinfitseeritakse, otsitakse koht, kus südamelöök on sõrmele tunda, fikseeritakse sõrmedega rinnak, pistetakse süstenõel 5—6 millimeetrit vasemal pool rinnakut teise roidevahelisse ruumi kuni 2 cm sügavuseni ja imetakse süstlaga pikkamisi 9—10 $cm^3$ verd. Pärast vere võtmist peab seale naha alla süstima steriliseeritud 0,85% NaCl-lahust (20 $cm^3$).

4) Väiksema hulga vere saamiseks ärritatakse kõrvalehe nahka kuuma veega või ksülooliga niisutatud puuvillatopiga, mille järel lõigatakse kõrva serv 0,5 cm sügavuselt kääridega lõhki ja tilkuv veri kogutakse katsuklaasi.

Verd võib võtta meriseal 1 kord nädalas. Vereseerum eraldatakse koaguleerimise või tsentrifuugimise teel. 12- kuni 16-tunnine seerumi seismine pimedas külmas ruumis (jääkapis) on soovitatav enne selle tarvitamist. Komplemendi alalhoidmiseks lastakse seerumit seista külmutamisaparaadis või sellele lisandatakse 6—8% NaCl, 4% $MgSO_4$ või teisi vahendeid.

Komplement on väga muutlik, seepärast peab teda iga kord enne tarvitamist titreerima. Selleks segatakse mitmes katsuklaasis: 1 $cm^3$ hemolüütilist ambotseptorit (3- kuni 4-kordne tiiter), 1 $cm^3$ 5% oina erütrotsüütide suspensiooni, merisea vereseerumit lahjendatult 1 : 10 füsioloogilise söögisoola-lahusega, võttes sellest kord-korralt suureneva hulga (0,1—1,0). Lõpuks lisandatakse niipalju 0,85% NaCl-lahust, et iga katsuklaas sisaldaks 5 $cm^3$ vedelikku. Kontrolliks jäetakse ära ühes klaasis hemolüütiline ambotseptor, teises komplement ja kolmandas mõlemad komponendid. Kergesti segiloksutatud katsuklaasid lastakse seista 1 tund 37° C t°-s termostaadis või $^1/_2$ tundi 37° C veevannis ja jälgitakse hemolüüsi tekkimist. Komplemendi tiitriks ehk komplemendi minimaalseks hemolüütiliseks doosiks (M. H. D.) nimetatakse kõige väiksemat komplemendi hulka, mis põhjustab täielikku hemolüüsi eelmainitud tingimusis.

Reaktsiooni korraldamiseks peab tarvitama hästi puhtaks pestud ja steriliseeritud katsuklaase ja pipette. Samuti peab hoolitsema, et reaktsiooniks tarvilikud lahused oleksid võimalikult steriilsed.

## XX peatükk.

## Komplemendi fikseerimise reaktsioon.

Eespool kuulsime, et spetsiifilise immuunkehaga sensibiliseeritud mikroobid ja erütrotsüüdid absorbeerivad komplementi, mille tagajärjel erütrotsüüdid ja mõned mikroobiliigid lüseeruvad. Bordet ja Gengou näitasid 1901. a., et mainitud komplemendi fikseerimist võib üldmeetodina kasutada spetsiifiliste antikehade uuri-

miseks ja titreerimiseks. Oma klassiliseks katseks võtsid nad *Eb. typhosa* kultuurist valmistatud suspensiooni (antigeen), lisandasid sellele inaktiveeritud tüüfuse immuunseerumit (bakteriolüütiline ambotseptor) ja merisea värsket vereseerumit (komplement). Lastes segu seista teatava aja vältel, et anda võimalust immuunkehal ja komplemendil liituda bakteritega, lisandati erütrotsüütide suspensiooni ja homoloogilist hemolüsiinilahust. Segu hoiti 1 tund 37° C t°-s, kusjuures ei tekkinud hemolüüsi. Bordet ja Gengou järeldasid sellest katsest, et segus puudus hemolüüsiks vajalik vaba komplement ja et seda absorbeeris bakterite ja bakteriolüütilise ambotseptori kompleks. Mainitud reaktsiooni võib kokku võtta järgmiselt:

(1) Bakterid + homoloogiline bakteriolüsiin + komplement = komplemendi fikseerumine.

(2) (1) + erütrotsüüdid + hemolüsiin = puudub hemolüüs. Peab mainima, et (2) on kõnesolevas reaktsioonis ainult indikaatoriks, mis teeb komplemendi liitumise silmale nähtavaks.

Kasutades mainitud tehnikat, õnnestus peatselt näidata, et komplementi fikseerivad mitte ainult mitmesugused sensibiliseeritud mikroobid, vaid sama fenomen esineb ka siis, kui mikroobide ekstraktid või lahustuvad proteiinid (kanamunavalk, hobuse fibrinogeen, lehmapiim jt.) reageerivad vastava spetsiifilise immuunseerumiga (antikeha) ja komplemendiga.

Komplemendi fikseerimise reaktsioon omandas kiiresti suure tähtsuse mikrobioloogias ja arstiteaduses. Tarvitades reaktsiooniks üht või teist tuntud antigeeni on võimalik kindlaks määrata, kas uuritavas vereseerumis viibib vastav spetsiifiline antikeha. Ümberpöördult võib tuntud immuunseerumi abil määrata uuritava antigeeni loomust. Eriliselt suure praktilise tähtsuse omandas Bordet ja Gengou reaktsioon pärast seda, kui Wassermann, Neisser ja Bruck (1906. a.) selle tarvitusele võtsid süüfilise diagnoosimisel, kus antigeenina kasutati alul süüfilisega infitseeritud loote maksa ekstrakti. Peagi selgus, et antigeenina võib tarvitada härja, inimese ja merisea südamelihaste ekstrakti või mitmesuguseid lipoidolluseid.

Komplemendi fikseerimise reaktsiooniks on tarvilikud järgmised komponendid:

1) Antigeen. Spetsiifilise antigeenina kasutatakse mikroobikultuuri suspensiooni, mikroobide elutegevuse produkte ja mikroobe sisaldavatest kudedest ja organitest valmistatud ekstrakte. Mittespetsiifilise antigeenina kasutatakse (Wassermanni reaktsiooniks) loomade ja inimese südame lihastest valmistatud ekstrakte ja teisi kolloidide suspensioone. Suurem hulk antigeeni võib ise ilma spetsiifilise ambotseptori abita komplementi fikseerida, seepärast ei võeta reaktsiooniks rohkem antigeeni, kui pool osa kõige suuremast hulgast, mis enam ei fikseeri teatavat hulka komplementi. Selleks peab iga antigeeni enne tarvitamist titreerima. Selleks võetakse mitmesse katsuklaasi kord-korralt suurenev hulk antigeenilahust, lisandatakse 1 $cm^3$ komplementi 1 : 10 lahjendatult ja segu hoitakse 30 min. veevannis 37° C t°-s, siis lisandatakse 1 $cm^3$ hemolüütilist ambotseptorit (3- kuni 5-kordne tiiter), 1 $cm^3$ 5% erütrotsüütide suspensiooni ja 0,85% NaCl-lahust kuni 5 $cm^3$. Segud hoida 30 min. veevannis 37° C t°-s, neid korduvalt segi loksutades; selle aja möödudes määrata hemolüüsi alusel kõige suurem antigeenihulk, mis võetud komplemendi hulka enam ei suuda siduda. Täpsemate reaktsioonide korral peab vastava titreerimise abil kindlaks määrama komplemendi hulga, mida reaktsiooniks võetud antigeen ise suudab fikseerida.

2) Komplemendi saamist toimetatakse nii, nagu eespool kuulsime. Teda lahjendatakse steriilse 0,85% NaCl-lahusega 1 : 10 ja titreeritakse iga kord enne tarvitamist.

3) Uuritav vereseerum. Uurimiseks võetakse inimestel verd harilikult punktsiooni abil *v. mediana*'st 3—5 $cm^3$, millest jätkub tarviliku hulga seerumi saamiseks. Kui ei ole võimalik veeni punkteerida, siis võib verd saada sõrme, varbaotsa (lastel) või kõrvalehte nõelaga või lantsetiga pistetud haavast. Et veri haavast kiiremini erituks, võib sõrme või varvast enne haavapistet kuumas vees hoida. Veri kogutakse katsuklaasi ja mahutatakse $^1/_2$ tunniks 37° C soojusse või hoitakse toasoojuses mõni tund; siis vabastatakse koaguleerunud veri nõelaga klaasiseinte küljest ja klaas mahutatakse jääkappi, kus seerum eraldub. Tsentrifuugi-

mise abil võib kiirendada seerumi saamist. Seerum kogutakse pipetiga steriilsesse katsuklaasi ja inaktiveeritakse 30 min. jooksul 54—56° C t°-s veevannis. Steriilselt võib seerumit külmas kohas päevade kaupa alal hoida, kuid reaktsiooniks peab võimalikult värsket seerumit tarvitama. Täpsema reaktsiooni korral oleks tarvilik seerumit alul samuti kui antigeeni titreerida, et teada oleks komplemendi hulk, mida reaktsiooniks võetud seerum fikseerib.

4) Hemolüütiline ambotseptor. Komplemendi fikseerimise reaktsiooniks võetakse 3- kuni 4-kordne ambotseptori tiiter. Kui hemolüütilist seerumit hoitakse steriilselt ampullides külmas pimedas kohas, siis on ta kaua püsiv ja titreerimist korratakse ainult mõne aja järel.

5) Erütrotsüüdid. Harilikult valmistatakse oina erütrotsüütidest 5% suspensioon 0,85% NaCl-lahuses. Ambotseptorilahust ja erütrotsüütide suspensiooni võib teineteisest lahus reaktsiooniks tarvitada, kuid parem on erütrotsüüte reaktsiooni eel sensibiliseerida. Selleks võetakse 5% erütrotsüütide suspensioon, lisatakse sama hulk hemolüütilise ambotseptori lahust, segatakse hoolega segi ja lastakse seista 30 min. termostaadis 37° C t°-s.

0,85% NaCl-lahus, samuti ka pipetid ja klaasid, mida reaktsiooniks tarvitatakse, peavad olema steriilsed ja puhtad kõrvalaineist. Reaktsiooniks peab valmis olema tarvilik hulk täiesti puhtaid ja kuivi pipette (1 cm³ jagatud $^1/_{100}$), ühesuurused steriilsed kuivad katsuklaasid ja steriilsed kuivad kolvikesed ainete lahjendite valmistamiseks. Alul valmistatakse antigeenist niisugune lahjend 0,85% NaCl-lahusega, mis sisaldaks 1 cm³-s tarviliku hulga antigeeni, mis eelkatse abil kindlaks määrati. Uuritavat vereseerumit võetakse harilikult 0,2 cm³ iga proovi tarvis, või 1 cm³ lahjendatult 1 : 5 füsioloogilises NaCl-lahuses. Kontrolliks võetakse 0,4 cm³ seerumit (kahekordne hulk), mis reaktsiooniks võetavat komplemendi hulka ei tohi fikseerida, kui seerum kõlvuline on reaktsiooniks. Komplement lahjendatakse steriilse 0,85% NaCl-lahusega 1 : 10 ja iga proovi tarvis võetakse $2^1/_2$-kordne tiitrile vastav hulk, mis eelproovil 1 cm³ 5% erütrotsüütide suspensiooni hemolüüsiks tarvis läks.

Järgmine tabel näitab, kui palju ja missuguses järjekorras peab võtma iga komponenti süüfilise diagnoosimisel inimesel:

| Katsuklaasi sisaldus | Uuritav seerum | | Inimese normaalseerum | | Süüfilishaige seerum | | Kontrollid | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Katsuklaasi number | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Seerum lahjend 1:5; $cm^3$ | 1,0 | 2,0 | 1,0 | 2,0 | 1,0 | 2,0 | — | — |
| Antigeen lahjend.; $cm^3$ | 1,0 | — | 1,0 | — | 1,0 | — | 1,0 | — |
| Komplement lahjendatud 1:10; $cm^3$ . . . . . | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| 0,85% NaCl-lahus; $cm^3$ | — | — | — | — | — | — | 1,0 | 2,0 |
| $^1/_2$ tunniks veevanni 37° C või 1 tunniks termostaati 37° C. | | | | | | | | |
| Sensibiliseeritud erütrotsüütide suspensiooni 2,5%; $cm^3$ . . . . . | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 |
| 1 tunniks veevanni 37° C või 2 tunniks termostaati 37° C. | | | | | | | | |

37° C t°-s viibimise ajal peab katsuklaase segudega korduvalt kergesti loksutama ja hemolüüsi tekkimist jälgima. Tabelis märgitud aja möödumisel võib näha hemolüüsi tulemusi, kuid lõplikkude andmete saamiseks peab katsuklaasid segudega mahutama 12—24 tunniks jääkappi, et sulamata erütrotsüüdid klaasi põhja langeksid. Kokkuhoiu mõttes võib reaktsiooniks võtta pool osa ülaltähendatud komponentide hulgast.

Sisaldab uuritav seerum spetsiifilist ambotseptorit, siis liitub see antigeeniga ja komplemendiga. Seesugusel korral ei ilmu hemolüüs ja komplemendi fikseerimise reaktsiooni nimetatakse positiivseks ning märgitakse nelja plussiga (++++). Puudub aga uuritavas seerumis spetsiifiline ambotseptor, siis jääb komplement vabaks. Ta ühineb hemolüütilise süsteemiga, mille tagajärjel erütrotsüüdid täielikult lahustuvad. Komplemendi fikseerimise reaktsiooni nimetatakse sel korral negatiivseks ja märgitakse miinusega (—). Nende äärmiste võimaluste kõrval võib tähele panna mitut ülemineku-astet, kus esineb ainult osaline hemolüüs; seda

märgitakse vastavalt hemolüüsi tugevusele (+++), (++), (+) ja (±) ehk kahtlane reaktsioon.

Kui uuritav vereseerum takistab hemolüüsi või kontrollid näitavad kahtlast tulemust, siis peab reaktsiooni uuesti korraldama ja kontrollima ning kõrvaldama veavõimalused.

Peale vereseerumi võib komplemendi fikseerimise reaktsiooni teha haigelt saadud *liq. cerebrospinalis*'ega, piimaga, pleura, perikardiumi ja peritoneumi trans- ja ekssudaatidega ja vesisonga *(hydrocele)* vedelikuga.

Käesoleval ajal ei ole veel võimalik lõplikult otsustada komplemendi fikseerimise mehhanismi üle, kuid lähemad uurimised näitavad, et antigeeni ja spetsiifilise seerumi (antikeha) toimel tekkiv pretsipitaat sageli absorbeerib komplementi. Sellest paistab, et pretsipitatsioon ja komplemendi fikseerimine on teatud faasis sarnased reaktsioonid. Dean (1912) leidis, et immuunseerumi teatud annusele vastavad kaks annust antigeeni: üks, mis annab maksimaalse pretsipitatsiooni, ja teine, mis annab maksimaalse komplemendi fikseerimise. Maksimaalne komplemendi fikseerimine toimub sel puhul, kui antigeeni ja antikeha hulkade vahekord on säärane, kus tekkiv pretsipitaat koosneb väikestest osakestest, millede kogu absorbeeriv pind on suur. See olukord esineb peamiselt pretsipitatsiooni varajasel astmel. Optimaalne komplemendi fikseerimine oleneb peale antigeeni ja antikeha hulkade vahekorra veel temperatuurist reaktsiooni kestel, komplemendi lisamise silmapilgust ja kogu reaktsiooni kestusest.

Mittespetsiifiliste antigeenide tarvitamise korral ei ole tegemist spetsiifilise antigeen + antikeha reaktsiooniga, vaid kolloidide (lipoidide) mittespetsiifilise reaktsiooniga. Sellega on seletatav nähtus, et Wassermanni reaktsioon (WaR.) annab peale süüfilise positiivse tulemuse veel *lepra, framboesia tropica, scarlatina, malaria, typhus recurrens*'i ja *exanthematicus*'e, *cachexia* ja mõne teise haiguse puhul.

Komplemendi fikseerimise reaktsiooni tarvitatakse juba paljude haiguste diagnoosimisel ja ta omandab kord-korralt suurenevat tähtsust serodiagnostikas.

XXI peatükk.

## Opsoniinid ja bakteriotropiinid.

Wright ja Douglas (1904) leidsid, et fagotsüüdid hakkavad mikroobe kiiresti õgima, kui veres viibivad ained mikroobidesse toimides neid fagotsüütidele vastuvõtlikuks muudavad. Nad nimetasid sääraseid aineid opsoniinideks (*opsono* = prepareerin toiduks).

Opsoniinid võivad kiirendada väga mitmesuguste mikroobide fagotsütoosi. Nad on võrdlemisi mittespetsiifilised ja mitmelt indiviidilt võetud normaalseerumis leiduvate opsoniinide toime on sageli erinev. Peale vereseerumi leiduvad opsoniinid varieeruval hulgal koemahlas, piimas, seroosvedelikes ja ekssudaatides. Normaalseerumi opsoniinid on üldiselt sarnased komplemendiga. Nad on termolabiilsed ja inaktiveeruvad 30 min. vältel 56° C t°-s. Neid absorbeerivad seerumist kõik need kompleksid, mis absorbeerivad komplementi. Seerum kaotab opsoniseeriva toime, kui teda lahjendada 1 : 15 füsioloogilise söögisoola-lahusega. Lisandades säärast lahjendatud seerumit 55—56° C t°-s 10 min. vältel inaktiveeritud seerumile, muutub see uuesti aktiivseks. Lisandades normaalseerumile ammoniaaki, muutub komplement inaktiivseks ja see ei suuda enam põhjustada sensibiliseeritud erütrotsüütide hemolüüsi, kuid püsima jääb seerumi opsooniline aktiivsus, mis näitab komplemendi ja opsoniini teatavat erinevust. Opsoniinide hulk veres kasvab immuniseerimise tagajärjel (immuunopsoniinid).

Opsoniinide uurimiseks Wright'i järgi on tarvis: 1) leukotsüüte, mida sel teel saame, kui väikesse katsuklaasi võtame 1 cm³ 1½% *sol. natr. citrici* 0,85% NaCl-lahuses, sellele mõne tilga terve inimese või looma värsket verd juurde tilgutame, segi segame, tsentrifuugimisega seerumi eraldame, sadet 0,85% NaCl-lahusega peseme ja uuesti tsentrifuugime; klaasi põhjas viibivad erütrotsüüdid, nende peal leukotsüüdid segatult erütrotsüütidega, kust neid pipetiga võetakse reaktsiooniks; 2) mikroobide suspensiooni, mida sel teel saame, kui 0,85% NaCl-lahu-

ses 1—2 aasatäit kultuuri homogeenseks suspensiooniks hõõrume; tuberkuloosibatsillide suspensiooniks võetakse surmatud ja uhmris hõõrutud mikroobid; 3) terve inimese või looma vereseerumit ja 4) uuritavat vereseerumit.

Katseks imetakse peenikesse Pasteuri pipetti järgemööda võrdne hulk uuritavat seerumit, sama loomaliigi leukotsüüte ja mikroobide suspensiooni, nii et iga komponendi vahele jääks väike õhukiht. Siis puhutakse kõik osad puhtale esemeklaasile ja imetakse uuesti tagasi, mida 2—3 puhul korratakse. Lõpuks imetakse segu tagasi pipetti, mille alumine ots tulel kinni joodetakse, ja pipett mahutatakse 15—30 min. termostaati 37° C t°-s. Selle järel murtakse pipeti ots lahti, segu puhutakse puhtale esemeklaasile, tõmmatakse teise esemeklaasi servaga laiali, kuivatatakse õhus, fikseeritakse 2—3 min. küllastatud sublimaadilahuses või formaliin-alkoholi segus (10 $cm^3$ formaliini + 90 $cm^3$ alkoholi), loputatakse veega puhtaks ja värvitakse Giemsa või mõne teise värvimismeetodiga. Samuti tuleb valmistada teine preparaat kontrolliks terve inimese või looma vereseerumiga. Mõlemas preparaadis loetakse ära 100 leukotsüüdis leiduvad mikroobid; jagades saadud arvud 100-ga, saame arvud (phagocytic count), mis näitavad uuritava ja normaalse vereseerumi fagotsütaarjõudu. Jagame uuritava seerumiga saadud mikroobide arvu terve inimese seerumiga saadud arvuga, siis saame opsoniinilise indeksi.

Opsoniinide katse lihtsustamiseks võetakse väikesse katsuklaasi 0,1 $cm^3$ patsiendi tsitraatverd (5 $cm^3$ verd + 0,2 $cm^3$ 20% *natr. citr.* 0,85% NaCl-lahuses), lisatakse 0,1 $cm^3$ vastavate mikroobide suspensiooni 0,85% NaCl-lahuses (tihedus alati võimalikult konstantne), loksutatakse segi ja hoitakse 30 min. 37° C veevannis. Segu määrida esemeklaasidele, kiiresti kuivatada sooja liikuva õhuga, fikseerida ja värvida. 25 polümorfonukleaarses leukotsüüdis loetakse mikroobide arv ja määratakse fagotsütaarjõud. Wright'i meetodit on mitmeti modifitseeritud, kuid sellele vaatamata on see katse väga ebakindel ja annab muutlikud resultaadid, sest fagotsüütide aktiivsus *in vitro* on väga varieeruv.

Neufeld ja Rimpau (1904, 1905) nimetasid bakteriotropiinideks immuunseerumis leiduvat antikeha, mis muu-

dab bakterid vastuvõtlikeks fagotsüütidele (immuunopsoniin) ja kiirendab fagotsüteerimist. Immuunopsoniinid ei stimuleeri leukotsüütide tegevust, nagu arvasid Metšnikov ja Bordet, vaid muudavad mikroobe. Bakteriotropiinid on spetsiifilised, termostabiilsed antikehad, mis kannatavad 56° C soojendamist 30 min. jooksul ja mis võivad toimida ilma komplemendi kaasabita, kuid komplement on võimeline suurendama nende toimet.

Peale selle tekivad tropiinid, kui immuniseeritakse looma erütrotsüütidega (hemotropiin) või seemnerakkudega (spermotropiin).

Bakteriotropiini globuliin, fikseerudes mikroobiga, muudab rakupinna omadusi, mille tõttu on fagotsüütidel kergem õgida mikroobi. Mainitud antikeha toimel muutub ka mikroob tundlikumaks sooladele ja mõnel juhtumil kasvab mikroobi membraani permeaablus ning kahaneb negatiivne elektrilaeng. Paljud ained, mis kahandavad mikroobi elektrilaengut (*natr. oleat* jt.), kiirendavad mikroobi fagotsüteerumist, ja ained, mis pidurdavad bakteriotropiiniga sensibiliseeritud mikroobi elektrilaengu kahanemist (*kal. ferrocyanid*), pidurdavad ka fagotsütoosi.

Bakteriotropiinide katse toimetamiseks Neufeld'i järgi on tarvilikud järgmised komponendid:

1) Suurem hulk leukotsüüte, millede saamiseks süstitakse meriseale kõhuõõnde umbes 5 $cm^3$ puljongit; parem on sellele lisandada väike hulk aleuronaati. Päev hiljem tapetakse siga; avatud kõhuõõnt loputatakse korduvalt 0,85% NaCl-lahusega ja loputamisvedelik ühes ekssudaadiga kogutakse katsuklaasi, milles on koaguleerimist takistav hulk *natr. citricum*'i lahust. Pärast mõneminutilist seismist valatakse pealmine osa teise katsuklaasi ja tsentrifuugitakse mitte liiga tugevalt. Sadet pestakse 2—3 korda 0,85% NaCl-lahusega. Reaktsiooniks kõlbavad leukotsüüdid, kui neil on mikroskoobi all näha liikumise ebajalakesed. Leukotsüütidest valmistatakse suspensioon 0,85% NaCl-lahuses, mida võib hoida 48 tunni jooksul jääkapis, ilma et nad oma tegevust kaotaksid.

2) Mikroobide suspensioon, mille valmistamiseks hõõrutakse 1—2 aasatäit kultuuri ühetaoliseks suspensiooniks võrdsetest osa-

dest koosnevas puljongi ja 0,85% NaCl-lahuse segus. Elusate mikroobide asemel võib tarvitada surmatud kultuuri.

3) Uuritavast 30 min. 56° C t°-s inaktiveeritud seerumist valmistatakse 0,85% NaCl-lahuses 1 : 5, 1 : 20, 1 : 100 kuni 1 : 1000 lahjendused.

Reaktsiooniks valatakse katsuklaasidesse võrdne hulk (0,1 $cm^3$) lahjendatud seerumit, mikroobide ja leukotsüütide suspensiooni. Segud mahutatakse termostaati 37° C soojusse 15 min. kuni 2 tunnini. Kontrolliks valmistatakse samasugused segud uuritavale seerumile vastava terve inimese või looma vereseerumist. Pärast termostaadis viibimist tsentrifuugitakse segud, sademest valmistatakse värvitud preparaadid ja määratakse fagotsütaarjõud, nagu seda kuulsime eespool opsoniinide uurimisel. Kõige väiksemat hulka seerumit, kus fagotsütoosi veel on leida, nimetatakse bakteriotropiini tiitriks. Kui katseks tarvitatakse kõrgema kontsentratsiooniga seerumilahuseid, siis peab võtma sama loomaliigi leukotsüüte, sest võõras vereseerum võib pidurdada fagotsütoosi.

## XXII peatükk.

## Antitoksiinid ja antifermendid.

### Antitoksiinid.

Behring ja Roux näitasid, et kõik valkainete sarnased mikroobide, loomade ja taimede toksiinid loomale parenteraalsel teel kord-korralt suureneval hulgal süstitult põhjustavad spetsiifilise antikeha — antitoksiini — tekkimist, mis neutraliseerib *in vivo* ja *in vitro* vastavat toksiini. Kui inimene või loom põeb nakkushaigust, mille tekitaja valmistab organismis suuremal hulgal vaba toksiini (ektotoksiin), siis tekib organismis suuremal või väiksemal määral spetsiifilist antitoksiini, mis seal püsib aastate vältel pärast haigusest paranemist. Esimestena uuriti (Behring, Kitasato ja Roux) teetanuse ja difteeria antitoksiine, millele järgnes paljude teiste antitoksiinide uurimine.

Spetsiifilisi antitoksiine leidub väiksemal määral sageli ini-

mese ja loomade normaalseerumis — normaalantitoksiinid; nad sarnanevad kunstliku immuniseerimise teel saadud antitoksiinidega. Antitoksiinid pääsevad platsenta kaudu lootesse ja rinnapiimaga imiku organismi. Antitoksiinid kaotavad oma spetsiifilise toimivuse seerumis 60—70° C t°-s, kuid kuivatatult kannatavad nad 110° C t° 30 min. vältel. Antitoksiini toimivus kahaneb ja kaob lühema või pikema aja vältel seerumi vananemisega, leeliste, hapete (eriti HCl), valguse (eriti roheliste ja siniste kiirte), pepsiini, trüpsiini ja hapniku toimel. Antitoksiinid on seotud seerumi globuliini fraktsioonidega ja sadestuvad koos nendega.

Toksiini neutraliseerumine spetsiifilise antitoksiini toimel oleneb samadest faktoritest ja allub samadele seadustele kui kõik teised antigeen-antikeha reaktsioonid. Segame toksiini spetsiifilise antitoksiiniga *in vitro*, siis tekib spetsiifiline pretsipitatsioon. Antitoksiin vajab toksiiniga liitumiseks mitu tundi. Toksiini neutraliseerumine spetsiifilise antitoksiini mõjul toimub *in vivo* ilma organismi erilise aktiivse osavõtuta. Toksiini ja antitoksiini neutraliseerunud segu on võrdlemisi stabiilne. Hoides säärast segu 80° C t°-s või lisandades sellele soodsa hulga soolhapet, vabaneb toksiin ja segu muutub loomadele mürgiseks. Vähe tuntud eritingimusis võib toksiini vabanemine segust toimuda ka organismis.

Antitoksiini hulga määramisel immuunseerumeis — standardiseerimisel — on tarvilikud vastavad mõõtmisühikud. Ehrlich (1897) võttis difteeria antitoksiini standardiseerimise põhiühikuks difteeriatoksiini minimaalse surmava annuse (D. L. M.) ja nimetas antitoksiini ühikuks (A. Ü.) kõige väiksemat hulka seerumit, mis neutraliseerib 100 minimaalset surmavat toksiiniannust. Nagu ülalpool kuulsime, kaotavad toksiinid seismisel ja mitmesuguste füüsikaliste ning keemiliste reaktiivide toimel kord-korralt oma toksilisuse, muutudes toksoidideks. Viimased on aga võimelised siduma antitoksiini. Seepärast ei ole võimalik pikema aja vältel säilitada stabiilset standardtoksiini antitoksiini määramiseks loomadele süstimise abil. Seevastu jääb *in vacuo* kuivatatud ja

0° C t°-s alalhoitud antitoksiline seerum stabiilseks pikema aja vältel ja moodustab väärtusliku standardi. Ehrlich'i originaalne difteeria-antitoksiin võeti rahvusvaheliseks standardiks, ja difteeria-antitoksiini ühikuks (A. Ü.) hakati nimetama seda hulka antitoksilist seerumit, mis suudab siduda sama hulga toksiini ja toksoidi, kui üks ühik Ehrlich'i originaalset antitoksiini. Praegusel ajal kasutatakse antitoksiliste seerumite immuunühikute (I. Ü. ehk A. Ü.) määramisel erilisi rahvusvaheliselt kehtivaks tunnistatud standardseerumeid.

Asudes mõne antitoksilise seerumi väärtuse mõõtmisele, määratakse alul vastava värske toksiini (toksilise filtraadi) hulk, mida neutraliseerib üks ühik standardantitoksiini. Selle toksiini abil määratakse uuritava antitoksilise seerumi hulk, mis vastab ühele antitoksilisele ühikule. Et need mõlemad määramised toimuvad mõne päeva vältel, siis ei ole karta toksiini muutumist toksoidiks säärasel määral, mis võiks eksitada *in vivo* meetodi abil saadud tulemusi. Säärane titreerimismeetod avas võimaluse kahesuguse toksiinidoosi fikseerimiseks igas toksiini ja toksoide sisaldavas difteeria kultuuri filtraadis:

1) Limes null ($L_0$) on kõige suurem hulk difteeriatoksiini, mis segatuna ühte antitoksiini ühikut sisaldava immuunseerumiga ja süstituna 250 g kaaluvale meriseale nahaalusi ei põhjusta konstateeritavat reaktsiooni, või põhjustab minimaalse lokaalse ödeemi.

2) Limes surm ($L_+$) on kõige väiksem hulk difteeriatoksiini, mis segatuna ühe antitoksiini ühikuga ja süstituna 250 g meriseale nahaalusi, surmab looma 96 t. vältel.

Kui toksiin liituks vastava antitoksiiniga konstantses proportsioonis, andes stabiilse keemilise ühendi, siis oleks

$L_+$ toksiin — $L_0$ toksiin = 1 D. L. M.

Tõeliselt kõigub aga diferents $L_+$ ja $L_0$ vahel 10—100 D. L. M. piirides või koguni üle selle. Kui lisandame teatavale hulgale toksiinile varieeruvad hulgad antitoksiini, siis ei moodusta neut-

raliseerimiskõver sirgjoont, nagu see on kangete hapete ja kangete leeliste puhul. Danysz (1902) leidis, et lisandades antitoksiinile korraga ekvivalentse hulga toksiini, muutub segu neutraalseks ja loomale mittetoksiliseks. Lisandame aga antitoksiinile ekvivalentse hulga toksiini kahes või rohkem fraktsioonis 15—20 min. vahemikkudega, siis jääb segu harilikult toksiliseks. Mainitud Danysz'i fenomen, samuti ka teised ülalesitatud toksiini-antitoksiini reaktsiooni puhul esinevad nähtused tõendavad, et toksiini-antitoksiini reaktsioon allub kolloidide reaktsioonide ja eriliselt adsorptsiooni seadustele, kuid mitte nõrga happe ja nõrga aluse liitumise seadusele, nagu seda toonitasid Arrhenius ja Madsen.

Antitoksiliste seerumite väärtuse mõõtmisel eksperimentaalse ehk *in vivo* meetodiga võetakse mitmesse katsuklaasi teatav hulk titreeritud toksiini, lisandatakse kord-korralt vähenev hulk uuritavat antitoksilist seerumit ja 0,85% NaCl-lahust kuni soovitava ühtlase hulgani. Toasoojuses 30—60 min. seisnud segud süstitakse vastuvõtlikkudele ühe ja sama kaaluga loomadele (merisead, hiired jt.) nahaalusi ning jälgitakse tarviliku aja vältel tulemusi, millede alusel arvestatakse antitoksiini ühikute hulk 1 $cm^3$ uuritavas seerumis. Uuritava antitoksilise seerumi ravi- ehk immuniseeriva toime mõõtmisel süstitakse vastavatele loomadele nahaalusi enne teatav hulk seerumit ja siis teatava ajavahemiku järel toksiin.

Äärmiselt väikeste antitoksiini hulkade ($^1/_{250}$—$^1/_{4000}$ A. Ü.) mõõtmisel süstitakse toksiini ja antitoksiini segu loomale nahasisesi (intrakutaanselt) ja jälgitakse lokaalset reaktsiooni.

Antitoksilise seerumi väärtuse mõõtmise *in vitro* rajas Ramon järgmisele juba varemini konstateeritud (Calmette ja Massol, Nicolle, Desbains ja Césari) katse tulemusele: kui võtame mitmesse katsuklaasi teatava hulga toksiini, lisandame neile vastavat antitoksiini kord-korralt väheneval hulgal ja hoiame segusid toasoojuses või 38° C $t^0$-s, siis ilmub lühema või pikema aja vältel flokulatsioon kõige enne selles segus, kus viibivad ekvivalentsed hulgad toksiini ja antitoksiini. Määramisreaktsiooni toimetatakse Ramon'i ja

Scholz'i järgi järgmiselt: mitmesse katsuklaasi võetakse teatav hulk (2—20 $cm^3$) varemini titreeritud toksiini, lisandatakse kord-korralt väiksemal hulgal lahjendamata uuritavat seerumit (2,0; 1,5; 1,3; 1,0; 0,9; 0,8; 0,6 jne.) või veel parem 0,5 $cm^3$ mitmesuguse lahjendusega seerumit 0,85% NaCl-lahuses, loksutatakse segi ja hoitakse 38° C t°-s või toasoojuses ning täheldatakse see segu, kus kõige enne ilmub makroskoobiliselt selgesti konstateeritav flokulatsioon (pretsipitatsioon). Lähtudes selle segu toksiini tiitrist saame lihtsa arvestamise abil antitoksiiniühikute (flokulatsiooniühikud) arvu 1 $cm^3$ seerumis.

Antitoksiini määramine flokulatsioonreaktsiooni abil kiirendab tulemuste saavutamist ja on märksa vähem kulukas kui *in vivo* meetod. Selgus, et mitmesugustelt loomadelt saadud antitoksilised immuunseerumid põhjustavad, sõltumatult nendes leiduvate antitoksiiniühikute arvust, flokulatsiooni, mille tekkimise kiirus võib olla väga varieeruv. Nähtavasti põhjustab antitoksiinide aviidsuse erinevus seerumi ja toksiini kiiremat või aeglasemat neutraliseerumist ja flokulatsiooni. Vastavad uurimised (Madsen ja Schmidt) näitavad, et antitoksiini aviidsusest ja flokulatsiooni kiirusest oleneb ka immuunseerumi ravitoime, seepärast ei ole seerumis leiduv antitoksiinihulk selle raviväärtuse absoluutseks mõõduks.

Loomade immuniseerimise abil kord-korralt suureneva hulga natiivtoksiiniga või mitmel viisil (kuumutamine, kloorkulla-lahuse, formaliini lisandamine jne.) nõrgestatud toksiinidega on juba saadud antitoksiine väga mitmesuguste mikroobide toksiinide (*C. diphtheriae, Cl. tetani, Cl. botulinum, Shigella dysenteriae, Clostr. perfringens, Vibrio comma* jt.), loomade toksiinide (skorpioni, mesilaste, kärnkonna, madude jt.) ja paljude taimede toksiinide (ritsiin, abriin, robiin ja heinatolm) vastu.

## Antifermendid.

Antifermendiks nimetatakse spetsiifilist antikeha, mis neutraliseerib vastava fermendi toimet. Immuniseerimise teel on kõrgeväärtuslikkude antifermentide saamine seotud suurte raskus-

tega. Praegusel ajal on immuun-antifermentidest tuntud antilaapferment, antitrüpsiin, antifibriinferment, antipepsiin, antisteapsiin, antilaktaas, antiureaas, antitürosinaas ja mõned teised. Suuremat huvi pakub nendest antitrüpsiin.

Leukotsüüdid sisaldavad proteolüütilist fermenti, mis leukotsüütide lagunemise järel vabaneb ja organismis antifermenti tekitab. Peale selle tekib antiferment paljude teiste koerakkude (kilpnäärme, põrna, maksa jne.) autolüüsi tagajärjel. Vereseerumis leidub rohkesti antifermenti tuberkuloosi, malaaria, vähktõve ja Basedow'i haiguse puhul. Mida rohkem laguneb organismis rakke, seda enam vabaneb fermenti, mis antigeenina põhjustab antifermendi tekkimist. Seepärast võib antitrüpsiini hulk vereseerumis olla teataval määral mõõdupuuks koerakkude lagunemisele organismis. Normaalses vereseerumis leidub antitrüpsiini vähesel määral.

Vereseerumi antitrüptilist toimet võib määrata mitmel viisil. Lihtne ja võrdlemisi täpne on Gross-Fuld'i meetod. Reaktiivideks on:

1) kaseiinilahus, milleks 1 g puhast kaseiini lahustatakse kerge soojendamise abil 100 $cm^3$ $n/_{10}$ NaCl-lahuses, neutraliseeritakse lakmusepunktini $n/_{10}$ HCl-lahusega ja lisandatakse kuni 500 $cm^3$ 0,85% NaCl-lahust, keedetakse ja hoitakse külmas kohas. Steriliseeritult võib seda segu alal hoida pikema aja jooksul;

2) trüpsiiniemulsioon: 0,5 g *trypsinum purissimum*'ist valmistatakse emulsioon 50 $cm^3$ 0,85% NaCl-lahuses, lisandatakse 0,5 g normaalset soodalahust ja 0,85% NaCl-lahust kuni 500 $cm^3$. Steriilselt alalhoidmiseks lisandatakse segule mõni tilk kloroformi;

3) äädikhappe-lahus: 5 $cm^3$ *acid. acetic. glacial.* + 45 $cm^3$ alkoholi $90^0$ + 50 $cm^3$ *aq. destill.*

Alul titreeritakse trüpsiini toimet. Selleks võetakse 6—8 katsuklaasi suurenevates doosides 0,1—0,8 $cm^3$ trüpsiiniemulsiooni, lisandatakse kuni 1 $cm^3$ füsioloogilist söögisoola-lahust ja 2 $cm^3$ kaseiinilahust. Segu lastakse seista 30 min. termostaadis $37^0$ C $t^0$-s. Selle järel valatakse igale klaasile ettevaatlikult juurde klaasi seina pidi ülaltähendatud äädikhappe-lahust. Nendes katsuklaasides, kus viibib veel seedimata kaseiini, tekib hägune valkjas rõngas. Seda trüp-

siinihulka, kus seesugust rõngast enam ei teki, nimetatakse trüpsiini tiitriks. Pärast säärast eelkatset toimetatakse vereseerumi uurimist. Uuritavat vereseerumit lahjendatakse 50 korda füsioloogilise söögisoola-lahusega, sellest valatakse igasse katsuklaasi (10—12 klaasi) 0,5 $cm^3$. Igale katsuklaasile lisandatakse suurenev doos 0,4—1,5 $cm^3$ trüpsiiniemulsiooni, 2 $cm^3$ kaseiinilahust ja füsioloogilist söögisoola-lahust kuni 4 $cm^3$, loksutatakse segi ja hoitakse 30 min. termostaadis 37° C t°-s. Selle järel lisandatakse igale segule mõni tilk (5—6 tilka) äädikhappe-lahust. Viimane segu, kus tekib veel valkjas rõngas, näitab seerumi antitrüptilist tiitrit.

## XXIII peatükk.

## Aktiivne immuunsus.

Aktiivse, spetsiifilise, antibakteriaalse immuunsuse omandab inimene või loom põdedes nakkushaigust (loomulik aktiivne immuunsus) või parenteraalselt organismi süstitud bakteriaalsete antigeenide toimel (kunstlik aktiivne immuunsus). Üldiste infektsioonide puhul näeme, et antikehad hakkavad ilmuma veres, kui haigus on arenenud haripunktini, kus toimub otsustav võitlus organismi ja sissetunginud mikroobide vahel. Kohastunud kaitsemehhanism ja spetsiifilised antikehad lõpetavad haiguse paranemisele kaldumise korral bakterite viibimise veres, kuid infektsioonikolded võivad jääda püsima lümfinäärmetes, põrnas, maksas ja sageli mõnes teises elundis või koes. Lõpuks kaovad mikroobid ka mainitud kolletest ja haigusele järgneb lühemat või pikemat aega kestev resistentsus samale haigusele.

Kunstliku aktiivse immuunsuse saamiseks mõne nakkushaiguse vastu on tarvis põhjustada reaktsiooni organismis mikroobikultuurist valmistatud spetsiifilise antigeeni ehk bakteriaalse vaktsiini süstimise teel. Antibakteriaalse immuunsusega suhtuvad inimene ja loom välismaailmast sissetungivaisse virulentseisse mikroobesse üldjoonis samuti, nagu normaalne

organism suhtub avirulentseisse või nõrgalt virulentseisse mikroobesse. Aktiivse immuunsuse puhul võivad veres puududa spetsiifilised antikehad, kuid sellele vaatamata on immuunsus üldiselt spetsiifiline ja kaitseb organismi esmajoones immuniseerimiseks kasutatud mikroobi vastu ning osalt ka nende mikroobide vastu, mis sisaldavad eelmise mikroobiga ühiseid antigeenikomponente. Antibakteriaalselt immuniseeritud loomalt saadud vereseerumi tõhus kaitsetoime ei olene iga kord kõigist nendest antikehadest, mis tekivad immuniseerimisel. Näiteks on pneumokokkides esinevatele polüsahhariididele vastavad antikehad tugevaks kaitseks homoloogse pneumokoki tüve vastu, kuna aga samades mikroobides leiduvate nukleoproteiididele vastavad antikehad on väikese toimega või koguni ilma kaitseva toimeta. On leitud (Sugg, Richardson ja Neill), et üks eriline pärmseente liik sisaldab polüsahhariidi, mis immuniseerib hiiri spetsiifiliselt *Diploc. pneumoniae* II tüübi vastu. Paljude viburite abil liikuvate mikroobide (*Eb. typhosa, Salmonella paratyphi* jt.) termolabiilsele H-antigeenile vastavad spetsiifilised antikehad ei kaitse või kaitsevad väga nõrgalt organismi mikroobide invasiooni vastu, kuna O-antigeenile vastavad spetsiifilised antikehad on tugevaks kaitseks. Aktiivse immuniseerimise katsed tüüfus-paratüüfuse gruppi kuuluvate mikroobidega näitavad, et kõige tugevama resistentsuse omandavad need loomad, keda immuniseeritakse virulentsetest S-tüvedest valmistatud vaktsiinidega, kuna R-tüvedest valmistatud vaktsiin ei tekita erilist kaitset. Virulentsetel S-vormidel esineb spetsiifiline antigeen pinnaliste polüsahhariidide näol. Mainitud omadusi tuleb silmas pidada soodsa tüve valimisel bakteriaalse vaktsiini valmistamiseks.

Kui nakkushaiguse puhul infektsioonikolded lokaliseeruvad organismile olulise tähtsusega elundites või kudedes, siis on kunstliku immuniseerimise terapeutiline tulemus sageli väga küsitav. Vastsündinud ja väga noores organismis, kus veri on alles vaene globuliinidest, ei teki või tekib vaid piiratud määral antikehasid aktiivse immuniseerimise tagajärjel.

Behring ja Kitasato (1890) leidsid esimestena, et teetanuse- ja difteeriatoksiini väikeste annuste korduva süstimise

tagajärjel loomadele ilmusid veres spetsiifilised antitoksiinid, mis kaitsesid organismi homoloogilise toksiini ja osalt ka toksiini valmistajate mikroobide vastu. Hiljemini selgus, et säärast spetsiifilist resistentsust võib anda immuniseerimine paljude teiste mikroobide ektotoksiinidega. Säärast resistentsust hakati nimetama aktiivseks antitoksiliseks immuunsuseks. Välja arvatud loomulikud resistentsuse juhtumid, omistatakse antitoksilise immuunsuse kaitsev toime peamiselt veres esinevatele spetsiifilistele antitoksiinidele. Neid tarvitseb viibida veres vaid väike hulk, et kaitseda organismi loomulikes tingimusis toimuva infektsiooni vastu (difteeria kaitseks piisab 0,01 A. Ü. pro 1 $cm^3$ seerumis). Kui aga infektsioonikolle on juba arenemisastmes, kust pidevalt resorbeerub toksiini suuremal hulgal organismi, siis ei piisa viimase kaitseks väikesest antitoksiini hulgast. Kaitseks vajalikku lisa antitoksiini valmistab organism resorbeeruva toksiini mõjul. Kui toksogeensed patogeensed mikroobid on juba tunginud verre ja kudedesse (üldine infektsioon), siis võib aktiivse immuniseerimise teel toksiiniga tõsta organismi resistentsust ainult toksiini vastu, kuna mikroobid takistamatult oma kahjulikku tegevust jätkavad (*Streptococcus, Staphylococcus* jt.) ja organism võib nendest võitu saada ainult normaalse antibakteriaalse kaitsemehhanismi abil. Olgu mainitud, et terava piirjoone tõmbamine antibakteriaalse ja antiendotoksilise immuunsuse vahel on seniste kogemuste alusel peaaegu võimatu.

Aktiivset immuniseerimist mikroobidega tunti juba aastasadade eest. Rõugehaigete mädavillidest võetud, elusat viirust sisaldavat mäda poogiti tervetele, kes selle järel kergel kujul rõugehaigust põdedes püsiva resistentsuse omandasid (*variolatio*). Jenner (1798) soovitas kasutada inimese kaitsepookimiseks rõugete vastu vähem ohtlikku lehmarõugete mäda (*vaccina*), mis kiiresti leidis tarvitamist rahvusvahelises ulatuses. Pasteur hakkas kasutama aktiivseks immuniseerimiseks elusaid, kuid nõrgestatud virulentsusega mikroobe. Alates tollest ajast, kus avastati võimalus patogeensete mikroobide kasvatamiseks puhta kultuurina kunstlikel söötmeil, hakkas kiiresti arenema immuniseerimine bakteriaalsete antigeenidega ehk vaktsiinidega ja käesoleval ajal kasutatakse seda

meetodit väga mitmesuguste nakkushaiguste tõrjeks (vaktsinoprofülaktika) ning võrdlemisi paljude nakkushaiguste raviks (vaktsinoteraapia).

Aktiivseks immuniseerimiseks kasutatakse praegusel ajal järgmisi menetlusi:

1) Elusaid patogeenseid mikroobe kasutatakse nendel juhtumeil, kus parenteraalselt süstitud mikroobid ei tekita haigusnähte, nagu kooleravibrioonide süstimine nahaalusi või verre (Ferran ja Haffkin), difteeriabatsillide süstimine, *Brucella abortus*'e süstimine loomadele ja *lyssa* viirusega immuniseerimine (Högyes). Virulentsete mikroobide korduvate süstimiste abil on katsutud kiirendada immuunsuse tekkimist nakkushaigust kroonilisel kujul põdevatel loomadel (tuberkuloos jt.), samuti ka neil juhtumeil, kus mittevirulentsete antigeenidega on saavutatud enam-vähem tugev põhiimmuunsus. Puuduliku ettevaatuse korral võib eelmainitud immuniseerimismeetod saada taudi levimise põhjuseks, mis on selle meetodi üheks puuduseks.

2) Nõrgestatud virulentsusega elusate mikroobide kasutamine aktiivseks immuniseerimiseks on leidnud laialisemat tarvitust. Virulentsuse kahandamiseks kasutatakse mikroobi kultiveerimist kasvu optimumist kõrgemas $t^0$-s (*Bac. anthracis* 42—43° C, *Pasteurella pestis* 40—43° C, *Diplococcus pneumoniae* 39° C jne.), mikroobisuspensiooni soojendamist mitmesuguse aja vältel 56—70° C $t^0$-s, mikroobide osalist kuivatamist (*lyssa* viirus, poliomüeliidi viirus jt.), keemiliste ainete lisandamist mikroobide suspensioonile (alkoholi 0,5—5%, glütseriini 25—80%, karboolhapet 0,5—1,0%, Lugoli lahust jt.), korduvat ümberkülvamist pikema aja vältel erilisile või harilikele söötmeile (BCG — Calmette-Guérin, *Bac. anthracis* jt.) ja korduvaid passaaže läbi vähe vastuvõtlikkude loomade.

3) Surmatud mikroobide kasutamine kunstlikuks aktiivseks immuniseerimiseks on käesoleval ajal kõige laialdasemalt levinud. Tee selleks avasid Pfeiffer'i ja Kolle võrdlevad immunoloogilised katsed, mis näitasid, et surmatud ja seetõttu osalt denatureerunud mikroobisubstantsid tekitavad tugeva spetsiifilise immuunsuse. Mikroobe surmatakse peamiselt mikroobi-

suspensiooni kuumutamisega veevannis ligikaudu säärases $t^0$-s, kus mikroob sureb 1—2 t. vältel, kuna kõrge $t^0$ toimel tekivad mittespetsiifilised ja ärritava toimega produktid, millega ühtlasi kahanevad mikroobi spetsiifilised antigeensed omadused (*Neisseria gonorrhoeae* 40—45° C, *Vibrio comma* 53—55° C, *Streptococcus* ja *Staphylococcus* 60—65° C, *Esch. coli* 65—68° C jne.). Suspensiooni steriilsuse proovimiseks pärast kuumutamist külvatakse sellest üks tilk harilikule agarsöötmele, teine tilk astsiitagarile ja kolmas harilikku puljongsöötmesse ning kasvatatakse 48—72 t. 37° C $t^0$-s. Ilmub kasv, siis peab kuumutamist kordama ja steriilsust uuesti proovima.

Keemilisist vahendeist on mikroobide surmamiseks otstarbekohane formaliin, mida lisandatakse mikroobide suspensioonile 0,5—1%, hoitakse korduvalt loksutades õhukindlalt kaetud nõus 37° C $t^0$-s 1—10 p., üleliigne formaliin neutraliseeritakse ammoniaagiga või mikroobid sadestatakse tsentrifuugimise teel, sadet pestakse 0,85% NaCl-lahusega ja lõplikul tsentrifuugimisel saadud sademest valmistatakse soovitava tihedusega suspensioon 0,85% NaCl-lahuses. Formaliiniga surmatud mikroobid on vähem mürgised, nad ei autolüseeru seismisel ja immuniseerivad hästi. Peale selle võib mikroobide surmamiseks suspensioonile lisandada kloroformi (1%), toluooli, eetrit või atsetooni; korduvalt loksutades lastakse seista toasoojuses 1—2 p. ja tsentrifuugimisel saadud sademest valmistatakse tarvilik suspensioon. Väga sageli tarvitatakse mikroobide surmamiseks fenooli, mida lisandatakse suspensioonile 0,5% ja hoitakse 1—2 p. 30—37° C $t^0$-s. Fenooli asemel võib tarvitada lüsooli (0,25%) või trikresooli (0,3%). Erijuhtumeil kasutatakse selleks glütseriini, urotropiini, kusiainet, kiniini või raskeid metalle (Cu, Ag jt.). Kiiresti surmab mikroobe eetriaur, mida suspensioonist lastakse soojalt (42—43° C) läbi voolata 30—40 min. vältel.

4) Mikroobide ekstraktidega, samuti ka mikroobest eraldatud üksikute komponentide süstimistega on saavutatud rahuldavaid tulemusi aktiivsel immuniseerimisel. Vesiekstraktide saamiseks valmistatakse mikroobikultuurist suspensioon 0,85% NaCl-lahuses või destilleeritud vees, hoitakse 1—14 p. toatemperatuuris,

37—40° C t°-s, 55—60° C t°-s või külmas jääkapis, kurnatakse läbi bakterite kurna ja filtraati (autolüsaati) kasutatakse antigeenina. Soovitav on suspensiooni loksutada pidevalt või korduvalt raputusaparaadis. Ekstraktide valmistamiseks ja mikroobirakkude lammutamiseks võib kasutada NaOH- ja KOH-lahust (n/20—10%), soodalahust (n/10), antiformiini (10—20%), mineraalhappeid, glütseriini, kloroformi, metüülalkoholi, petrooleetrit, atsetooni ja sappi. Ekstraktide antigeensed omadused kannatavad sageli mainitud ainete mõjul.

5) Mikroobide toksiinidega immuniseerimist peab alustama väikeste annuste süstimisega, mis ei põhjusta ohtlikke mürgistusnähte. Annust suurendatakse ettevaatlikult. Immuniseerimine on lihtsam toksiiniga, mille mürgilisus on kahandatud või täielikult kõrvaldatud. Selleks võib toksiini kuumutada 60—70° C t°-s või lisandada sellele joodtrikloriidi (0,25%) või formaliini (1—4 : 1000). Seejuures peab aga mainima, et ei ole veel täpselt teada, kas kunstlikult saadud toksoid ehk anatoksiin annab immuniseerimisel niisama tugeva ja spetsiifilise kaitse kui natiivne toksiin.

6) Antigeeni ja vastava antikehaga kombineeritud immuniseerimise — serovaktsinatsiooni — puhul põhjustab spetsiifiline antikeha kiiresti passiivse immuunsuse, mida aeglaselt täiendab antigeeni stimuleeriv toime. Selle meetodi abil on võimalik süstida immuniseerimisel elusate virulentsete mikroobide ja natiivsete toksiinide suuremaid annuseid kui lahus-süstimiste puhul. Kombineeritud immuniseerimisel võib alul süstida spetsiifilist immuunseerumit ja teatava aja järel mikroobide suspensiooni. Tuleb silmas pidada, et selle meetodi abil immuniseeritud isikud võivad pikemaks ajaks muutuda mikroobide eritajaiks. Antigeeni ja immuunseerumit võib süstida ühel ajal, kuid erinevatesse kohtadesse (simultaanmeetod). Samuti võib kasutada kombineeritud immuniseerimisel mikroobide ja spetsiifilise immuunseerumi segu, või segust pärast seismist (sensibiliseerimist) tsentrifuugimise teel sadestatud ja korduvalt 0,85% NaCl-lahusega pestud mikroobide suspensiooni. Eriliselt on tuntud kombineeritud immuniseerimine toksiinide ja vastavate antitoksiliste seerumite neutraalsete segudega. Mõnede õnnetult lõppenud juhtumite alusel

on arvamine tekkinud sääraste segude mürgiseks muutumise võimaluse kohta organismis. Kombineeritud immuniseerimise tagajärjel võib organism muutuda süstitava seerumi vastu ülitundlikuks, mis põhjustab anafülaktilisi nähte seerumi korduva süstimise puhul.

7) Haiguse viirust sisaldavatest kudedest ja organitest (seljaaju, peaaju jne.) valmistatud emulsioonid on osutunud väga väärtuslikeks antigeenideks immuniseerimisel paljude haiguste vastu (*lyssa, poliomyelitis* jt.). Mõnikord annab immuniseerimisel häid tagajärgi haiguskoldest kogutud materjalist (mäda, röga jne.) valmistatud vaktsiin, milles mikroobid on surmatud või nõrgestatud mõne eelmainitud meetodiga.

Bakteriaalsete antigeenide ehk vaktsiinide valmistamiseks kasutatakse võimalikult värskelt isoleeritud, virulentseid ja tugeva immuniseeriva toimega tüvesid (S-vormid). Ühest mikroobitüvest valmistatud vaktsiini nimetatakse monovalentseks, mitmest tüvest saadud vaktsiini polüvalentseks. Haige organismist isoleeritud tüvest valmistatud ja sama haige immuniseerimiseks kasutatavat vaktsiini nimetatakse autovaktsiiniks; võõrast organismist isoleeritud mikroobitüvest saadud vaktsiini nimetatakse heterovaktsiiniks. Kui on tarvidus immuniseerida korraga mitme nakkushaiguse vastu, siis segatakse vaktsiini valmistamisel soovitavate mikroobide suspensioonid (segavaktsiin).

Vaktsiinide valmistamisel kasvatatakse mikroobikultuuri optimaalseis tingimusis tahkeil söötmeil (agar, astsiitagar jne.) või tarbe korral vedelais söötmeis (harilik puljong jt.). Olenedes mikroobide vajalikust hulgast, kasvatatakse kultuuri katsuklaasides või söötme pinnal laiapõhjalistes kolbides, kaussides või pudeleis. 24—48 tunni vanusele kultuurile valatakse peale 5—25 $cm^3$ 0,85% NaCl-lahust, mikroobid uhetakse söötmepinnalt lahti, hõõrudes tarbe korral kultuuripinda klaaspulgakesega; saadud suspensioon loksutatakse (tarbe korral hõõrutakse uhmris) homogeenseks ja kurnatakse läbi steriilse mitmekordse marli, et kõrvaldada söötmeosasid. Vedelas söötmes kasvanud kultuurist sadestatakse mikroobid tentrifuugimise abil ja sademest valmistatakse algsuspensioon 0,85% NaCl-lahuses. Ühtlases suspensioonis määratakse

mõne eelmainitud meetodiga mikroobide arv ehk suspensiooni kontsentratsioon; suspensioon töötatakse siis ümber vastavalt sellele, missugust vaktsiini soovitakse saada (surmatud, nõrgestatud või elusat), lahjendatakse steriilse 0,85% NaCl-lahusega soovitava kontsentratsioonini; surmatud vaktsiinile lisandatakse konservivat ainet (fenooli 0,3—0,5%, trikresooli 0,4%, lüsooli 0,25% jne.), valatakse steriilseisse ampullidesse või klaasikestesse, joodetakse või kaetakse pealt õhukindlalt kinni ja hoitakse külmas (4—8° C), pimedas ja kuivas kohas, kus vaktsiinid püsivad tarvitamiskõlblikkudena 6—12 kuud. Vaktsiinide valmistamine peab toimuma steriilselt.

Bakteriaalsete vaktsiinide viimist organismi parenteraalsel teel võib toimetada väga mitmel viisil. Harilikult süstitakse vaktsiini nahaalusi (subkutaanselt), kust see pikkamisi resorbeerub. Süstimiseks valitakse koht, kus nahk on liikuvam ja riided vähem rõhuvad (seljale, rinnale, kõhunahaalusi jne.). Kiiresti kutsub immuunsuse esile vaktsiini süstimine verre (intravenoosselt), kuid sellele võib järgneda mittesoovitav tugev reaktsioon. Uuemal ajal on pooldamist leidnud vaktsiini tarvitamine naha kaudu kompresside, salvide ja nahasse hõõrumise näol, mille puhul sageli soovitatakse enne nahka skarifitseerida (transkutaanmeetod). Nahainfektsioonide puhul on saavutatud häid tulemusi vaktsiini süstimisega (0,1—0,2 $cm^3$) nahasse (intrakutaanselt), kuid need süstimised põhjustavad sageli valu. Kiiresti resorbeerub lihastesse (intramuskulaarselt) süstitud vaktsiin.

Mitmesuguste soolteinfektsioonide (*typhus abdominalis, dysenteria, cholera asiatica* jt.) vastu võib saada head kaitset vaktsiini tarvitamisega suu kaudu (*per os*) ja pärasoole kaudu (*per rectum*). Suu kaudu võetud vaktsiin resorbeerub kiiremini, kui seedimisteede limanahka alul ärritatakse loomasapist valmistatud pillide või *magnes. sulfuricum*'i sissevõtmisega. Vaktsiin resorbeerub piiratud hulgal, kui seda tilgutatakse konjunktiivale, ninasse või kurku. Paremaid tulemusi näib andvat vaktsiini sissehingamine (inhalatsioon). Kopsud suudavad absorbeerida kiiresti suure hulga vedelikku. Sel teel võib ilma suurema reaktsiooni tekkimiseta keskmiselt 50 korda rohkem vaktsiini orga-

nismi juhtida, kui nahaalusi süstimise teel (Besredka, Löwenstein, Calmette jt.). Juba ammu oli teada, et ka paljud terapeutilised vahendid pulveriseeritud lahustena sissehingatult hästi ja kiiresti toimivad. Immuniseerimist vaktsiinide, anatoksiinide ja antitoksiliste seerumite inhalatsiooni abil on toimetatud rahuldavate tulemustega väga mitmetel juhtudel (Besredka, Nicolle, Silberschmidt jt.), kuid kahjuks on see meetod seotud tehniliste raskustega.

Peale vaktsiini antigeensete omaduste ja tarvitamisviisi olenevad aktiivse immuniseerimise tulemused inimese või looma individuaalsest erinevusest ja teistest veel vähe tuntud faktoritest. Seepärast ei ole õnnestunud täpselt kindlaks määrata vaktsiinide annuseid ja nende süstimise järjekorda iga üksikjuhtumi suhtes. Seniseist kogemusist on selgunud, et püsiva ja praktiliselt küllaldase immuunsuse saamiseks peab vaktsiini korduvalt süstima, alustades väikese hulgaga ja suurendades annust kord-korralt järgnevate süstimiste puhul. Järgmist süstimist toimetatakse ainult siis, kui on kadunud eelmise süstimise tagajärjel tekkinud reaktsioonid. Viimastest on tähtsamad:

1) kohalik ehk lokaalne reaktsioon — punetus, paistetus ning valu süstimise kohal ja lümfinäärmete pundumine süstimise piirkonnas;

2) üldine reaktsioon — väsimus, peavalu, pööritus, mõnikord ka okse, kõhukorratus, liigeste valu ja palavik;

3) kolde- ehk fookusereaktsioon — haigusprotsesside (peamiselt lokaalsete) ägedamaks muutumine vaktsiiniga ravimise puhul, nagu paise puhul punetus, valud ja suurenenud mädavool. Reaktsioon kestab 3—4 p. ja on mõnikord seevõrra raske, et patsient peab 2—3 päeva voodis viibima, mis raskendab suure hulga inimeste (näit. sõdurite) korraga immuniseerimist profülaktiliseks otstarbeks taudiohu puhul. Iseäranis kardetavad on tugevamad reaktsioonid nõrkadele ja haigetele isikutele, seepärast peab immuniseerimist toimetama erilise ettevaatusega neeruhaigeil, südamehaigeil, tiisikushaigeil ja neerupealise haiguste puhul.

Aktiivseks immuniseerimiseks ühel ajal mitme nakkushaiguse vastu on laialdasemat tarvitust leidnud *Eberthella typhosa, Sal-*

*monella paratyphi* ja *S. schottmuelleri* kultuurest saadud segavaktsiin. Tarbe korral võib eelmisele lisandada veel *Vibrio comma* ja *Shigella dysenteriae* kultuuri ning difteeria-anatoksiini. Segavaktsiinide profülaktiline immuniseerimine on väga otstarbekohane taudide ajal ja mõne taudi puhkemise võimaluse korral (sõda jt.).

Aktiivne immuniseerimine mitmesuguste nakkushaiguste ravimise (vaktsinoteraapia) otstarbeks omandab pidevalt suurenevat tähtsust, kuid see on praegusel ajal siiski väiksema praktilise tähtsusega kui spetsiifiline profülaktika. Pasteur tarvitas esimesena vaktsiini raviks, kuid alles Wright'i poolt väljatöötatud vaktsineerimismeetodid avasid tee moodsale vaktsinoteraapiale. Ägedate nakkushaiguste puhul peab ravimist alustama vaktsiini väikeste annustega, suurendades neid ettevaatlikult korduvatel süstimistel. Krooniliste nakkushaiguste puhul võib juba algusest peale suuremaid annuseid tarvitada, kusjuures autovaktsiinid sageli paremat toimet avaldavad kui heterovaktsiinid. Nende haiguste puhul, mida põhjustavad peamiselt mikroobi elutegevuse mitmesugused produktid (toksiinid jne.), on otstarbekohane toimetada immuniseerimist samade ainetega natiivselt või vastavalt nõrgestatud kujul (tuberkuliinid, ektotoksiinid jt.).

Krooniliste infektsioonide puhul tekib organismis varieeruval hulgal spetsiifilisi antikehasid, kuid nendest harilikult ei piisa selleks, et muuta organismi mittevastuvõtlikuks (refraktaarseks) uuesti sissetungivale homoloogilisele mikroobile ehk reinfektsioonile. Säärastel kordadel on märgata, et varem infitseeritud organismi kaitsemehhanism muudab uuesti sissetungiva mikroobi patogeenseid omadusi. Näiteks, kui arenenud süüfilise puhul tungib väljastpoolt korraga organismi suur hulk spetsiifilisi spirohheete, siis suurenevad vaid need haigusnähud, mis esinesid reinfektsiooni silmapilgul (Neisser, Landsteiner ja Finger). Samuti ei põhjusta streptokokid reinfektsiooni puhul hiirtel, kes põevad streptokokkide infektsiooni kroonilisel kujul, ägedaid nähte, vaid suurendavad kroonilise infektsiooni sümptoome. Tuberkuloosihaige organism nõrgestab värskelt sissepääsevate tuberkuloositekitajate virulentsust ja ägedad haigusnähud tekivad ainult siis, kui organismi pääseb korraga suur hulk virulentseid idusid

(Römer ja Calmette). Säärast organismi omadust, mis avaldab depressiooni reinfektsioonina sissetungivatele mikroobidele, nimetatakse depressioonimmuunsuseks (Morgenroth jt.). Viimane tekib harilikult kiiresti pärast esmasinfektsiooni ja püsib niikaua kuni mikroobid viibivad organismis. Sellest järgneb, et nakkushaigusest tabatud organismi kiiremat paranemist võib siis loota, kui ta on kaitstud super- või reinfektsiooni eest.

XXIV peatükk.

## Passiivne immuunsus.

1888. a. leidsid Richet ja Héricourt, et stafülokokkidega immuniseeritud koera vereseerumi süstimine immuniseerimata loomadele kaitses viimaseid stafülokokkide infektsiooni vastu. 1890. a. teatasid Behring ja Kitasato, et difteeria- ja teetanusetoksiiniga kunstlikult immuniseeritud loomade vereseerumi süstimisega võib ravida difteeria- ja teetanushaigeid ja terveid mittevastuvõtlikuks teha neile haigustele. Hiljemini selgus, et ka taimede ja loomade mürkidega immuniseeritud looma vereseerumi süstimine kaitseb looma nende mürkide vastu. Kõik need katsed, mida alul peamiselt loomadega tehti, said kindlaks aluseks passiivsele immuniseerimisele, mis meie aja arstiteaduses suurt osa etendab.

Loomuliku passiivse immuunsuse saavad lapsed emalt sel teel, et spetsiifilised antikehad üle kanduvad lootele (kongenitaalne immuunsus) platsenta veresoonte kaudu või imikule *colostrum*'iga ja rinnapiimaga. See immuunsus esineb lastel mitmesuguste haiguste vastu (*diphtheria, scarlatina, morbilli* jt.), mis kahaneb kordkorralt ja kaob harilikult esimese eluaasta vältel.

Kunstliku passiivse immuniseerimise korral süstitakse organismi valmis immuunkehasid, mistõttu tekib resistentsus kiiresti pärast immuunseerumi organismi pääsemist ja püsib harilikult 10—20 päeva. Sellest järgneb, et spetsiifilise immuunseerumi tarvitamine ehk passiivne immuniseerimine on kõige otstarbe-

kohasem nendel juhtudel, kui soovitakse immuunsust kiiresti saavutada.

Passiivseks immuniseerimiseks tarvitatakse: 1) *antitoksilisi* seerumeid, mis mikroobide toksiini kahjutuks teevad, kuid mikroobidesse spetsiifilist toimet ei avalda, ja 2) *bakteritsiidseid* või *bakteriolüütilisi* seerumeid, mis mikroobe surmavad, kuid nende toksiinidesse toimet ei avalda. Bakteriolüütiliste seerumite süstimisele terapeutiliseks otstarbeks võivad järgneda mõnikord rasked mürgistussümptoomid või koguni surm, mille põhjuseks peetakse bakteritest vabanenud endotoksiini. Uuemal ajal on mitmeti katsutud vabastada bakteritest endotoksiini, et sellega immuniseerides antiendotoksilist immuunseerumit valmistada. Katsete tulemused näitavad, et senivalmistatud antiendotoksilised seerumid passiivse immuniseerimise korral säärast tugevat ja spetsiifilist toimet ei avalda, nagu antiektotoksilised seerumid. Praegusel ajal tarvitusel olevate mitmesuguste bakteritsiidsete seerumite (antistafülokokkide, antistreptokokkide, antimeningokokkide, antipneumokokkide jne. seerum) terapeutiline toime on üldiselt muutlik ja jätab veel palju soovida.

Tarvitades bakteritsiidseid seerumeid terapeutiliseks otstarbeks peab teadlik olema, et akuutsete haiguste puhul võib ka hea seerum vähe mõjuda, kui ta kokku ei puutu haigust tekitavate mikroobidega. Et võimaldada seerumi kiiret ja küllaldast kokkupuutumist haigusidudega, selleks peab seerumit süstima suuremal hulgal ja mitte ainult naha alla, nagu seda sageli tehakse, vaid süstimist peab modifitseerima vastavalt infektsioonikohale. Näiteks, meningeaalsete infektsioonide puhul peab seerumit süstima intralumbaalselt, peritoneaalsete infektsioonide puhul intraperitoneaalselt, üldiste infektsioonide korral verre jne. Kroonilise haiguste puhul võiks paranemist loota ainult siis, kui seerumit pikema aja jooksul korduvalt süstitakse. Seesugusel korral võivad seerumi toimega harjuda organismis viibivad mikroobid, muutudes resistentseks bakteritsiidsete immuunkehade vastu (*seerumikindlad mikroobid*). Samuti võib organism ülitundlikuks muutuda seerumi valkudele, seepärast on ka anafülaktiliste nähtuste ilmumine nendel puhkudel võimalik.

Spetsiifiliste bakteritsiidsete seerumite süstimine verre põhjustab seal esinevate mikroobide kiiret hävimist, kuid ei halva kudedesse pesadena lokaliseerunud mikroobide tegevust. Seepärast on immuunseerumi terapeutiline toime harilikult väga piiratud sääraseil sepsise juhtumeil, kus esinevad kudedes enam-vähem isoleeritud haiguskolded (fookused), milledes haigust tekitavad mikroobid takistamatult sigivad. Kui limaskestade pinnalt haigust tekitavad toksigeensed mikroobid tungivad sügavamale kudedesse, siis võib antitoksilise seerumi süstimisega pidurdada nende poolt valmistatud ektotoksiini kahjulikku toimivust, kuid mikroobid jätkavad peaaegu takistamatult oma tegevust (näiteks streptokokid *scarlatina* puhul). Üldiselt on teada, et streptokokkide ja stafülokokkide toksiinile vastav antitoksiin ei kaitse looma mainitud mikroobide infektsiooni vastu.

Suuremat praktilist tähtsust omavad moodsas arstiteaduses antitoksilised seerumid neil juhtumeil, kus haiguse põhjuseks on peamiselt või ainult mikroobide ektotoksiinid (difteeria, teetanus jne.). Antitoksilisi seerumeid tarvitatakse terapeutiliseks ja profülaktiliseks otstarbeks. Spetsiifilise seerumi süstimise tulemused olenevad mitte ainult antitoksiliste ühikute hulgast, vaid selle tarvitamise viisist ja antitoksiini aviidsusest toksiini suhtes. Antitoksilise seerumi terapeutiline toime on kõige tugevam siis, kui organismis viibiv toksiin ei ole veel tunginud tundlikesse koerakkudesse. Toksiini liitumise korral rakkudega ei suuda ka suurel hulgal süstitud seerum toksiini neutraliseerida ja haiget päästa. Sellest lähtudes peab antitoksilist seerumit süstima terapeutiliseks otstarbeks tarvilikul hulgal võimalikult vara haiguse alguses. Seerumit ei tohi aga kunagi tarvitamata jätta, sest sageli võib ka hiljemini süstitud seerum lootusetut haiget parandada. Seerumiga ravimise puhul peab hoolega jälgima ja vastavalt ravima kõiki neid kõrvalise iseloomuga haigusnähte, mida ei põhjusta otseselt spetsiifilise mikroobi toksiin. Segainfektsiooni puhul võib raviks kasutada polüvalentseid immuunseerumeid või mitut seerumit, vastavalt haigusetekitajaile mikroobele.

Kõige lihtsamaks seerumi tarvitamisviisiks passiivsel immuniseerimisel on selle süstimine nahaalusi. Kuid nahaalusest koest

ei resorbeeru seerum küllalt kiiresti, seepärast ei ole see meetod kohane neil juhtumeil, kus on tarvilik seerumi kiire toime (raske intoksikatsioon). Ta on otstarbekohane profülaktiliseks immuniseerimiseks. Kõige kiiremini toimib immuunseerum *verre* süstimise järel, mida peab kasutama alati, kui haige seisukord on raske. Terapeutiliseks otstarbeks on kõige soovitavam seerumit süstida *lihastesse* (intramuskulaarselt), kust ta kiiresti resorbeerub. Seljaaju-kanalisse (intralumbaalselt) peab seerumit süstima neil juhtumeil, kui infektsioon ja intoksikatsioon lokaliseeruvad närvitsentrumites ja ajukelmetel. Teetanuse puhul on soovitav seerumit süstida intraneuraalselt, intratserebraalselt ja subduraalselt.

Mida suurem hulk spetsiifilist seerumit haigele süstitakse, seda suurem on loodetav terapeutiline toime. Kui üks injektsioon ei anna soovitavat tulemust, siis peab kordama süstimist järgmistel päevadel.

Antitoksiliste immuunseerumite tarvitamine *profülaktiliseks otstarbeks* on soovitav ainult siis, kui on tarvilik kiire kaitse; asjatu süstimine sensibiliseerib organismi, mis võib põhjustada tugevat reaktsiooni, kui ollakse sunnitud sama seerumit korduvalt süstima haiguse puhul terapeutiliseks otstarbeks. Näiteks, difteeria epideemia ajal võiks difteeria antitoksilise seerumi tarvitamine profülaktika otstarbeks ainult üksikuil juhtumeil kasulikuks osutuda, kuna teetanuse ohu puhul peab antitoksiini võimalikult kohe süstima haigustumise vältimiseks (mitmesugused haavad, suured pinnud jne.). Profülaktiliseks otstarbeks süstitakse nahaalusi harilikult 10—20 korda väiksem hulk seerumit, kui terapeutiliseks otstarbeks, korrates seda mõnel juhul 6—8 päeva järel.

Antitoksiliste ja antibakteriaalsete *seerumite saamiseks* on terved hobused, eeslid, kitsed ja veised kõige kohasemad. Enne immuniseerimist peab uurima, kas loomad nakkushaigusi ei põe. Immuniseerimist peab toimetama hästi tugeva toksiiniga, sest mida kõvem toksiin, seda väärtuslikum saab immuunseerum. Väärtusliku toksiini valmistamiseks peab tarvitama *toksogeenseid tüvesid*, sest kõik tüved ei valmista tarvilikul hulgal toksiini. Näiteks, difteeriatoksiini valmistamiseks tarvitatakse harilikult New Yorkis

isoleeritud *C. diphtheriae* tüve, mis „Park-Williams Bacillus nr. 8" nime kannab, või jälle Stokholmi tüve. Immuniseerimiseks süstitakse loomale toksiini harilikult nahaalusi või lihastesse, alates väikese toksiinihulgaga, mida kord-korralt suurendatakse.

Kõige raskem on saada nn. p õ h i i m m u u n s u s t ehk r e s i s t e n t s u s t s u r m a v a t o k s i i n i h u l g a v a s t u. Selleks peab esimesteks süstimisteks tarvitatava toksiini toimet nõrgestama või toksiini süstima antitoksiiniga segatult. Toksiini süstimisele järgneb looma organismis reaktsioon: temperatuuri tõus, kehakaalu kahanemine, nõrkus, suurem või väiksem ödeem injektsioonikohal jne. Tundlikke loomi, kes vastavad juba esimeste väikeste toksiinidooside süstimistele suure üldise ja kohaliku reaktsiooniga, ei ole sageli võimalik immuniseerimiseks tarvitada ja need peab kõrvaldatama. B e h r i n g nimetas p a r a d o k s a a l s e k s r e a k t s i o o n i k s niisugust nähtu, kus loom, kelle organismis viibib juba suurel hulgal antitoksiini, vastab toksiini süstimisele suure reaktsiooniga või koguni sureb selle tagajärjel.

Immuniseerimise kestus küllaldase antitoksiinihulga saamiseks on väga mitmesugune ja oleneb niihästi toksiinist kui ka looma organismi omadustest. Harilikult võib praktiliseks otstarbeks kõlvulist antitoksilist seerumit saada 2- kuni 3-kuulise immuniseerimise järel. Antitoksiinide tekkimist veres kontrollitakse iga 2—3 nädala järel, milleks võetakse verd kaela tõmbsoonest (10—20 $cm^3$). Kui titreerimine näitab, et toksiiniga immuniseeritud looma seerum sisaldab soovitava hulga antitoksiini, siis lastakse kas osa verd *(v. jugularis)* või kogu veri *(art. carotis com.)* välja, kogutakse steriilseisse silindreisse ja lastakse seista 13—15° C $t^0$-s või külmas jääkapis 2 päeva. Hüübimise järel eraldunud seerum kogutakse steriilseisse pudeleisse ja lastakse seista külmas pimedas kohas, kus labiilsed valgud sadestuvad ja seerum selgeks muutub. Seerumile lisandatakse harilikult 0,5% *acid. carbolici*, 0,4% trikresooli, 0,05% kinosooli või mõnda muud konservivat ainet. Soovitavam on seerum valmistada ilma tähendatud konservivate ainete lisanduseta, sest suurema hulga seerumi süstimise puhul võivad need ained mürgiselt toimida organismisse. Seerum valatakse steriilseisse ampullidesse, mis pealt kinni joodetakse. Etiketile peab olema

tähendatud seerumi antitoksiline väärtus immuunühikuis (A. Ü.), valmistamisaeg, kontrollikoht ja seerianumber, et iga kord võimalik oleks seerumit tarvituselt kõrvaldada, kui ta osutub kõlbmatuks.

Mõned seerumi-instituudid on hakanud valmistama kontsentreeritud antitoksiini, sadestades seerumist antitoksiini ühes pseudoglobuliinidega *ammonium sulfuricum*'i, *natr. sulfuricum*'i ja mitmete teiste meetodite abil. Saadud sade vabastatakse dialüüsi abil kõrvalaineist (sooladest) ja sellest valmistatakse soovitava kontsentratsiooniga lahjendus 0,85% NaCl-lahuses, võttes arvesse, et antitoksiline seerum ei tohi sisaldada üle 12% valku. Kunstlikkude kontsentreerimismenetluste toimel võib immuunseerum kaotada osa oma väärtuslikumatest antikehadest ja loomulikust mõjust, mille tagajärjel kahaneb säärasel teel saadud seerumi terapeutiline väärtus. Seepärast on soovitatav kasutada natiivseid immuunseerumeid, mis sisaldavad maksimaalse hulga spetsiifilisi antikehasid.

Immuunseerumi toksilise toime vähendamiseks lastakse värske seerum enne tarvitamist 1—2 kuud seista või seda soojendatakse 1 tund 58° C t°-s. Ülitundlikkuse kahtluse korral seerumi suhtes peab loobuma seerumi verre süstimisest, mille tagajärjel reaktsiooninähud kõige raskemal kujul võivad esineda. Immuunseerumid kaotavad lühema või pikema aja jooksul oma spetsiifilise toimivuse. Neid peab säilitama pimedas, kuivas ja külmas kohas. Halvasti hoitud seerumid võivad oma toimivuse kaotada 1—2 kuu jooksul, kuna nõuetele vastavalt hoitud seerumid oma väärtuse 5—6 kuud ja veel kauem säilitavad. Süstimise eel peab seerumit soojendama kuni 38—40° C, et vältida selle ärritavat toimet.

Passiivseks immuniseerimiseks hakatakse kord-korralt rohkem tarvitama inimeselt (rekonvalestsentidelt) saadud immuunseerumit. Selleks võetakse kas juba varemini nakkushaigust põdenuilt või 2—4 nädalat pärast nakkushaigusest paranemist (leetrid, sarlak, läkaköha jne.) ja teistest haigustest vabadelt isikutelt 100—300 $cm^3$ verd, eraldatakse aseptiliselt seerum. Viimasega toimetatakse Wassermanni reaktsioon, et kõrvaldada süüfilishaigete seerumid; mitmelt isikult saadud seerumid segatakse, filtreeritakse läbi bakterite filtri (Berkefeld'i filtri), lisandatakse soovi korral konservivat ainet

ja valatakse ampullidesse. Seerumi spetsiifilise toime pikemaks alalhoidmiseks soovitatakse (Mudd jt.) kurnatud ja proovimisel steriilseks osutunud seerum valada ampullidesse, lasta seerum vastava seadeldisega ekssikaatoris külmuda —75° C t°-s ja ühtlasi kuivada, imedes ekssikaatorist välja veeauru; pealt kinnijoodetud ampulle hoida külmas kohas. Enne tarvitamist lisandatakse avatud ampullile destilleeritud vett, mis vastab kuivatamiseks võetud seerumi hulgale, või 2—3 korda väiksem hulk, loksutatakse lahustumiseni ja süstitakse nahaalusi või lihastesse (lüofiilne seerum). Enne verevõtmist on soovitatav võimaluse korral süstida vereandjale 2—3 korda vastavat vaktsiini (läkaköha jt.) ja võtta verd seerumi saamiseks 7—10 päeva pärast viimast süstimist.

Mõnede haiguste (kõhutüüfus, sepsis jne.) ravimiseks on hakatud kasutama immunotransfusiooni. Selleks toimetatakse vastavat nakkushaigust põdenud või täiendavalt vaktsiini süstimistega immuniseeritud isikute vere (300—400 $cm^3$) transfusiooni haigele võimalikult varakult haiguse alguses, korrates seda 48 t. järel.

## XXV peatükk.

## Lokaalne immuunsus.

Jälgides resistentsuse arenemist organismis vaktsiinidega immuniseerimisel, võib märgata, et ühed koed omandavad kiiresti resistentsuse, kuna teistes tekib see hiljemini või ei tekigi. Seesugust lokaliseeritud kudede ja organite suurenenud resistentsust patogeensete mikroobide vastu, mis ei olene otseselt kogu organismi kaitsemehhanismi tegevusest, on hakatud nimetama lokaalseks ehk koeimmuunsuseks (Behring, Besredka jt.).

Süstinud jänesele nahasse virulentseid hemolüütilisi streptokokke, mis kutsusid esile nahal piiratud haiguse erüsiipelase näol, või samadest streptokokkidest valmistatud vaktsiini, millele järgnes naha reaktsioon süstimise piirkonnas, leidsid Meierowitsch,

Cobbett, Melsome jt., et haigusest ja reaktsioonist haaratud nahapiirkond muutus resistentseks samade streptokokkide infektsiooni vastu, kuna naha teised piirkonnad jäid endiselt vastuvõtlikuks. Sel puhul puudus üldine immuunsus, sest virulentsete streptokokkide süstimine verre või intraperitoneaalselt põhjustas surmava haiguse (Gromakowsky). Streptokokkide korduvate nahasse süstimiste tagajärjel suurenes kord-korralt naha resistentsuse piirkond peamiselt naha mahlateede suunas ja veres ning koemahlades ilmusid spetsiifilised antikehad. Mainitud naha lokaalne resistentsus ei ole juhitud ainult haigust põhjustava *Streptococcus pyogenes*'e vastu, vaid väiksemal määral ka *Staphylococcus aureus*'e vastu (Amoss ja Bliss). Analoogset resistentsust võib saavutada, kui süstida nahasse sinepiõli, normaalseerumit või harilikku puljongit, mis kutsuvad esile nahareaktsiooni — mittespetsiifilise põletiku. Sellest selgub, et ülalesitatud naha lokaalne immuunsus on iseloomult mittespetsiifiline.

Limanaha lokaalset immuunsust demonstreerivad Cooper'i (1926) katsed, kus surmatud *Diploc. pneumoniae* suspensiooni süstimine jänese suulimanahasse põhjustas resistentsuse, mis kaitses limanahka elusate virulentsete *Diploc. pneumoniae* vastu. Sama suspensiooni süstimine nahaalusi või nahasse ei põhjusta säärast limanaha resistentsust.

Peale ülalettetoodud katsete tuntakse hulk tähelepanekuid, mis tõestavad, et lokaalsel immuunsusel on suur tähtsus organismi kaitsemises filtreeruvate viiruste poolt esilekutsutavate haiguste vastu (rõuged, *herpes* jt.).

Besredka katsetest siberi katku batsillidega paistab, et siberi katku vastu võib kiiresti saavutada organismi püsivat immuunsust, kui süstida siberi katku batsillidest valmistatud vaktsiini jänesele intrakutaanselt või asetada vaktsiiniga immutatud kompress habemenoaga karvadest puhtaks aetud nahale. Selle immuunsuse puhul puuduvad veres spetsiifilised antikehad, millest Besredka järeldas, et kogu organismi resistentsus siberi katku vastu oleneb ainult naha immuunsusest. Analoogse meetodiga õnnestus temal saavutada loomadel naha ja ühtlasi ka kogu organismi immuunsust stafülokokkide ja streptokokkide vastu ning

ravida nende mikroobide poolt esilekutsutud haigusi (*furunculosis, eczema* jt.).

Lähtudes mitmeti konstateeritud nähust (Sanarelli, Besredka, Masaki jt.), et *Eb. typhosa, Salmonella, Shigella* ja *Vibrio comma* on enterotroopse omadusega ja lokaliseeruvad nende poolt põhjustatud haiguse puhul peamiselt soolte limanahkadele, soovitas Besredka mainitud haiguste tõrjeks toimetada immuniseerimist *per os*. Hulgalised immuniseerimiskatsed loomadel ja inimestel näitasid, et säärase enterovaktsinatsiooni teel on võimalik saavutada püsivat immuunsust. Besredka asus seisukohale, et juhtumeil, kus ratsionaalse vaktsineerimise abil õnnestub immuniseerida vastuvõtlikku kudet (nahka, soole-limanahka jne.) mingi mikroobi vastu, on kogu organism kaitstud selle infektsiooni vastu. Nii oleks siis Besredka arvates üldine immuunsus ainult efektiivse lokaalse immuunsuse avaldus. Täiendavatest katsetest selgus (Otten ja Kirschner), et *per os* immuniseerimise puhul leiduvad sageli veres spetsiifilised antikehad, mis on üldise immuunsuse tunnuseks. Hulk katseid tõestab, et Besredka meetodiga saavutatud naha ja soole-limanaha lokaalne immuunsus ei ole spetsiifiline, sest seda võib esile kutsuda ka mittespetsiifiliste antigeenidega. Nahale asetatud steriilse puljongiga immutatud kompress kutsub esile naha lokaalse ödeemi ühes muutustega lümfiteedes ja mobiliseerib mitmesugused fagotsüüdid aktiivsele tegevusele (Mallory ja Marble). Reaktsiooni piirkonnas fagotsüteeritakse nahasse süstitud stafülokokid märksa kiiremini kui puljongist mõjustamata nahaosades (Freedlander ja Toomey).

Kokkuvõttes võiks mainida, et mingi koe (naha, soole-limanaha, suu-limanaha jne.) osalise haigustumise või antigeeni koesse süstimise puhul tekib reaktsioonist tabatud koeosas tugev resistentsus patogeensete mikroobide vastu, kuna väljaspool seda piirkonda ei ole märgata resistentsuse suurenemist. Vaevalt omandab kogu kude mainitud osalise reaktsiooni tagajärjel resistentsuse, mis suudab ilma üldise immuunsuse kaasabita kaitseda kogu organismi infektsiooni vastu. Näib, et lokaalne immuunsus oleneb

histotsüütide ja teiste fagotsüütide mobiliseerumisest ning fagotsütoosi kiirenemisest põletikreaktsiooni piirkonnas, mida võivad põhjustada spetsiifilised ja mittespetsiifilised faktorid. Korduvate lokaalsete reaktsioonide tagajärjel tekib üldine antibakteriaalne immuunsus, mis oleneb spetsiifilistest antikehadest ja kiirendatud fagotsütoosist. Praeguste andmete alusel on raske oletada erilist tsellulaarset immuunsust, kuid näib tõenäosena, et koerakud liituvad spetsiifiliste antikehadega ja omandavad seetõttu spetsiifilise immuunsuse (Topley ja Wilson).

XXVI peatükk.

## Mittespetsiifiline immuunsus.

Mittespetsiifiline immuunsus on niisugune organismi resistentsus, mis teda kaitseb ühel ajal mitmesuguste erinevate bakteriaalsete infektsioonide vastu, kuna spetsiifiline immuunsus kaitseb ainult ühe teatava infektsiooni vastu. Säärane resistentsus võib erikordadel piirduda mõne üksiku koega (lokaalne), kuid harilikult on see kogu organismi omaduseks.

Juba immunoloogiliste uurimiste algaegadest on teada normaalse vereseerumi bakteritsiidne toime mitmesugustesse mikroobidesse, mida seletatakse veres esinevate mittespetsiifiliste faktorite toimega. Normaalseerumis esineb termostabiilne (hävib 63—70° C t°-s), mittespetsiifiline substants β-lüsiin (Pettersson), mis sulatab mitut liiki mikroobe ja mille hulk ei suurene immuniseerimisel. Polümorfonukleaarsete leukotsüütide ekstrakt sisaldab eelmisest termostabiilsemat bakteritsiidset substantsi leukiini (Schneider) ja trombotsüütide ekstraktis esineb eelmisega üldiselt sarnane substants plakiin (Pettersson, Gruberg jt.). Praegusel ajal on raske lähemalt otsustada mainitud faktorite tähtsuse kohta antibakteriaalses immuunsuses. Fleming'i (1922) poolt avastatud lüsosüüm, mis leidub väga mitmesugustes kudedes ja sekreetides (pisarvedelikus, süljes, veres,

kalamarjas, kanamunavalgus jne.), sulatab peamiselt mitmesuguseid saprofüüte ja väiksemal määral patogeenseid mikroobe. Ei ole kahtlust, et lüsosüüm on üks mittespetsiifilisi faktoreid organismi enesekaitses infektsioonide vastu.

Kui süstida loomadele mitmesuguseid substantse (piima, nukleiini, bakterite vaktsiini, jatreeni jne.) või mõjustada neid mõne füüsikalise faktoriga (ultraviolett-valgus, soojus jne.), omandab veri 20 min. kuni 5 t. jooksul mittespetsiifilise bakteritsiidse toime väga erinevatele mikroobidele, mis püsib mõne päeva ja kaob siis täielikult (Wright, Prausnitz ja Meissner, Fleming jt.). Säärane kiiresti tekkiv vere bakteritsiidsus oleneb opsoonilisest toimest (Bedson) ja nähtavasti ka leukotsüütidest ning trombotsüütidest vabanevaist substantsidest, sest spetsiifilised immuunkehad ei teki nii lühikese aja vältel.

Schwartzman'i fenomen kinnitab kudede mittespetsiifilise sensibiliseerumise võimalust. Kui süstida jänesele intrakutaanselt 0,1—0,2 $cm^3$ *E. typhosa* või mingi teise mikroobi kultuuri filtraati või mikroobide suspensiooni ja 24 t. hiljem veenisisesi kas sama või võõrast antigeeni, siis ilmub mõne tunni järel intrakutaanse süstimise kohal hemorraagiline põletik. Sensibiliseeriv aine on termostabiilne ja kannatab 100° C $t^0$ 1 tunni vältel ja sageli rohkemgi. Nakkushaiguse põdemise või kunstliku immuniseerimise teel spetsiifiliselt sensibiliseeritud organismis suureneb spetsiifiliste antikehade hulk mõne teise, hilisema nakkushaiguse või mittespetsiifilise ärrituse tagajärjel (anamnestiline reaktsioon). Spetsiifiliste antikehade (pretsipitiin, aglutiniin, antitoksiin jne.) hulga suurenemist varemini aktiivselt immuniseeritud või nakkushaigust põdenud organismis on saavutatud mitmesuguste valkainete ja nende lammutusproduktide süstimisega (Pick, Weichardt ja Schräder jt.). Analoogset stimuleerivat toimet antikehasid produtseerivale aparaadile on saavutatud soolalahuste (koobalt, berüllium, mangaan jt.) ja kolloidaalsete lahuste süstimisega (Walbum jt.), füüsikaliste faktorite toimega keha pinnale, korraga suurema hulga või korduvalt väiksema hulga vere laskmisega (Friedberger ja Dorner, Hektoen ja Carlson, Hahn ja Langer jt.), või sääraste bakteriaalsete

vaktsiinide (kompleksantigeenide) süstimisega, milledel ei ole ühist antigeenset komponenti esmakordselt stimuleeriva substantsiga. Viimaste katsete puhul on võimalikud tulemuste ekslikud seletused, sest kompleksantigeenid sisaldavad sageli ühiseid komponente. Kirjanduses ei leidu andmeid selle kohta, kas teatava koostisega substants, pääsedes parenteraalsel teel varemini immuniseerimata organismi, suudab esile kutsuda *de novo* antikehasid, mis annaksid spetsiifilise reaktsiooni keemiliselt ehituselt eelmisest täielikult erineva substantsiga.

Mittespetsiifilist immuniseerimist terapeutiliseks otstarbeks kasutatakse kõige laiemas ulatuses proteiinteraapia näol, kus mingi valkaine süstimisega organismi stimuleeritakse rakke vastama säärastele ärritustele, milledele nad varemini üldse ei reageerinud või ainult nõrgalt reageerisid. Mainitud ravimisviisi algust võib asetada kaugele minevikku, sest juba 1667. a. tarvitas Denis veretransfusiooni ravimise otstarbeks. Bier süstis krooniliste haiguste puhul maksa- ja põrnakoest valmistatud emulsiooni, erütrotsüüte ja vereseerumit, mis haigusele parandavat toimet avaldasid. 1914. a. ilmusid esimesed tähelepanekud (Ichikawa, Kraus ja Mazya) selle kohta, et tüüfuse kulgu võib lühendada mitte ainult *E. typhosa* kultuurist, vaid ka teistest mikroobest (*Salmonella, Esch. coli* jne.) valmistatud vaktsiini süstimistega, millest sai alguse mittespetsiifiline vaktsiinteraapia. 1915. a. näitas Lüdke, et analoogseid tulemusi võib saavutada proteooside süstimisega. Käesoleval ajal kasutatakse ravimisel lugemata hulgal väga mitmesuguseid proteiinaineid, milledest siin üksikuid mainime.

1) Natiivvalgud: vereseerum, oma ja võõras veri, piim, aolaan (rasvavaba piim), kaseiinilahus, novoproteiin (taimevalkude lahus), želatiin, koeekstraktid jt.

2) Valkude lammutusproduktid: albumoosid, peptoonid, histamiin, flogetaan jt.

3) Bakteriaalsed vaktsiinid: heterovaktsiinid (*Ech. coli, Eb. typhosa, Staphylococcus, Neisseria gonorrhoeae* jt.), omnadiin ja reaktogeen (mitmesuguste bakterite, valkude ja rasvainete

segud), vaktsineuriin (autolüsaat mitmesuguseist mikroobest), mikrobiaalsed ekstraktid, tuberkuliin jt.

4) Kombineeritud segud: hüpotermaan (piim + *Esh. coli*), pürifeer (piim + *Ech. coli* vaktsiin), jatreen-kaseiin, kutivaktsiin (tuberkuliin + rõugelima + saprofüütide vaktsiin) jt.

Ülalmainitud proteiinkehad põhjustavad organismis mitmesuguseid reaktsioone, millede iseloom oleneb süstitava aine hulgast, isiku tundlikkusest ja süstimisviisist. Verre, intramuskulaarsele ja subkutaansele süstimisele järgnevad mõni tund hiljem külmavärinad, peavalu, palavik ja sageli seedekorratused. Kõige kiirema ja tugevama reaktsiooni põhjustab aine verre süstimine. Süstitud valkaine tungib retikulo-endoteliaalkudedesse, kutsudes esile nende aktiivsuse kasvu ja teisi veel vähe tuntud tsellulaarseid ja humoraalseid reaktsioone (Busson). *N. splanchnicus*'e piirkonnas laienevad veresooned, tõmbudes kokku samal ajal keha perifeersetes osades (Müller ja Petersen). Alul esineb perifeerne leukopeenia, millele järgneb polümorfonukleaarne leukotsütoos. Veres suureneb proteolüütiliste ja lipolüütiliste fermentide hulk. Süstimisele järgneb komplemendi ja fibrinogeeni hulga kahanemine veres, mis hakkab kasvama haigusprotsessi paranemise korral. Haiguse halvenemise korral kahaneb komplemendi hulk haige surmani. Malkin leidis, et komplemendi hulga määramine on objektiivseks kriteeriumiks proteiinteraapia otstarbekuse, süstitava vahendi doseerimise ja veres toimuvate kolloidaalsete muutuste suhtes. Veres suureneb jääklämmastiku hulk, erütrotsüütide settimine kiireneb (E. ja H. Löhr) ja kahaneb plasma kolloidaalne stabiilsus (Sachs ja Öttingen). Peale selle esinevad veel proteiini süstimisest põhjustatud reaktsiooni ajal oksüdatsioonprotsesside kiirenemine, muutused basaalses metabolismis, neerude, maksa ja põrna funktsioonides ning kiireneb sapi, sülje, rinnapiima ja maomahla sekretsioon (Weichardt, Schittenhelm jt.). Ühtlasi kiireneb lümfi valmistamine, suureneb vere eritumine menstruatsiooni puhul ja esinevad *n. sympaticus*'e, *parasympaticus*'e ja teiste erkude ärrituvuse suurenemisnähud (Gottlieb ja Freund). Kudedesse süstimise kohal tekib lokaalne reaktsioon, kus toimub valkude osaline lammutumine, kusjuures vabanevad

mitmesugused substantsid (histamiin, koliin jt.), mis resorbeerudes toimivad mittespetsiifilise antigeenina. Ägedates haiguskolletes suureneb põletikuline reaktsioon ja krooniliste haiguskollete ümber tekib akuutne põletikuline reaktsioon, millele järgneb sageli kiire paranemine (parandav põletik).

Peale ülalesitatud reaktsioonide on konstateeritud veel hulk teisi nähte, samuti on avaldatud ka mitmesuguseid tõenäosi, kuid sageli raskelt kontrollitavaid arvamusi proteiinide terapeutilise toime kohta. Nii arvatakse, et proteiinid ärritavad organismi enesekaitse-mehhanismi kiirendatud tegevusele ja tõstavad kogu organismi tegevusvõimet (Virchow, Bier jt.); nad põhjustavad muutusi organismi valkainete molekulides, aktiveerivad protoplasmat, kiirendavad koerakkude tegevust (Weichardt jt.) ja kutsuvad esile kolloidkeemilisi muutusi vereseerumis ja koemahlades, mis ei ole soodsad mikroobidele kasvuks (Widal, Abrami, Brissaud jt.).

Proteiinteraapia avaldab kahtlemata parandavat toimet paljudele akuutsetele ja krooniliste haigusprotsessidele, kuid käesoleval ajal ei ole veel võimalik lõplikult otsustada, missugune reaktsioon ja millised muutused organismis on seejuures peateguriteks. Uuemal ajal süveneb arvamus, et haigusprotsesside paranemine oleneb suurel määral proteiinide poolt põhjustatud palavikust ja mõnelt poolt väidetakse, et mida kõrgem on sel puhul palavik, seda hõlpsamini paraneb haigus.

Haigele organismile avaldab proteiini süstimine hoopis teissugust mõju kui tervele organismile. Üks organism reageerib tugevasti proteiini väikesele annusele, teine kannatab mitusada korda suurema annuse sama ainet ilma märgatava reaktsioonita. Seepärast on praegusel ajal võimatu ette näha proteiinteraapias täpset annust igale juhule, mis põhjustaks ravitavas organismis kõige sobivamat terapeutilist reaktsiooni, ja ollakse seepärast sunnitud individualiseerima ravi katsetamiste abil. Mitmesuguste substantside (valkude, mikroobide, mürkide jne.) ja füüsikaliste faktorite (temperatuuri ja õhurõhu muutuste jne.) suhtes ülitundliku organismi desensibiliseerimiseks peab mittespetsiifilist proteiini korduvalt süstima, alustades väikeste annustega, mis ainult

nõrga reaktsiooni esile kutsuvad, ja suurendades annuseid ettevaatlikult. Nendel juhtudel, kus hüpersensibiliteedi nähud ilmuvad mingi toidu tarvitamise järel (nõgestõbi, migreen jne.), võib sageli desensibiliseerimist (skeptofülaktilist olekut) saavutada proteiinide tarvitamisega *per os* (Pagniez, Abrami jt.).

Proteiinidega ravimise abil on saavutatud rahuldavaid tulemusi paljude haiguste puhul, kus on peamiselt tegemist organismi hüpersensibiliteediga mõne aine suhtes (õietolmu ja sõnnikulõhna astma, *urticaria, prurigo* jne.). Rahuldavaid tulemusi on saavutatud ka nende haiguste ravimisel (*purpura, haemophilia*, külmetushemoglobinuuria jne.), kus kolloidide labiilset tasakaalu katsutakse stabiliseerida proteiinide poolt esilekutsutud nõrkade reaktsioonide abil (E. Weil, Nolf jt.). Ka nendel juhtudel on otstarbekohane vahendi korduv süstimine kord-korralt suurenevate annustena.

Proteiinteraapiat kasutatakse peaaegu kõikide akuutsete ja krooniliste bakteriaalsete haiguste puhul, kus katsutakse suuremate annustega kutsuda esile tugevamaid reaktsioone, mis põhjustavad kolloidide tasakaalu kiiret muutust (šokk). Proteiinide poolt esilekutsutud šokiga (Widal, Abrami ja Brissaud 1913. a.) on ravitud heade tulemustega mitmesuguseid nakkushaigusi (*anthrax, furunculosis*, haavainfektsioonid, *polyarthritis acuta*, batsillaarne düsenteeria, kopsupõletik jt.). Kahtlemata oleneb ka spetsiifiliste vaktsiinide ja immuunseerumite terapeutiline toime osalt proteiinide poolt põhjustatud mittespetsiifilistest reaktsioonidest ehk šokist.

Proteiinteraapiaga võib sageli saavutada häid tulemusi polümikroobsete ehk segainfektsioonide puhul, kus mittespetsiifiline reaktsioon pidurdab ühe või teise tundlikuma mikroobiliigi tegevuse, mis põhjustab mikroobide assotsiatsiooni dislokatsiooni ehk kataksiat (Weinberg ja Ginsburg). Sääraselt muutunud olukorras võib organism kiiresti võitu saada ülejäänud mikroobidest ja seega ka nakkushaigusest. Uuemal ajal hakatakse kombineerima mõnd spetsiifilist ravi mittespetsiifilise proteiinraviga. Näiteks muutub Wassermanni reaktsioon süüfilise ravimisel arseeni-, vismuti- ja joodipreparaatidega kiire-

mini negatiivseks, kui haigele ühtlasi süstitakse mingit proteiinollust (bakteriaalset vaktsiini, seerumit jne.).

Proteiinidega ravimine, peamiselt tugevate reaktsioonide esilekutsumisega, on keelatud või vajab suurt ettevaatust arenenud südame-, neeru- ja arteeridehaiguste, kopsutuberkuloosi, subakuutse apenditsiidi, koletsüstiidi, glaukoomi, seedetrakti hemorraagiliste haavandite, kroonilise alkoholismi, ülitundlikkuse, rasketele haigustele järgneva nõrkuse ja arenenud üldise närvilikkuse puhul. Säärastel kordadel võivad ilmuda mittesoovitavad ja ohtlikud reaktsioonid (vasomotoorne kollaps, *delirium tremens* jt.) ning haigusprotsesside tugev värskenemine.

Mittespetsiifilist immuniseerumist ja ülalettetoodud proteiinide raviga sarnanevat terapeutilist efekti võib saavutada peale proteiinide veel paljude teiste orgaaniliste ja anorgaaniliste substantsidega, näit. lipoidide, pilokarpiini, glütseriini, tärpentiini preparaatide ja väga mitmesuguste soolalahuste süstimisega (*natr. chloratum, barium chloratum, natr. sulfuricum, natr. bicarbonicum, natr. oleinicum,* väävel jt.). Erilist tähelepanu on pööratud üldinfektsiooniliste haiguste ravimisel mitmesugustele kolloidaalmetallidele (metallisoolteraapia), mis põhjustavad ligikaudu sama liiki mittespetsiifilist immuunsust ja reaktsioone nagu proteiinidki ja peale selle toimivad veel antiseptiliselt. Walbum, kes seda ravimisviisi põhjalikumalt uuris, toonitab, et kolloidaalmetallide lahuste (kolloidaalhõbe, kolloidaalkuld, kolloidaalpallaadium jt.) tarvitamine annab siis kõige paremaid tulemusi, kui neid süstitakse organismi optimaalsetes kontsentratsioonides, sest suured annused avaldavad halvavat toimet.

Hüpersensibiliseeritud organismi desensibiliseerimist ja mittespetsiifilist immuunsust võivad põhjustada mitmesugused füüsikalised faktorid, nagu x-kiired, raadium, diatermia, päikese- ja mitmed kunstlikud kiired, soojus, vannid ja ammutuntud verelaskmine ja verekupud.

Vanemas meditsiinilises kirjanduses leidub hulk andmeid selle kohta, et akuutsed nakkushaigused paranesid sageli sekundaarse infektsiooni tagajärjel (infektsioonteraapia). Nahatuber-

kuloos *(lupus)* võib paraneda *erysipelas*'e haiguse või elusate hemolüütiliste streptokokkide süstimise tagajärjel (Fehleisen); siberi katku haiged loomad võivad paraneda elusate streptokokkide, *Pseudomonas aeruginosa* ja teiste mikroobide verre süstimise tagajärjel (Emmerich, Pavlovski jt.); *Pseudomonas aeruginosa* mõjub takistavalt *Eberth. typhosa, C. diphtheriae* ja *Streptococcus*'e arenemisele; pärmide söömine parandab sageli stafülokokkide poolt põhjustatud haigusi (furunkuloos jt.); Metšnikov väitis, et piimahappe bakterid mõjustavad soolte mikrofloorat ja kliinilised tähelepanekud näitavad, et hapendatud piima söömine võib osutuda otstarbekohaseks kõhutüüfuse, düsenteeria, koolera ja bakterite eritajate ravimisel. Tähelepanekud Korsika saarel näitavad, et malaariaga infitseeritud isikud põevad kopsutuberkuloosi kergel ja kroonilisel kujul, kuna malaariast puutumata isikutel areneb tuberkuloos kiiremini ja ägedal kujul.

Juba Hippokratese ajast tuntakse palaviku parandavat mõju psühhoosidele. Hilisemad tähelepanekud näitavad, et mitmesugused psühhoosid paranevad ägedate interkurrentsete infektsioonhaiguste *(typhus abdominalis, typhus exanthematicus, malaria, cholera asiat., variola, erysipelas, scarlatina, morbilli, pneumonia* ja kroonilised mädanikuprotsessid) tagajärjel (Boerhaave, Sydenham, Koster, Kostl, Schlager jt.). Erilist hoogu sai palavikuga ravimine tollest ajast, kui Wagner-Jauregg'il (1917) õnnestus edukalt ravida *dementia paralytica (paralysis progressiva)* haigeid malaaria pookimise abil. Katsetanud alul tuberkuliini süstimistega, õnnestus Wagner-Jauregg'il lõpuks saada kõrget palavikku ja *dementia paralytica* haigete seisukorra paranemist ka polüvalentse tüüfusevaktsiini (elusad *Eberth. typhosa* + tüüfuse immuunseerum) korduvate, kord-korralt suurenevate annuste verre süstimisega. Hall toonitab, et süstitava tüüfusevaktsiini hulka ja süstimisvaheaegu reguleerides on võimalik saada soovitavate intervallidega palavikku mõne nädala vältel, mis üldiselt vastab malaariapalavikule ja selle terapeutilisele toimele. Et malaariapalavik on põhjustatud peamiselt nendest proteiinidest, mis pääsevad verre erütrotsüütide lagunemisel, siis paistab soodsamana palaviku saavutamine tüüfusevaktsiiniga, sest

ta ei kutsu esile verevaesust ja palaviku intervalle on kerge reguleerida.

Palaviku saavutamiseks on hakatud tarvitama mitmesuguste mikroobide (*Escher. coli* jt.) erilistest, palavikku põhjustavatest (pürogeensetest) tüvedest valmistatud polüvalentseid vaktsiine, mis on enam-vähem vabad kahjulikkudest kõrvaltoimetest. Peale selle on uuemal ajal ehitatud palaviku saavutamiseks erilise soojendusseadisega ventileeritavad soojendusaparaadid (telk-voodid), milledesse asetatakse patsient nii, et pea välja jääb. Palavikravi (püreetroteraapia) üksi viimase meetodiga või mõne teise vahendi tarvitamisega kombineeritult on leidnud edukat tarvitamist *syphilis*'e, *gonorrhoea, polyarthritis acuta* ja teiste haiguste puhul.

## XXVII peatükk.

## Anafülaksia, ülitundlikkus ja allergia.

Juba 1839. a. märkas Magendie, et jänesed, kes hästi välja kannatasid valgu kaks lühema ajavahemiku järel toimetatud süstimist verre, surid kiiresti pärast sama valgu kolmandat süstimist, mida toimetati mõne päeva järel. Hiljemini konstateerisid Behring (1893) difteeria- ja teetanusetoksiiniga loomade immuniseerimisel, Flexner (1894) koera vereseerumi ja Richet koos Héricourt'iga (1898) angerja vereseerumi süstimise puhul ülitundlikkuse tekkimist loomadel.

Richet ja Portier (1902) süstisid koertele aktiinidest saadud mürgist valku sisaldavat ekstrakti ja nägid, et koerad surid harilikult kolmandal päeval pärast surmava annuse verre süstimist. Kui ekstrakti väiksemate annuste mõjul tekkinud haigusest paranenud koertele süstiti kolm nädalat hiljem märksa väiksem annus ($^1/_{20}$ surmavast doosist) sama ekstrakti, siis tekkis neil mõne minuti järel hingeldus, oksendamine, kõhulahtisus ja surm ühe tunni vältel. Richet nimetas säärast ülitundlikkust

anafülaksiseks, kuid õigemaks peetakse nimetust anafülaksia.

Arthus (1903) süstis jänestele korduvalt iga 5—6 päeva järel 5 $cm^3$ hobuse vereseerumit nahaalusi ja nägi, et 3—4 süstimise järel ilmus süstimiskohal infiltraat ning 7. süstimise järel aseptiline nekroos (Arthuse fenomen). Analoogiline spetsiifiline lokaalne anafülaksia tekkis ka pärast piima süstimist, mis hiljemini arenes üldiseks anafülaksiaks. Mainitud reaktsioon tüüpilisel kujul ilmub peamiselt jänestel (Nicolle ja Opie).

Th. Smith (1904) nägi, et merisead, kellele oli süstitud nahaalusi hobuselt saadud difteeria-immuunseerumi ja difteeriatoksiini segu, surid kiiresti hingematmisse ja krampidesse, kui neile süstiti mõni nädal hiljem ainult hobuseseerumit. Selgus, et ülitundlikkus tekib mitte enne 10 päeva pärast esmakordset seerumi süstimist, ja ei teki siis, kui süstitakse korduvalt lühikeste vaheaegadega seerumit suuremate annustena. Rosenau ja Anderson (1906) jõudsid otsusele, et anafülaksia on spetsiifiline, sest hobuseseerumiga sensibiliseeritud meriseal ei ilmunud ülitundlikkuse reaktsioon pärast mõne teise looma seerumi või valkaine süstimist. Merisea sensibiliseerimiseks piisab äärmiselt väikesest seerumi hulgast (0,000 001 $cm^3$), kuid reaktsiooni esilekutsumiseks on tarvilik märksa rohkem seerumit (0,01—0,1 $cm^3$).

Aineid, mis kutsuvad esile ülitundlikkuse, nimetatakse anafülaktogeenideks ja sensibiliseeritud organismis vastava aine süstimisele järgnevat patoloogiliste nähtuste kompleksi anafülaktiliseks šokiks.

Anafülaktogeenina võivad toimida loomade, taimede ja bakterite valgud. Keemilised ja füüsikalised tegurid, näit. kestev soojendamine, keetmine, happed ja fermendid, vähendavad valgu anafülaktogeenset toimet. Seerumiglobuliinid ja taimeproteiinid osutuvad kõige paremateks anafülaktogeenideks. Silmaläätse valk toimib nagu täiesti võõras valk anafülaksia esilekutsumise suhtes (Uhlenhuth).

Anafülaktogeen avaldab kõige suuremat sensibiliseerivat toimet parenteraalsel teel organismi pääsemisel (naha alla, verre, kehaõõntesse). Sensibiliseerimine ja anafülaktilise šoki esile-

kutsumine *per os* on võimalik, kui seedekanali limanahka enne ärritatakse sapi sisseandmisega.

Mida tundlikum on loom, seda väiksema anafülaktogeenihulgaga võib teda sensibiliseerida ja anafülaktilist šokki esile kutsuda. Sensibiliseerimiseks süstitakse meriseale harilikult 0,01 $cm^3$, jänesele 1,0 $cm^3$ ja koerale 0,1—1 $cm^3$ vereseerumit iga kg kehakaalu kohta verre. Inimese sensibiliseerimine on raske ja ohtlikud sümptoomid või surm šoki tagajärjel on inimesel haruldased. Mida tundlikum on loom, seda lühem on inkubatsiooniperiood: meriseal 5—10 päeva, jänesel 10—12 päeva, koeral 2—3 nädalat. Väga suured ja väga väikesed anafülaktogeenihulgad pikendavad märksa inkubatsiooni. Organismi hüpersensibiliteedi kestus on väga muutlik: merisigadel 1—3 aastani, jänestel ja koertel 3—4 nädalat, inimesel 6 kuust 5 aastani.

Anafülaktilise šoki sümptoomid ja organismivigastused on spetsiifilised igale loomaliigile, vaatamata sensibiliseerimisel kasutatud antigeenile. Peale selle oleneb iga loomaliigi šoki pilt antigeeni hulgast ja organismi pääsemise teest.

Anafülaksia põhikatseks süstitakse meriseale verre 0,001—0,01 $cm^3$, naha alla 0,1 $cm^3$ värsket steriilset hobuse või mõne teise looma vereseerumit. Parem on süstida korduvalt väikesi doose 1- või 2-päevaste vaheaegadega (sensibiliseerivad ehk prepareerivad süstimised). 14 päeva hiljem süstitakse meriseale sama antigeeni reaktsiooni esilekutsumiseks naha alla 5—6 $cm^3$, verre (kõige kindlam meetod) 0,01—0,1 $cm^3$, intratserebraalselt või intraperitoneaalselt 0,25 $cm^3$ seerumit. Nahaalusi süstimisel ilmub šokk 10—30 min. jooksul ja sümptoomid võivad seejuures lokaalseks jääda: ödeem ja nekroos. Verre ja subduraalsel süstimisel ilmuvad üldised sümptoomid juba mõne sekundi jooksul: loom on rahutu, hõõrub nina, aevastab, seljakarvad lähevad sassi, hingamine on šoki alguses kiirendatud, pärast muutub aeglasemaks; kehasoojus langeb kiiresti, kui šoki esilekutsumiseks injitseeriti suur hulk antigeeni, võib aga konstantseks jääda või koguni tõusta, kui süstiti väiksem hulk antigeeni; vererõhk langeb, südame tegevus nõrgeneb, ilmuvad kusi, roe, krambid ja loom langeb külili, suu on sissehingamise korral lahti ja lõpuks

jääb hingamine seisma, kuna süda võib veel edasi tuksuda mõne minuti vältel.

Sektsioonil leiduvad järgmised muutused: kopsualveoolid on laienenud, nende seinad õhukesed ja kohati purunenud, kopsu verekapillaarid on tühjad, bronhid kitsad, mao ja soolte limanahkadel paistavad silma hüpereemia, verevalumid ja erosioonid. Säärase patoloogilise pildi põhjal on tõenäone, et merisiga sureb šoki korral õhupuuduse tõttu, mille tekitab väikeste bronhide lihaste kramp. Šoki vältel võib leida väiksemaid või suuremaid muutusi veres, näit. leukopeeniat ja polümorfonukleaarsete rakkude koondumist kopsu kapillaaridesse, vere koaguleerumise aeglasemaks jäämist ja komplemendi hulga kahanemist (Auer, Lews jt.).

Sensibiliseeritud jänesele antigeeni küllaldase annuse verre süstimisel tekib šokk, mis erineb merisea omast: loom lamab väljasirutatud jalgadega külili, teeb konvulsiivseid liigutusi, millega sageli liituvad kuse ja rooja eritumine ning surma eel korratud hingamisliigutused. Lahkamisel ei ole leida kopsualveoolide laienemist, kuid esineb südame parempoolne laienemine (Coca).

Koertel näeb šoki korral rahutust, ärritust, oksendamist, uriini ja rooja eritumist, pikaldast sügavat hingamist, üldist nõrkust ja krampe, mis viivad looma surma. Lahkamisel esineb siseorganite, peamiselt maksa, hüpereemia (Weil).

Teistest loomadest on võimalik kunstlikult sensibiliseerida ja šokki esile kutsuda lindudel ja konnadel, kuna vähem kõlbavad selleks rotid ja ahvid (Longcope, Goodner, Zinsser jt.).

Süstime sensibiliseeritud merisea vereseerumit parenteraalsel teel normaalsele meriseale, siis omandab viimane hüpersensibiliteedi. Seesugune ülekantav ülitundlikkus ehk passiivne anafülaksia ilmub umbes 24—96 tundi pärast anafülaktiseeriva seerumi süstimist ja püsib jänestel ainult lühikest aega, kuna ta merisigadel mitmed nädalad võib püsida. Merisigadel tekitab passiivset anafülaksiat sensibiliseeritud jänese vereseerum, kuna sensibiliseeritud merisea vereseerum jänest harilikult ei sensibiliseeri (Otto, Dörr jt.). Samasugust vereseerumite erinevust võib

märgata ka teistel loomaliikidel. Anafülaksia siirdub emalt lootele (Rosenau ja Anderson).

Sensibiliseeritud loomad, kes anafülaktilise šoki järel ellu jäävad, ei ole enam tundlikud sama anafülaktogeeni vastu, kui seda süstitakse lühema aja järel pärast šokki. Säärast nähtust nimetatakse antianafülaksiaks ehk desensibilisatsiooniks. Besredka süstis sensibiliseeritud merisea kõhuõõnde mittesurmava doosi anafülaktogeeni; 1—2 tundi hiljem süstis ta samale loomale peaajusse surmava doosi ja leidis, et anafülaktiline šokk ei ilmunud. Seesugune desensibilisatsioon, mis saavutatakse ühe süstimisega, kaitseb looma ainult 1- või 2-kordse surmava doosi vastu. Mõjuva desensibilisatsiooni saavutamiseks on soovitatav süstida 3—4 korda 5-minutiliste vaheaegadega anafülaktogeeni suurenevaid annuseid verre (Otto, Rosenau ja Anderson, Besredka jt.). Desensibilisatsioon ilmub 10—15 min. pärast anafülaktogeeni verre süstimist ja 2—4 tundi pärast selle naha alla ja kõhuõõnde süstimist. Korduva süstimise teel saadud desensibilisatsioon võib püsida merisigadel mitu kuud, kuna see jänestel ainult 3—4 päeva püsib. Sensibiliseeritud loomades on võimatu esile kutsuda anafülaktilist šokki narkoosi ja alkoholi mõju vältel.

Üldiselt pooldatakse arvamust, et anafülaktiline šokk kuulub spetsiifiliste antigeen-antikeha reaktsioonide liiki, kuid šokki esilekutsuva mehhanismi suhtes erinevad esialgu vaated. Humoraalse teooria pooldajad väidavad, et antigeen-antikeha reaktsioon toimub veres või koemahlades, kusjuures vabanevad toksilised, tundlikke rakke stimuleerivad ained. Mõned arvavad, et sensibiliseeritud looma veres ilmub eriline ferment, mis lõhustab antigeenina süstitava valgu molekuli. Selle tagajärjel tekivad valgu lammutusmürgid, milledel on suur afiinsus närvirakkudele; viimaste ärritus põhjustab šoki (Vanghang ja Whecler, Achard jt.). Hiljemini selgus, et anafülaktilise šoki nähte võib esile kutsuda, kui süstida meriseale mingi antigeeni ja homoloogilise antikeha segu, mida lastakse seista *in vitro* (Friedemann ja Citron). Friedberger nägi, et šokki põhjustav mürkaine võib tekkida *in vitro* igasugusest valkainest, kui sellele lisandada inaktiveeritud homoloogilist immuunseerumit ja komplementi, mida ta

nimetas anafülatoksiiniks. Vastavad katsed näitasid, et analoogiline toksiin tekib ka normaalseerumis *in vitro* kaoliini, baariumsulfaadi, talgi, tärklise, inuliini ja agari toimel (Mutermilch, Bordet, Zuntz jt.). Vaatamata hulgale katsetele, ei ole siiski veel õnnestunud kindlaks määrata vereseerumis esineva anafülatoksiini tekkimisviisi ja *in vitro* toksiliseks muutunud seerumite poolt põhjustatud reaktsiooni sarnasust tõelise anafülaktilise šokiga. Et šoki tagajärjel surnud loomade lahkamiste tulemused näitavad, et mainitud kaks reaktsiooni kahtlemata erinevad teineteisest, siis soovitavad mõned toksiliste seerumite puhul tarvitada anafülatoksiini asemel nimetust serotoksiin, andes viimase poolt põhjustatud reaktsiooni nimetuseks anafülaktoidne šokk (Topley ja Wilson).

Anafülaktoidset šokki võib saavutada mitmesuguste soolalahuste (arseenobensool, *natr. bicarbonicum*, NaCl jne.), orgaaniliste kolloidide ja raskete metallide soolalahuste verre süstimise teel (Widal, Joltrain, Hanzlik ja Karsner). Lahkamisel esinevad šoki tagajärjel surnud looma kopsu kapillaarides tromboos ja emboolia. Šoki vältel tekivad leukopeenia, vere hüübimise hilinemine ja muutused organismi kolloidide tasakaalu stabiilsuses, mille alusel väidetakse, et anafülaktiline šokk ei ole intoksikatsioon, vaid vereplasma ja koe kolloidide tasakaalu muutus ehk kolloidoklaasia (Widal, Abrami ja Brissaud).

Juba ammu oli teada, et peptoonilahuse süstimine põhjustab reaktsiooni, mis sarnaneb anafülaktilise šokiga (peptoonšokk). Uuemal ajal selgus (Maunter, Pick, Dale jt.), et histamiin kutsub esile toksilised nähud (histamiinšokk), mis samuti sarnanevad akuutse anafülaksia nähtudega (bronhioolide spasm, maksaveenide kokkutõmbumine jne.).

Tsellulaarse teooria kaitsejad väidavad, et anafülaktilise šoki tekkimiseks tarvilik primaarne antigeen-antikeha reaktsioon ei toimu veres ja koemahlades, vaid koerakkudes või nende pinnal. Šoki põhjustajaks ei ole antigeen-antikeha kompleksi enese või selle poolt tekitatud derivaatide mürgilisus, vaid antigeen-antikeha kompleksi poolt põhjustatud korratused rakkudes.

Passiivse sensibiliseerimise puhul ei teki ülitundlikkus kohe

pärast seerumi süstimist, kus seerumiga ülekantavate antikehade kontsentratsioon veres on kõige suurem, vaid pärast teatava latentse perioodi möödumist, kus enamik antikehasid on juba verest kadunud (Fenyvessy ja Freund, Weil jt.). Näib, et anafülaktiliseks šokiks on vajalikud rakkudega fikseerunud antikehad, mida tõestavad ka katsed Dale'i järgi sensibiliseeritud loomade kudedega ja organitega: võetakse aktiivselt või passiivselt sensibiliseeritud merisea emaka sarv või tükk soolt, asetatakse Ringer'i lahusesse ja ühendatakse vastava registreerimisaparaadiga ja lisandatakse siis Ringer'i lahusele spetsiifilist antigeeni. Selgub, et sensibiliseeritud kudede kontraktsioon on silmatorkavalt tugevam, kui kontrolliks võetud sensibiliseerimata looma kudede oma. Sensibiliseeritud loomade koed reageerivad antigeeni väikestele hulkadele ja reaktsioon on väga spetsiifiline. Ühekordse tugeva reaktsiooni vältel desensibiliseerub uuritav kude ja sensibiliseerub uuesti, kui seda hoida 2—3 tundi sensibiliseeritud merisealt saadud seerumilahjendis ja pärast loputada Ringer'i lahuses. Normaalse merisea emakas sensibiliseerub, kui toimetada selle perfusiooni pikema aja vältel sensibiliseeritud loomalt saadud lahjendatud seerumiga. Mõlemal korral ilmub ülitundlikkus mõni tund pärast seerumi toimet. Huvitavad on katsete tulemused, mis näitavad, et antigeeni mitmekordsel süstimisel immuniseeritud merisigadel ei teki anafülaktiline šokk sama antigeeni süstimisel peritoneumi, kuna aga hiire emakas reageerib antigeenile *in vitro* tüüpilise kontraktsiooniga. Sellest näeme, et kudedega fikseerunud spetsiifilised antikehad leiduvad nii sensibiliseeritud kui ka immuniseeritud loomade organismis. Antikehade üliküllus veres kaitseb organismi anafülaktilise šoki vastu (Dale ja Weil). Nähtavasti liitub antigeen eeskätt vabalt veres tsirkuleerivate antikehadega ega ulatu seepärast kudedega fikseerunud antikehadeni.

Katsetest paistab, et need koed, mis harilikult on vigastatud akuutse anafülaktilise šoki puhul, osutuvad tundlikkudeks histamiinile. Lewis (1927) leidis, et naha lokaalse vigastuse puhul esineva punetuse ja kubla tekkimist põhjustab eriline keemiline faktor (H-substants), mida valmistavad vigastatud rakud. Samasugust efekti nahal võib saavutada ka histamiiniga. Mitme-

sugused normaalsed koed (kops, maks, nahk jne.) sisaldavad varieeruval hulgal histamiini, mis teatud tingimusis võib vabaneda. Pääsedes rakke ümbritsevaisse koemahladesse stimuleerib ta tundlikke rakke vabanemise piirkonnas või sellest eemal (Dale jt.).

Ülalesitatud andmeist näib võimalikuna, et anafülaktiline ja anafülaktoidne šokk olenevad: 1) rakkude vigastusest, mida põhjustavad antigeen-antikeha spetsiifiline reaktsioon või mõned teised mittespetsiifilised substantsid, ja 2) vigastuse tagajärjel vabaneva histamiini toimest histamiinitundlikkudesse rakkudesse (Topley ja Wilson).

Inimese ülitundlikkuse nähte, mis on ilmsesti analoogsed loomade anafülaktilise šoki nähtudega, on juba ammu kirjeldatud kliiniliste tähelepanekute alusel (allergilised haigused). Neid hakati eriliselt jälgima pärast seda, kui immuunseerumid leidsid laialdasemat tarvitamist terapeutiliseks otstarbeks. Pirquet ja Schick (1905) kirjeldasid üksikasjaliselt haigusnähte, mis ilmuvad sageli võõra vereseerumi süstimisel, nimetades neid seerumtõveks. Kui seerumit süstitakse esmakordselt loomulikult ülitundlikule inimesele, siis ilmuvad seerumtõve sümptoomid 8.—10. päeval pärast süstimist: alul punetus nõelapiste koha ümber, siis piinavalt sügelev paistetus süstimiskohal, kehatemperatuur 38—39° C, mida saadavad mõnel juhul pööritus ja oksendus; sügelev punetus ja urtikaaria üle kogu keha, ödeem näonahal ja mõnel juhul üldine; lümfinäärmete paistetus, mis alul esineb süstimise piirkonnas; liigeste valud, mõnel juhul periartikulaarne ödeem ja vedelikuhulga suurenemine liigeses; kerge albuminuuria; leukopeenia ja relatiivne lümfotsütoos; keelepaistetus ja köha. Haigus paraneb mõne päeva järel, kuid võib püsida märksa kauem. Haiguse raskus ja kestus oleneb seerumi iseloomust, hulgast ja süstimiskohast. Nahaalusi süstimise puhul tekib seerumtõbi harvemini. Keskmiselt ilmub mainitud tõbi 10—15% nendest, kellele seerumit süstitakse.

Seerumi reinjektsioonile, mida toimetatakse 12 päeva ja rohkem pärast esimest süstimist, järgnevad seerumtõve nähud kas otsekohe või mõni tund hiljem (kiire seerumtõbi). Kestis aga esimese ja teise süstimise vahe rohkem kui 6 kuud, siis ilmu-

vad haigusnähud 3—5 päeval (kiirendatud seerumtõbi). Sel puhul, kui süstimiste vahe kestis $1^1/_2$—6 kuud, võib ilmuda alul kiire ja siis kiirendatud seerumtõbi.

Haigusnähud, mis ilmuvad pärast seerumi süstimist nendel isikutel, kellele on juba varemini seerumit süstitud, on sageli väga ägedad ja sarnanevad anafülaksia nähtudega: juba mõne minuti või 2—3 tunni järel näonaha punetus, urtikaaria, puisi nõrkus, vererõhu langus, üksikutel kordadel hädaohtlikud kollapsinähud ja meelemärkuseta olek, limanahkade ödeem, pisarate vool, õhupuudus, aevastus, rasketel juhtudel reflekside kadumine, sfinkterite lõtvus, emfüseem, väga harva hingamise lõpp ja surm. Ühe ja sama loomaliigi seerumi korduva süstimise tagajärjel tekib seerumtõbi kergemal või raskemal kujul väga sageli (90%). Verre süstimise ajal või kohe selle järel võivad esineda näonaha tsüanoos ja õhupuudus, mis 10—15 min. kestavad ja siis mööduvad. Seerumi reinjektsiooni puhul seljaajukanalisse võib leida kahesuguseid sümptoome: 1) osal haigeist ilmuvad 3—4 tundi pärast süstimist seljavalu, peavalu, temperatuuri tõus ja meningiidi nähud (seerum-meningiit). Seljaajuvedelik muutub kollakaks (kapillaarsed verevalumid) ja sisaldab suurenenud hulgal polünukleaare. Need nähud kestavad harilikult 12 tundi ja ilmuvad iga uue süstimise järel suurema hooga; 2) teisel osal haigeist ilmuvad kiiresti ülalpool-kirjeldatud anafülaktilise šoki nähud, mis võivad koguni surma põhjustada.

Eriliigina käsitatakse harilikult inimese konstitutsionaalset ülitundlikkust ehk idiosünkraasiat, mille puhul mõned isikud avaldavad lokaalseid või üldise iseloomuga reaktsiooninähte loomulikul kokkupuutumisel mingi teatava ainega: õietolm, mis põhjustab palavikku, nohu ja astmat; hobusesõnniku lõhn ja mitmesuguste loomade epidermise osakesi sisaldav tolm, mis sissehingamise korral kutsuvad esile astma; hobuse seerumi väikese annuse intrakutaansel süstimisel tekkiv lokaalne ja mõnikord üldine reaktsioon; ektseem jodoformi ja teiste vahendite nahale aplitseerimisel; ebaloomulikud reaktsioonid mitmesuguste keemiliste ühendite (ravimite) tarvitamisel ja korratused mitmesuguste toiduainete tarvitamisel (alimentaarne idiosünkraasia ehk

anafülaksia). Viimastest on tuntud imikutel lehmapiima tarvitamise tagajärjel tekkiv oksendamine, kõhulahtisus, kehatemperatuuri langemine ja urtikaaria (Hutinel). Sama iseloomuga haigusnähte võivad põhjustada lastel ja täiskasvanuil mitmesugused valku sisaldavad toidud (kanamunad, piimaprodukid, liha jne.). Kergemaid ja raskemaid ülitundlikkuse reaktsioone (urtikaaria, ödeemid ja seederikked) võib näha kalade, molluskide, vähkide, maasikate ja mõnede rasvainete söömise puhul. Ülitundlikkuse reaktsiooninähte võib esile kutsuda väike hulk ainet, kuna ohtlikumad haigusnähud esinevad peamiselt aine suuremate hulkade organismi pääsemise korral. Loomulik ülitundlikkus võib esineda ühe või mitme substantsi vastu, kuid see on iseloomult alati spetsiifiline ja reaktsiooninähud on iseloomulikud igale loomaliigile. Mõned arvavad, et šokki võivad esile kutsuda ka seedetraktist resorbeerunud toiduvalkude peptilise seedumise tagajärjel tekkinud lammutusproduktid (Thiers ja Chevallier).

Loomulik ülitundlikkus erineb anafülaksiast peamiselt sellega, et hüpersensibiliteedi reaktsiooni põhjustav tegur võib sageli olla mitteantigeense omadusega substants, mis kutsub esile reaktsiooni juba esmakordse kokkupuutumise puhul, ilma eelneva sensibiliseerimiseta. Loomulik hüpersensibiliteet on päritav ja esineb sageli ühel või teisel ühe perekonna liikmetest, kuigi mitte alati ühe ja sama substantsi suhtes. Anafülaksia spetsiifiline desensibiliseerimine loomadel on märksa kergem loomuliku ülitundlikkuse desensibiliseerimisest inimesel (Coca). Lähematel uurimistel selgus, et mainitud erinevused on rohkem kvantitatiivse kui kvalitatiivse iseloomuga, kuid sellele vaatamata soovitavad mõned nimetada loomulikku ülitundlikkust atopüaks ja reaktsiooni esilekutsuvaid substantse atopeenideks (Coca ja Cooke). Viimastest on paljudel substantsidel ka antigeensed omadused, kuigi aktiivne immuniseerimine mõnedega, näit. õietolmuga ja hobusesõnniku ekstraktiga, on seotud raskustega (Parker, Ramsden jt.).

Raske on seletada idiosünkraasiat mitteproteiiniliste ja lihtsama keemilise struktuuriga ravimite vastu, kuid uuemad uurimised näitavad, et loomi võib sensibiliseerida arseeniühendite, joodi ja formaliini vastu, kui süstida neile mainitud ainete ja vereseerumi

segu, mille puhul tekib keemiliste substantside liitumine seerumiga antigeensete omadustega kompleksiks. Analoogiline liitumine on võimalik ka *in vivo*, kui loomale süstida ainult keemilist substantsi (Klopstock ja Selter, Jacobs ja Horsfall).

Loomuliku hüpersensibiliteediga sarnanevat ülitundlikkust on võimalik saavutada inimestel kunstlikult mitmesuguste antigeenide ehk atopeenide süstimisega. Nii loomulikku kui ka kunstlikku hüpersensibiliteeti võib passiivselt üle kanda ühelt isikult teisele sensibiliseeritud isiku seerumi süstimise abil nahasisesi (lokaalne) või verre (üldine), mis tõestab, et inimese ülitundlikkus kuulub antigeen-antikeha reaktsioonide liiki (Prausnitz ja Kustner, Coca, Levine jt.). Passiivne ülitundlikkus tekib teatava latentse perioodi järel ja püsib 3—4 nädala vältel. Ilma erilise tarviduseta soovitatakse (Coca ja Grove) nimetada loomuliku hüpersensibiliteediga isikute veres leiduvaid spetsiifilisi antikehasid reagiinideks, mis asjatult suurendab nomenklatuuri.

Hüpersensibiliteedi reaktsioonide vältimiseks seerumi süstimisel, samuti ka hüpersensibiliteedist olenevate haigusnähtude ravimiseks on alul tarvilik kindlaks määrata aine, mis põhjustab reaktsiooni. Ligikaudseid näpunäiteid selle kohta võib sageli saada, kui pärida patsiendilt, kas temal või tema perekonna liikmetel varemini on esinenud ülitundlikkuse sümptoome ja kas temale on 4—5 kuu vältel või varemini süstitud mingit seerumit. Ülitundlikkuse määramiseks (test) vereseerumi vastu süstitakse 0,05—0,1 $cm^3$ 0,85% NaCl-lahuses 1 : 100 lahjendatud hobuseseerumit intrakutaanselt. Positiivse reaktsiooni korral ilmub 5—20 min. vältel süstimiskohal keskelt kahvatu ja hüpereemilise ümbrusega sügelev kubel (urtikaaria). Negatiivse reaktsiooni korral peab katset kordama 1 : 10 lahjendatud seerumiga.

Tõelist ülitundlikkust seerumi suhtes näitab oftalmoreaktsioon, milleks tilgutatakse konjunktiivale üks tilk 1 : 100 lahjendatud seerumit. Positiivse reaktsiooni korral ilmuvad mõne minuti järel konjunktiiva hüpereemia ja sügelemine, raskemal juhul aga tugev punetus ning konjunktiiva ja laugude ödeem. Kui eelmine katse annab negatiivse tulemuse, siis peab katset kordama

1 : 10 lahjendatud seerumiga. Tugeva reaktsiooni kõrvaldamiseks võib tilgutada silma adrenaliini. Kui haige anamneesis ei ole ülitundlikkuse suhtes kahtlasi nähte ja eelmised intrakutaansed katsed on negatiivsed, siis võib seerumit takistamatult süstida. Samuti võib seerumit süstida ilma suurema ohuta, kui intrakutaanreaktsioon 1:100 lahjendatud seerumiga on positiivne ja mõlemad oftalmoreaktsioonid on negatiivsed. On aga üks oftalmoreaktsioonidest positiivne, siis on hobuseseerumi süstimine lubamatu või seda peab toimetama tarviliku ettevaatusega. Seerumi süstimine osutub küsitavaks, kui ainult üks intrakutaansetest (1 : 100) reaktsioonidest on positiivne, ja lubamatuks, kui seejuures üks (1 : 100) oftalmoreaktsioonidest on positiivne. Nõrga ülitundlikkuse puhul võib seerumit tarbe korral süstida korduvalt väikeste terapeutiliste annustena subkutaanselt, vältides süstimist lihastesse ja verre. Hobuseseerumi suhtes tundlikkudele isikutele peab tarbe korral süstima teistelt loomadelt (näit. veistelt) saadud immuunseerumit.

Seerumtõve puhul süstitakse raviks lihastesse 1 $cm^3$ adrenaliinilahust või raskemal juhul 0,2—0,3 $cm^3$ adrenaliini tugevasti lahjendatult pikkamisi verre, korrates süstimist tarbe korral mõne minuti järel. Edaspidiseks raviks soovitatakse kasutada *morph. muriatici, coffeini natr. benzoici,* kuumad kompressid kehale ja kuum jook; *ephedrini sulfurici* 0,04 iga 2—4 t. järel *per os,* 10% *calcium glyconicum*'i lahust 20 $cm^3$ aeglaselt veenisisesi ja täiendavalt 10 $cm^3$ lihastesse iga 12 t. järel, kui haigusnähud püsivad; aspiriini 0,3 g iga 2—4 t. järel, mis vähendab naha sügelemist; unepuuduse korral barbituraati koos adrenaliiniga (*ephedrini sulfur.* 0,5 + *phenobarbitali* 0,5 + *acetosali* 5,0, *div. in p. aeq. Nr. 15 in obl.,* 1 oblaat iga 2—4 t. järel). Väliselt soovitatakse lahjendatud äädikat, kuuma *natr. bicarbonic.* lahust, lahjendatud alkoholi ja generaliseerunud eksanteemi puhul alkaalilist vanni (*natr. bicarbonic.),* puuderdades pärast nahka talgiga, millele on lisandatud 0,25% mentooli.

Ülitundlikkuse määramiseks teiste ainete vastu kasutatakse nendest valmistatud ekstrakte ja süstitakse neid nahasse, tilgutatakse konjunktiivale või erikordadel teistele limanahkadele. Alimentaarse ülitundlikkuse määramisel kasutatakse säärase toidu

tarvitamist, millest kõrvaldatakse järjekorras üksikud kahtlust äratavad ained.

Loomuliku hüpersensibiliteedi desensibiliseerimine inimesel on üldiselt raske. Vastava antigeeni korduvate süstimiste abil on võimalik vähendada ajutiselt ülitundlikkust, kuid mitte hävitada täielikult (Coca). Desensibiliseerimiseks ülitundlikkuse puhul vereseerumite suhtes soovitab Besredka süstida väike hulk (0,5—1 $cm^3$) seerumit nahaalusi 4 tundi või seljaajukanalisse 2 tundi enne terapeutilise annuse süstimist; veenisisesi süstitakse alul 0,25 $cm^3$ seerumit, 10 minuti järel veel 1 $cm^3$ ja 15 min. järel võib juba süstida terapeutilist annust. Ülitundlikkuse korral mingi toiduaine suhtes antakse 1 tund enne sööki sama ainet *per os* väikesel määral. Kui ei ole teada, missugune aine põhjustab reaktsiooni, siis võib anda 1 tund enne sööki 0,5 g peptooni *per os*, mis toimib mittespetsiifilise desensibiliseerijana (Pagniez ja Pasteur Vallery-Radot). Täielikku desensibiliseerimist ei ole võimalik saavutada lühikese aja vältel.

Organismi reageerimine mitmesugustele välimistele ja seesmistele ärritustele muutub vahetpidamatult käsikäes ärrituste muutusega. Kui organismi ärrituvus ületab füsioloogilised piirid ja ärritusele järgnevad reaktsiooninähud on patoloogilise ilmega, siis räägitakse organismi patergiast. Ärrituvuse muutust, mida põhjustavad organismi pääsenud antigeenid, nimetas Pirquet allergiaks (kreekakeelsetest sõnadest *allas* — teine ja *ergo* — toime). Allergia all võib mõista kõiki hüpersensibiliteedi fenomene, kuid erilise uurimise osaliseks on saanud allergia, mis tekib organismis ühenduses bakteriaalse infektsiooniga.

Paljude uurimiste tulemused näitavad, et organismi aktiivset sensibiliseerimist on võimalik saavutada ka bakteriaalsete antigeenide süstimisega; sel teel saadud ülitundlikkus kandub üle passiivselt vereseerumiga (Rosenau ja Anderson, Kraus ja Dörr, Avery ja Tillet jt.). Ülitundlikkuse saavutamiseks bakterite ja nende produktide vastu, mis on üldiselt märksa raskem kui vereseerumiga, peab süstima antigeeni väikesi annuseid korduvalt 2- kuni 3-nädalaste vaheaegadega, kuna šoki esilekutsumiseks on tarvilik süstida verre korraga suurem hulk antigeeni.

Spetsiifiline ülitundlikkus ehk allergia bakterite produktide ja elusate mikroobide vastu tekib mitmesuguste infektsioonhaiguste puhul. Klassilise näitena võib mainida lokaalset reaktsiooni, mis tekib tuberkuloosihaigel inimesel ja loomal pärast tuberkuliini väikese annuse pääsemist nahasse või konjunktiivale, samuti ka suurema annuse puhul lahkamisel leiduvaid akuutseid vigastusi siseorganites. Süstides tuberkuloosihaigele loomale nahaalusi elusate tuberkuloosibatsillide suspensiooni, tekib tormine lokaalne reaktsioon nekrootilise haavandi näol, mis võrdlemisi kiiresti paraneb, kuid sellele vaatamata sureb loom hiljemini primaarse infektsiooni tagajärjel (Koch).

Allergia esineb peale tuberkuloosi veel paljude teiste subakuutsete ja krooniliste nakkushaiguste puhul. Ülitundlikkus allergia näol on ühtlasi organismi osaline spetsiifiline immuunsus, mis kahtlemata on tähtis faktor loomuliku ja kunstliku immuunsuse edasisel väljaarenemisel. Ta ei erine oluliselt anafülaksiast ja on tingitud immuunsuse üldisest põhimehhanismist — antigeeni ja antikeha liitumisest.

Katsed eksperimentaalse süüfilisega loomadel ja kliinilised tähelepanekud inimestel mõne teise nakkushaiguse puhul näitavad, et primaarse infektsiooni järel tekib lühikese aja vältel spetsiifiline immuunsus reinfektsiooni vastu, mis kaob ühes infektsioonhaiguse paranemisega spetsiifilise ravi tagajärjel. Kauemat aega kestnud haiguse vältel tekib osaline immuunsus, mis ei kao haiguse paranemisega, kuna pikka aega kestnud infektsioonhaiguse puhul areneb lõpuks täielik immuunsus (Kolle ja Prigge, Uhlenhuth ja Grossmann jt.). Säärasel teel tekkinud organismi resistentsust nimetatakse infektsiooniimmuunsuseks.

## XXVIII peatükk.

## Üldise epidemioloogia põhijooni.

Ürgaegadest alates tuntakse laiemate rahvahulkade haigustumist katkudesse, mis aeg-ajalt ilmusid ja tohutuid ohvreid nõudsid. Rändrahvaste esimesed tsivilisatsioonisammud koondumise näol

linnadeks ja ühiskondadeks põrkasid kokku katkudega, mis sageli hävitasid suurema osa elanikkonnast ja panid pikemaks ajaks kultuurilise arengu lonkama. Isoleerimisinstinkt oli tol ajal ainsaks tõkkeks, mis päästis rahvaid väljasuremise eest. Hilisematel aegadel liitus iga suurema sõjaretkega ja näljaga mõni katk oma hävitustööga. Hulki haaravaid haigusi hakati hiljemini nimetama taudideks ehk epideemiateks ja nende õpetust epidemioloogiaks.

Vaated taudide põhjustele, mis hallidel aegadel olid rajatud peamiselt ebausule ja vabale fantaasiale, on korduvalt muutunud sajandite vältel. Hippokrates ja tema õpilased seletasid, et õhk sisaldab taudi korral haigussekreeti ehk miasmi, millest sai aluse uuema ajani püsiv miasmiõpetus epidemioloogias. Hiljemini kujunes arvamus, et miasm tekitab katku ainult siis, kui inimese organismil on eriline vastuvõtlikkus või konstitutsioon, millest arenes XVII sajandist alates *constitutio epidemica* õpetus. Fracastorius kirjutas oma töös (Veneetsias 1546), et infektsiooni põhjustavad väikesed, nähtamatud, kuid paljunemisvõimelised spetsiifilised seemned. Mõned taudide uurijad asusid hilisematel aegadel seisukohale, et taudi tekitajaks on mingi eluvõimeline *contagium animatum*, mis haige küljest võib kanduda terve külge (*contagio*). Reaalsele alusele nihkus epidemioloogia alles XIX sajandi keskel, kus taudi tekitajas hakati nägema elusat ollust ehk *contagium vivum*'it.

Alates Pasteur'ist ja Rob. Koch'ist hakkas kiiresti arenema mikrobioloogia ja ühes sellega juurdus kindel ja tänini kehtiv seisukoht, et iga taudi tekitajaks on spetsiifiline mikroorganism.

Möödunud aegade taudide hävitusretkede õuduse pilte kujutavad vana-, kesk- ja uue aja kirjanikud, ajaloolased, sõdade kirjeldajad, kujutava kunsti teosed, muinasjutud, rahvaluule ja kaasaegsetelt arstidelt ning teistelt isikutelt säilinud kirjad. Viimase 40 a. tähelepanekud ja kogemused on meid palju õpetanud taudide suhtes. Epidemioloogiliste küsimuste selgitamisel ei piirduta enam haigusjuhtude registreerimisega ja taudi levimise jälgimisega, vaid katsutakse täiuslikumat pilti saada rahvahulkade vastuvõtlikku-

sest ja resistentsusest (immuunsusest) taudi suhtes. Selleks on eeskätt tarvis ligemalt tunda rahvahulga kui tervikliku organismi struktuuri, mis erineb individuaalse organismi struktuurist. Rahvas on kaitstud taudi vastu, kui suurem osa rahvahulka moodustavatest liikmetest ei ole vastuvõtlik taudina levivale haigusele, ja kui rahva struktuur ei võimalda haiguse edasikandumist ühelt isikult teisele, näiteks, kui puuduvad katku (pest) levitajad rotid, tähnilise soetõve vahekandjad riidetäid, malaaria levitajad sääsed ja kui on korraldatud puhta vee ning toidu varustus. Muutes rahva struktuuri tervishoidlikult ja elutingimusilt ning saneerides miljööd, kus viibib rahvas, on võimalik viimast kaitseda paljude nende taudide vastu, mis möödunud aegadel tekitasid tohutuid kahjusid. Kõige selle juures võib aga iga üksik isik olla vastuvõtlik epideemilisele haigusele.

Praegusaja epideemilised haigused kuuluvad levimiskiiruselt kolme pealiiki: 1) pikkamisi ja varjatult levivad, kroonilise iseloomuga endeemiad (tuberkuloos, leepra, süüfilis jne.), 2) perioodiliselt ägedal kujul puhkevad, lokaalse iseloomuga epideemiad (leetrid, sarlakid, difteeria jt.) ja 3) perioodiliselt puhkevad, kuid kiiresti levivad ja laiemaid hulki haaravad ägedad pandeemiad (koolera, katk, influentsa jt.). Paljud epideemiad on sajandite vältel oma iseloomu muutnud. Nii on teada, et leepra ja süüfilis levisid nende ilmumise alguses Euroopas väga kiiresti ja ägedal kujul. Umbes sama pilti võime ka praegusel ajal näha nende rahvaste juures, kes varemini olid süüfilisest täielikult puutumata.

Täielikuma pildi saamiseks peab jälgima iga epideemia käigu ajalugu pikemal ajavahemikul. Seda võimaldab taudi kohta koostatud täpne statistika, mis näitab haiguse levimiskiirust, üldist haigustumist, suremust, individuaalse haiguse iseloomu ja taudi puhkemise kordumist ühes ja samas piirkonnas. Säärane vaatlev ehk induktiivne epidemioloogia võimaldab kogutud andmete võrdluse ja analüüsimise alusel püstitada tõenäoseid teooriaid ja hüpoteese ning teha otstarbekohaseid korraldusi taudi tõrjeks. Ühtlasi peab toimetama taudist tabatud massi üldstruktuuri ja üksikute isikute haiguse ja vastuvõtlikkuse uurimist vastavate bioloogiliste meetoditega. Kõige kohasemaiks uurimisobjektideks sel-

leks otstarbeks on enam-vähem konstantse struktuuriga rahvahulgad, nagu koolid, suured lastekodud, tööliste artellid, sõdurid jt. Kõikidel isikutel korduvalt toimetatud bakterioloogiliste uurimiste abil võib jälgida haigusidude spontaanset tungimist uuritavasse rahvahulka, nende levimist antud miljöös ja haigusjuhtude tekkimiskäiku. Vastavate immuunobioloogiliste uurimismeetodite abil on võimalik korduvalt määrata suurel arvul isikutel spetsiifiliste antikehade hulka veres, mille alusel võib jälgida immuunsuse arenemist üksikutel indiviididel ja nende resistentsust loomulikule infektsioonile. Kahjuks ei tunta sääraseid reaktsioone veel kõikide nakkushaiguste uurimiseks.

Vastavate uurimiste tulemustest on selgunud, et mõnede haiguste puhul (*meningitis cerebrospinalis epidemica, poliomyelitis* ja *encephalitis lethargica*) on haigusidusid kandvate isikute arv väga suur, võrreldes manifestsete haigusjuhtudega, mis ühtlasi näitab, et haigusele resistentsete isikute arv ületab suurel määral vastuvõtlikkude arvu. *Typhus abdominalis*'e ja mõne teise nakkushaiguse puhul ei ole mainitud arvude vahekord nii silmatorkav (Glover). Eriliselt huvitavaid tulemusi on saadud massiliste bakterioloogiliste uurimiste ja immuunsuse astet määrava Schick'i reaktsiooni abil difteeriataudi levimise jälgimisel. Samuti on võimalik uurida sarlakitaudi levimiskäiku kurgulimas hemolüütiliste streptokokkide uurimise ja Dick'i reaktsiooni abil. Sel teel saadud andmed näitavad, et mingi epideemia puhkemisel säärases rahvahulgas, mida pikema aja vältel ei ole külastanud sama taud, haigustub suur arv isikuid, kusjuures haigus võib esineda tüüpilisel raskemal kujul, atüüpilisel kergemal kujul ja kliiniliselt koguni mittekonstateeritaval kujul. Osa isikuid on resistentsed ega haigustu üldse, kuid nad kannavad haigusidusid ja levitavad neid ümbrusse. Osal kandjatest on immuunsus puudulik ja nad võivad haigustuda hiljemini. Kõik mainitud infitseeritud isikud levitavad haigusidusid ümbrusse ja immuniseeruvad ise kord-korralt (Dudley). Iga epideemiat saadab haigusidude eritajate arvu kasv, kusjuures epideemia lõpupoolel kahaneb kiiresti vastuvõtlikkude isikute ja haigusjuhtude arv, sest suurele infektsioonivõimalusele on vastukaaluks immuniseeritute suur arv (postepideemiline staatus). Kandjateks

muutuvad üldiselt suuremal määral need, kes puutuvad kokku haigetega, kuna kontakt haigusidude eritajatega on selles suhtes vähem ohtlik. Epideemia möödumisel hakkab kahanema eritajate arv ja sellega käsikäes kahaneb hulkade immuniseerumine. Kui vastuvõtlikkude arv kasvab loomuliku juurdekasvu ja juurdetulijate arvel küllalt suureks ning esineb infektsioonivõimalus, siis võib puhkeda uuesti sama epideemia. Aeglaselt levivad ja pikaldaselt arenevad nakkushaigused püsivad kroonilise taudina ühes ja samas kohas, kui taudikoldesse immigreerub vahetpidamatult uusi vastuvõtlikke isikuid, mida võimaldab moodne kiire liiklemine (emigrandid, turistid, asunikud jne.).

Uuemal ajal on hakatud uurima epideemiate käiku eksperimentaalselt (deduktiivne epidemioloogia) peamiselt loomadel (hiired, jänesed, kodulinnud jt.) ja väiksemal määral ka inimestel (vabatahtlikel). Jagades mitmesse rühma suuremat hulka loomi, kes on vastuvõtlikud mingile nakkushaigusele (hiirte tüüfus, enteriit, pastörelloos, ektromeelia jt.), võib kunstlikult infitseerida osa loomi ühes rühmas ja immuniseerida teatava arvu loomi mõnes teises rühmas. Toimetades mitmeti loomade ümberasetamist ühest rühmast teise, on võimalik jälgida loomade haigustumist ja suremust. Bakterioloogiliste uurimiste abil saab jälgida muutusi haigusidude eritajate arvus ja vastavate seroloogiliste uurimistega selgitada immuunsuse tekkimist. Muidugi peab sel teel saadud tulemuste hindamisel silmas pidama, et eksperimentaalsed epideemiad on ikkagi kunstlikud, mis võivad erineda spontaanselt tekkinud epideemiatest. Samuti peab teadma, et eksperimentaalselt loomadel saadud andmeid ei ole võimalik ilma tarviliku reservatsioonita üle kanda inimestele.

Spontaansete ja eksperimentaalsete epideemiate puhul kogutud tähelepanekud näitavad, et mõnda nakkushaigust põdenud või haigusidude eritajad, samuti ka kunstlikult mõne haiguse vastu immuniseeritud indiviidid on kaitstud nii spontaanselt kui ka kunstlikult toimuva sama kergema iseloomuga infektsiooni vastu, kuid see kaitse ei ole absoluutne igasuguse intensiivsusega infektsioonile. Sellest paistab, et ainult universaalse immuniseerimisega ei ole võimalik saavutada hulkade täielikku kaitset kõikide epi-

deemiate vastu. Immuniseerimisele peavad abiks tulema sanitaarse seisukorra parandamine ja isikute loomulikku resistentsust kahandavate tegurite kõrvaldamine (Topley ja Wilson).

Epideemia ekstensiivsus (haigustumine), intensiivsus (suremus) ja hulkade immuniseerumine taudi vältel ning selle järel on väga varieeruvad ja olenevad hulgast tegureist. Ühes ja samas maakohas lühemate või pikemate ajavahemikkude järel korduvad taudid erinevad peaaegu alati nii oma ekstensiivsuselt kui ka intensiivsuselt. Näiteks on sarlakid üle 300 a. vältel korduvalt puhkenud taudina Inglismaal, kus suremus oli mõnikord ootamatult väike, teinekord aga üllatavalt suur. Sama asjaolu on konstateeritud mitme teise taudi suhtes, kuid meie teadmised on alles puudulikud mainitud võnkumiste põhjuste kohta. Kahtlemata on üheks põhjuseks tasakaalu muutused haiguse tekitaja ja vastuvõtja ehk peremehe vahel. Selles tasakaalus etendab suurt osa muutus peremehe resistentsuses, kuid näiliselt ka muutus haiguse tekitaja iseloomus.

Üldiselt on teada, et patogeensed mikroobid võivad kaotada *in vitro* ja *in vivo* oma virulentsuse kas täielikult või osaliselt. Säärase virulentsuse võnkumisega on osalt seletatav sajandite vältel toimunud muutused paljude epideemiate iseloomus. Katsed loomadel näitavad, et erineva virulentsusega mikroobid põhjustavad iseloomult erinevaid haigusi ja taude, kuid haigusetekitaja virulentsuse muutust ühe ja sama taudi puhul ei ole õnnestunud tõestada. Sellest tuleb järeldada, et erinevused suremuses ja haiguse levimiskiiruses taudi alguses ja lõpupoolel, samuti ka taudi tulek ei olene ainult mikroobide virulentsusest (Webster, Gill jt.). Vastavatest uurimistest on selgunud, et epideemia vältel võib muutuda patogeense mikroobi infektiivsus ehk selle levimisvõime ühelt isikult teisele, vaatamata sellele, et infektsioonivõimalused on jäänud endisteks. Koguni väga virulentsed mikroobid võivad olla mõnikord vähese infektiivsusega, levides vaid aeglaselt ühelt isikult teisele. Nähtavasti on säärasel korral mikroobide adaptatsiooni- ja sigimisvõime uue peremehe kudedes takistatud või piiratud (Greenwood).

Hulkade infektsioon ja haigustumine olenevad suurel määral

üksikute indiviidide resistentsusest, kontaktivõimalustest, kontakti kordumisest ja kestusest. Üksiku isiku ja hulkade resistentsus sõltub mitmesugustest mittespetsiifilistest faktoritest. Kliinilised tähelepanekud inimestel ja katsed hiirte tüüfusega näitavad, et rasvas lahustuva vitamiin A puudumine toidus põhjustab peale patoloogiliste muutuste (kseroftalmia, düstroofia jne.) veel organismi enesekaitse langust nakkushaiguste vastu. 2—3½ nädalat pärast vitamiin A kõrvaldamist toidust hakkavad loomadel tekkima lokaalsed abstsessid, spontaansed infektsioonid ja varemini tekkinud lokaalsete infektsioonide generaliseerumine. Loomad muutuvad vastuvõtlikumaks patogeensete mikroobide sattimisele ja sissesöötmisele ning ühtlasi langeb ka nende resistentsus mikrobiaalsete toksiinide suhtes. Raseduse ajal antud vitamiin A pidurdab puerperaalpalaviku tekkimist inimestel, kuid juba haigustunutele külluses antud vitamiin A ei avalda silmapaistvat terapeutilist mõju. Samuti ei ole märgata üldise resistentsuse suurenemist nendel loomadel, kes ei kannata avitaminoosi all ja saavad toiduga vitamiin A küllaldaselt (Webster, Topley, Melanby ja Green). Vitamiin C puudumise korral toidus on vaid mõnede katsete tulemused näidanud loomadel resistentsuse langust infektsioonidele, kuna vitamiin B ja vitamiin D ei ole katsetel loomadega seni avaldanud mingit mõju nende resistentsusele. Uuemad katsed tõendavad, et kuivatatud piimapulbri lisandamine toidule tõstab hiirte resistentsust infektsioonide ja teatud bakterite toksiinide suhtes, mis toime ei olene aga vitamiinidest (Watson).

Nälgimist peetakse tähtsaks teguriks, mis vähendab inimese ja loomade resistentsust infektsioonide vastu (Hotta). Kui nälgiv organism hakkab saama küllaldaselt toitu, siis tõuseb resistentsus kõrgemale sellest, mis oli enne nälgimist. Näib, et paastumine, mis on usuliseks kombeks paljudel rahvastel, on osalt põhjendatud bioloogiliselt. Väsimus ei suurenda otseselt vastuvõtlikkust infektsioonile ega soodusta seepärast tunduvalt taudi levimist, kuid võib aktiveerida latentset infektsiooni (Spaeth, Boycott jt.). Paljude taudide tekkimisel on märgata sõltuvust aastaajast ja kliimast. See võib oleneda: 1) endogeensetest põhjustest, näit. toidust, eluviisist, teistest haigustest, ja 2) ekso-

geensetest põhjustest, milleks on näit. suuremad kontaktivõimalused, tööliste liikumine ühest kohast teise ja ilmastikutingimused. Sarlakid on paraskliimavöötme ohtlikumaid taude, olles harukordselt kergekujulised troopikamaades, kus nad esinevad väga harva.

Bakteriofaagid, mis sulatavad kiiresti mikroobe *in vitro*, ei avalda sama aktiivsust *in vivo*. Nende kaitsev toime infektsiooni vastu, samuti ka parandav toime nakkushaiguste puhul on väga piiratud ja osalt koguni vaieldav. Bakteriofaagide profülaktilist toimet epideemiate (peamiselt koolera ja düsenteeria) tõrjel, samuti ka nende tähtsust epideemia vaibumisel on korduvalt katsutud tõestada (Morrison, Walker jt.), kuid nende küsimuste lõplik lahendamine vajab täiendavaid uurimisi.

Haigustumine ja suremus sõltuvad paljude epideemiate puhul teataval määral vanusest, soost, sotsiaalseist oludest ja elukutsest. Bioloogiliste uurimiste abil on leitud, et mainitud sõltuvus oleneb üksikute isikute dispositsioonist haigustumisele ja eksponitsioonist kontaktile ehk kokkupuutumisele infektsiooniallikatega. Taani loodusteadlane Johannsen jagab inimesed epideemilistele haigustele vastuvõtlikkuse suhtes kahte liiki: 1) genotüübid, kus püsiv loomulik resistentsus kandub edasi pärilikkuse teel (näiteks inimene ei haigustu paljudesse loomade nakkushaigustesse), ja 2) fenotüübid, kus resistentsus on omandatud elu vältel ega kandu pärilikkuse teel edasi järeletulevale põlvele. Vastuvõtlikkus mõnele nakkushaigusele on peaaegu absoluutne (*influenza, syphilis, malaria, pestis, morbilli* jt.), teistele aga osaline (*scarlatina* 40%, *diphtheria* 15—20% jne.). Samasugust erinevust võib konstateerida suremuse suhtes (kopsukatk 100%, koolera 50%, sarlakid 6—8% jne.).

Epideemiad ei toimeta loomulikku valikut (selektsiooni), nagu mõned arvavad (Malthus jt.), sest haigustuvad ja surevad peaaegu ühtlaselt nii tugevad kui nõrgad. Epideemia tekib, kui on selleks küllalt vastuvõtlikke isikuid, soodus miljöö ja tarvilikud tingimused virulentse haigusetekitaja levimiseks. Olenedes samadest faktoritest, tõuseb epideemia mõnikord kiiresti haripunktini (eksplosiivne epideemia), teinekord toimub see aeglaselt

(tardiivne epideemia). Püsides lühemat või pikemat aega ja kasutades ära vastuvõtlikku materjali, hakkab epideemia muutma oma iseloomu (kergemad juhud) ja kustub siis kiiresti või aeglaselt. Epideemiate ajalugu näitab nende perioodilist kordumist (koolera 6 a., sarlakid 8 a. järel jne.). Epideemia võib püsida ühes kohas pikemat aega, kui taudi koldesse immigreerub vahetpidamatult uusi vastuvõtlikke isikuid. Pikemat aega uinuv taud võib uuesti puhkeda, ilma et selle tekitaja oleks imporditud väljastpoolt.

Meie ajal on epideemiad üldse väiksema ulatusega ja väiksema suremusega kui vanadel aegadel, kuid puudub kindlustus, et olukord tulevikus ei või uuesti halvemaks muutuda.

Epideemiate kahanemise põhjusi nägi Virchow juba üle 80 a. tagasi selles, et rahvad on hakanud elama paremates tervishoiutingimusis ja on kultuuriliselt tõusnud kõrgemale järjele. Justus von Liebig mainib, et rahva hügieenilise kultuuri taset võib mõõta tema poolt tarvitatava seebi hulgaga. Endeemiliste nakkushaiguste (tüüfus, paratüüfus, tuberkuloos jt.) juhtude arvu järsk tõus on indikaatoriks, et valve ja korraldused hulkade tervishoiu alal on jäänud laokile ning võitlusaparaadis on tekkinud puudusi, mida tuleb kiiresti parandada.

Iga suurem taud lööb veel meiegi päevil, kus on tarvitusel moodsad võitlusvahendid, sügavaid haavu ühiskonna ellu. Inimeste kaotustest ja majanduslikust kahjust tekkinud defitsiidi katmiseks kulub palju aega. Peale selle jätab iga epideemia ühiskonnale väiksema või suurema arvu invaliide kurtidena, pimedatena, vaimuhaigetena ja töövõimetutena. Epideemiate positiivse tagajärjena võiks mainida seda, et epideemiate õuduste otsesel survel ja enesekaitseinstinkti tõukel on hakanud kiiresti arenema hügieeniline kultuur. Ühtlasi on asutud järjekindlalt parandama sanitaarolusid, mille tagajärjel on kultuurrahvastel tekkinud korralik veevarustus, seadmed reovete ja mustuse hävitamiseks, nakkushaiglad ja on hakatud hoolitsema maapinna ja õhu puhtuse eest.

Nii möödunud aegadel kui ka praegusel ajal on epideemiad mõjustanud rahvusvahelist poliitikat, sest paljude sõdade

lõpetamist on otsustanud ja kiirendanud epideemiad. Säärast võimalust arvestades on tärganud mõnegi moodsa teadusmehe ja väejuhi peas kavatsusi, kuidas saaks kasutada kunstlikku epideemiat relvana vaenlase vägede hävitamiseks. Seda loodetakse saavutada äärmise virulentsusega haigusidude kunstliku levitamise abil vastase sõjaväes. Ei ole enam kahtlust, et bakteritega sõjapidamisest mitte ainult mõeldakse, vaid selle võimaluste selgitamiseks toimetatakse ka vastavaid katseid. Ülalpool kuulsime, et spontaansete epideemiate kiireks levimiseks on tarvilikud soodsad tingimused, millede loomine soovikohaselt on peaaegu võimatu, seepärast erineb kunstlik epideemia siiski suurel määral loomulikust epideemiast. Meil on põhjust uskuda, et see relv ei saa takistamatult surma külvata ainult vastaste hulgas, sest ta võib niisama ohtlikuks osutuda ka selle vahendi kasutajale endale. Tugevama tõkke loomiseks kunstliku taudi levimise vastu on aegsasti alustatud võitluse korraldamist. Selleks on tarvilik vastav luure enne sõda ja sõja ajal, et teada saada taudi tekitamiseks ettenähtud haigusidude iseloomu.

Taudide vastu võitlemise moodsad korraldused näevad ette abinõusid taudi t õ r j e k s (profülaktilised) ja juba leviva taudi p i d u r d a m i s e k s. Ka vanadel aegadel olid omad vahendid taudide tõrjeks, näit. palvetamiste korraldamine, taudipesa piiramine sõjaväeliste kordonitega, et keegi ei pääseks välja taudipesast, või kraavi kaevamine taudist tabatud linna või küla ümber. Moodsad õpetused hulkade infektsioonist ja immuunsusest väidavad, et taudi tekkimiseks on tarvilik hulkadest lülidest koosnev ahelik: infektsiooni algallikas → edasikandumise teed → organismi pääsemise tee → viiruse hulk → virulentsus → vastuvõtlikkus → haigustumine. Kui õnnestub täielikult tundma õppida seda ahelikku, siis avaneb võimalus nõrgemate lülide murdmiseks, millega ahelik puruneb ja epideemia lõpeb. Võitlustöö teostamiseks on igal riigil tarvilikud ajakohased taudide ja nakkushaiguste vastu võitlemist korraldavad s e a d u s e d j a m ä ä r u s e d. Et aga epideemia tekitaja ei tunnusta poliitilisi piire, siis ei piisa omal maal kehtivatest seadustest, vaid võitlust peab korraldama r a h v u s v a h e l i s e s u l a t u s e s, milleks on tarvilikud kokkukõlastatud rahvusvahe-

lised seadused ja sanitaarkonventsioonid naaberriikidega. Tegeliku võitluse tähtsamaks aluseks on esimeste haigusjuhtude *varajane diagnoos*, mis võimaldab kontaktinfektsiooni pidurdamist. Igasuguse kahtluse korral on tarvilikud obligatoorne laipade vaatlus ja tarbe korral nende lahkamine, bakterioloogilised uurimised, kahtlaste haigusjuhtude *isoleerimine* ja nende jälgimine. Haigusjuhtude korralik registreerimine ja taudi puhkemise teatavaks tegemine rahvusvaheliselt võimaldab aegsasti tõkkeid luua infektsiooni sissetoomise vastu väljastpoolt.

Kliiniliselt juba haigete isikute isoleerimine ja karanteenid, milledele suurt rõhku pandi endistel aegadel, on tõhusaks vahendiks ainult erikordsetes tingimustes ja teatavate taudide puhul. Terved batsillide eritajad ja atüüpilised haigusjuhud kui kardetavad taudilevitajad jäävad harilikult isoleerimata ja nende liikumist ühest kohast teise ei ole võimalik tõkestada, mis võimaldab praegusaja liiklemiskiiruse tõttu taudi kiiret edasikandmist ühest kohast teise. Uude kohta toodud taud levib juba vastavalt nendele tingimustele, mis seal esinevad. Seepärast ei vähenda haigete isoleerimine haiglasse peaaegu sugugi haigustumist sääraste taudide puhul, kus esineb suurel arvul kliiniliselt raskelt diagnoositavaid juhte ja haigusidude eritajaid isikuid. Samuti väärivad mainimist tähelepanekud, et ägeda epideemia puhkemise korral säärases kohas, kus haigus on püsinud kroonilise endeemiana juba pikemat aega, on eriti vähe põhjust loota piiri panemiseks taudile ainult haigete isoleerimisega haiglaisse. Sarlakiepideemiate lähemad uurimised on tõestanud, et haigete isoleerimine haiglaisse ei ole kahandanud haigustumist Inglismaal (*Greenwood* ja *Topley*). Ei ole kahtlust, et haigete asetamine haiglaisse võimaldab otstarbekamat ravi, mis võib siiski vähendada suremust taudi vältel.

Asjatundlikult korraldatud administratiivabinõud ja *sanitaarolude parandamine*, mis kindlustavad elanikele puhta vee, piima ja toiduained ja mis loovad tõkkeid infektsiooni levimisele, näit. reovete ja mustuse kahjutuks tegemine, insektide, kärbeste, rottide ja hiirte hävitamine, hästi korraldatud desinfektsioon ja kontaktivõimaluste piiramine, on vastuvaidlemata mõjuvaiks vahendeiks paljude taudide vastu võitlemisel. Hingamis-

teede epideemiliste haiguste puhul (*influenza* jt.) on korduvalt selgunud, et kõik need vahendid on osutunud võimetuiks.

Epideemiate vältimiseks ja nende levimise pidurdamiseks on mõjuvamaks vahendiks iga üksiku isiku ja ühes sellega kogu hulga resistentsuse tõstmine nakkushaiguste vastu. Paljude taudide puhul on seda võimalik saavutada otstarbeka meetodi abil toimetatud spetsiifilise profülaktilise immuniseerimise kaudu. Ühtlasi peab katsuma kõrvaldada võimalikult kõiki faktoreid, mis nõrgestavad organismi resistentsust. Võitluse kavas ei tohi puududa hulkade tutvustamine taudidega ja nendest hoidumise võimalustega. Hästi ettevalmistatud personaal, kes on võimeline rakendama tegelikke võitlusvahendeid, peab alati tagavaraks olema taudi puhkemise korraks.

## XXIX peatükk.

## Desinfektsioon ja sterilisatsioon.

Taudide vältimiseks ja tõkestamiseks peab ülalpool-mainitud vahenditele abiks võtma haigeilt välismaailma pääsenud haigusetekitajate täieliku hävitamise või nende kahjutuks tegemise. Kõigi patogeensete mikroobide ja nende produktide kahjutuks tegemist nimetatakse desinfektsiooniks, kuna sterilisatsioon on nii patogeensete kui ka mittepatogeensete mikroobide ja nende eoste täielik hävitamine. Praeguse aja praktilise desinfektsiooni abil ei ole alati võimalik saavutada tõhusat mikroobide hävitamist, seepärast peab taudidest hoidumiseks korraldama profülaktilist desinfektsiooni, mille all mõistetakse hoolitsemist isikliku, elamute ja rahvahulkade kogunemispaikade puhtuse eest. Isikliku puhtuse tase on seoses rahva tervishoiulise kultuuri arenguastmega, kuid puhtuse saavutamine käte ja ihu pesemise ning mustuse hävitamise abil on algnõudeks igale kultuurinimesele. Elamute ja rahva kogunemiskohtade (koolid, seltsimajad, vagunid, vaksalid, kontorid jne.) järjekindla puhastamise, pühki-

mise, tolmu väljakloppimise, ruumide tuulutamise, mööbli päikese kätte viimise, seebi- ja soodaveega seinte ja põrandate pesemise, lagede ja seinte lupjamise jne. abil on võimalik väikese vaevaga saavutada tugevat tõrjet taudide vastu.

Taudi ajal on haiged ise pea-allikaks, kust mikroobid ümbrusse pääsevad ja seega taudi levimist kiirendavad, mille pidurdamiseks peab haigustunnil kohe tarvitusele võetama jooksev desinfektsioon. Viimase ülesandeks on kõikide haigusidude hävitamine, enne kui nad haige ümbrusse levivad. Haige voodi, tema pesu, riiete, rooja, uriini ja teiste sekreetide ning ekskreetide põhjalik desinfitseerimine moodustab tugeva karanteeni taudi piiramiseks. Iga kord on tarvilik kõrvaldada ruumist, kuhu mahutatakse nakkushaige, kõik üleliigsed asjad (polsterdatud mööbel, vaibad, eesriided jne.).

Pärast haige paranemist, tema mahutamist haiglasse või surma korral infektsioonihaigusse võetakse viibimata ette lõppdesinfektsioon, millega katsutakse hävitada võimalikult kõik haigusidud, mida haige endast maha jättis. Lõppdesinfektsiooniga saavutatakse häid tulemusi siis, kui jooksva desinfektsiooni eest oli küllalt hoolitsetud. Mõistagi annab desinfektsioon häid tulemusi ainult siis, kui seda asjatundjad toimetavad. Pealiskaudne desinfektsioon on väikese tähtsusega ja sageli koguni kahjulik, sest inimesed, uskudes desinfektsiooni absoluutsesse toimesse, liiguvad ettevaatamatult haigusidude pesas, infitseeruvad ja levitavad taudi.

Desinfektsiooniks kasutatakse väga mitmesuguseid vahendeid. Praktilise tähtsusega on need vahendid, mis vastavad järgmistele nõuetele: 1) nad peavad surmama kiiresti ja täielikult haigusidud; 2) nende tarvitamisviis peab olema võimalikult lihtne; 3) nad ei tohi rikkuda desinfitseeritavaid objekte; 4) nad peavad olema küllalt odavad ja hulkadele kättesaadavad; 5) nad ei tohi desinfektsiooniks tarvitamisel kahjulikud olla inimestele ja loomadele; 6) nende toimet ei tohi pidurdada desinfitseeritavas miljöös viibivad ained.

Tuli on suurima desinfitseeriva toimega füüsikaline faktor, mis silmapilkselt hävitab kõik mikroobid ja nende eosed. Seepärast

on otstarbekas ära põletada kõik need infitseeritud esemed, millel pole suuremat väärtust (aluskotipõhk, õled, väärtuseta riided, sidematerjal jne.). Tulel kuumutamine on soodsaks vahendiks mittepõlevate esemete pinna steriliseerimiseks.

Kuiva kuuma õhku kasutatakse peamiselt laboratoorsete riistade steriliseerimiseks (160° C t°-s 1—2 tundi), kuna üldises desinfektsioonipraktikas on sellest peaaegu täielikult loobutud. Kuivas kuumas õhus surevad kõikide mikroobiliikide vegetatiivsed vormid 90 min. vältel 100° C t°-s, kuna kõikide mikroobide eosed surevad 140° C t°-s 3 tunni vältel. Seente eosed surevad 110—115° C t°-s 90 min. vältel ja moodustavad seega resistentsuselt vahelüli vegetatiivsete bakterite ja nende eoste vahel. Kui mikroobid viibivad keskkonnas, mis soojust halvasti juhib (riided, kuivanud ained jne.), siis on nende surmamiseks tarvilik märksa kõrgem t° (Koch ja Wolffhügel).

Veeauruga küllastatud kuuma õhu bakteritsiidne toime on märksa tugevam kuiva kuuma õhu toimest. Küllastatud auru pinge tõusuga käsikäes kasvavad ka auru temperatuur ning bakteritsiidne toime. Juba voolavas aurus, mis tekib vee keemisel mitteõhukindlas nõus (100° C), surevad mikroobide vegetatiivsed vormid 10—15 min. vältel. Õhukindlalt suletud ruumis ehk autoklaavis surve all tekkivas küllastatud aurus võib saavutada mikroobide ja nende eoste täielikku hävimist (sterilisatsioon) 120° C t°-s 30 min. vältel. Vedelate ainete desinfitseerimisel oleneb mikroobide suremise kiirus peale kuumuse veel miljöö H-ioonide kontsentratsioonist. Näiteks termofiilsete mikroobide eosed surevad hapu reaktsiooniga (pH 4,6) suspensioonis 120° C t°-s 2 min. vältel ja nõrgema happesusega (pH 6,1) suspensioonis 9 min. vältel (Bigelow ja Esty). Eelmisest väiksemal määral soodustab ka leelisene reaktsioon kuumuse desinfitseerivat toimet (Chick). Noored mikroobirakud on kuumusele tundlikumad kui vanad. Mikroobide surma põhjuseks kuumuse toimel peetakse raku proteiinide koaguleerumist. Osalise desinfektsiooni saavutamiseks (piim jne.) kasutatakse vedela aine kuumutamist ehk pastöriseerimist erilistes aparaatides 60° C t°-s 20—30 min., 70° C t°-s 5—10 min. ja 80° C t°-s 1—5 min. vältel. Söötmeile külvatuina sigivad kuumu-

sest mõjustatud mikroobid aeglasemalt kui kuumusest vigastamata mikroobid (Koch, Eijkman jt.).

Külm on väga otstarbekaks vahendiks aine kaitsemiseks roiskumise eest külmutushoonetes ja erilistes külmutuskappides. Välja arvatud mõned liigid, püsivad mikroobid tunde ja päevi vedelas õhus (—182—190° C) ja vedelas vesinikus (—252° C) elusatena.

Keemiliste substantside bakteritsiidset toimet kasutatakse väga sageli desinfektsioonipraksises. Isegi destilleeritud vesi surmab tundlikumaid mikroobe, mis toimub kiiremini anaeroobselt.

Hapete desinfitseeriv toime on väga varieeruv ja oleneb peamiselt nende elektrolüütilise dissotsiatsiooni astmest ehk H-ioonide kontsentratsioonist, kuid osalt ka happe iseloomust (Krönig ja Paul). Kergesti dissotsieeruvate mineraalhapete bakteritsiidne toime on üldiselt proportsionaalne vabade H-ioonide hulgaga, kuid mitte happe kontsentratsiooniga lahuses. Vähesel määral dissotsieeruvate orgaaniliste hapete bakteritsiidne toime, mis on mineraalhapete omast väiksem, oleneb peale H-ioonide veel anioonist ja dissotsieerumata molekuli omadustest. Näiteks *acid. aceticum* omab ainult 10—20% *acid. benzoicum*'i mürgisusest mikroobesse (Winslow ja Lochridge). Lämmastikhappe ja fluorvesinikhappe ($H_2F_2$) spetsiifiline bakteritsiidne toime oleneb näiliselt suurel määral anioonist (Topley). Kontsentreeritud mineraalhappeid ($H_2SO_4$, HCl, $HNO_3$) kasutatakse infitseeritud orgaaniliste ainete (röga, mäda, rooja jne.) desinfitseerimiseks, kuna nõrgema toimega happeid (2% *sol. acid. borici* jt.) kasutatakse naha, limanahkade ja teiste tundlikumate objektide desinfitseerimiseks.

Leeliste bakteritsiidne toime oleneb samuti kui hapetel nende dissotsiatsiooniastmest ehk vabade OH-ioonide kontsentratsioonist ja osalt ka leelise omadusist. Dissotsiatsiooniastme ja bakteritsiidse toime alusel on leeliste järjekord: $KOH > NaOH > LiOH \geq NH_4OH$. Nagu teada, on $Ba(OH)_2$ raskemalt dissotsieeruv kui KOH, kuid ta on viimasest bakteritsiidsem, mis oleneb metall-iooni (Ba) toksilisest toimest. Desin-

fektsioonipraksises kasutatakse 5—30% KOH- ja NaOH-lahust orgaanilistes ainetes leiduvate mikroobide hävitamiseks.

Odavaks ja mõjuvaks desinfektsioonivahendiks on $Ca(OH)_2$, mida kasutatakse lubjapiimana. Viimase valmistamiseks võetakse kustutamata lupja (CaO), lisandatakse võrdne hulk vett ja lastakse seista. Siis võetakse 1 osa pulbriks muutunud lupja ($Ca(OH)_2$) ja lisatakse 3 osa vett, segatakse hoolega ja tarvitatakse värskena, sest seistes muutub $Ca(OH)_2$ inertseks $CaCO_3$-ks.

Sooladest on väga mitmed rühmad tugeva bakteritsiidse toimega. Koguni 0,85% NaCl-lahus, mida nimetatakse füsioloogiliseks, on nõrgalt bakteritsiidne. Nii raskete kui ka kergete metallide soolade lahused nõrgas kontsentratsioonis ergutavad mikroobide kasvu, kuid ületades igale soolale vastava piirkontsentratsiooni, muutuvad nad bakteritsiidseks. Bakteritsiidne toime kasvab, kuid mitte igal juhul proportsionaalselt, soola kontsentratsiooni tõusuga. Kergesti vees lahustuvate raskete metallide soolade desinfitseeriv toime on üldiselt suhteline lahuses esinevate vabade metalliioonide hulgaga, seepärast oleneb ka $HgCl_2$-lahuse mikroobide surmav toime peamiselt vabade Hg-ioonide kontsentratsioonist, kuid mitte lahuse sublimaadi molekulaarsest kontsentratsioonist. Elavhõbeda halogeensete soolade elektrolüütilise dissotsiatsiooniaste ning bakteritsiidne toime on järgmine: $HgCl_2 > HgBr_2 > HgJ_2$. Hg-atsetaat ja Hg-oksütsüanaat dissotsieeruvad nõrgemini kui halogeensed soolad, seepärast on ka nende bakteritsiidne toime nõrgem (Petit jt.).

Uurides mitmesuguseid soolasid, kus teatav metall on seotud erinevate anioonidega, ja ümberpöördult, kus teatav anioon on seotud erinevate katioonidega, Eisenberg leidis, et metallide bakteritsiidne toime kasvab üldjoontes käsikäes nende aatomkaalu tõusuga. Teatavas kontsentratsioonis avaldavad ka paljud anioonid bakteritsiidset toimet, mis üldiselt on märksa nõrgem katioonide toimest, sest paljud anioonid (C, S, N ja O sisaldavad) on tihedalt seotud mikroobide toitumisega.

Soolade bakteritsiidne toime on märksa tugevam destilleeritud vee lahuses kui miljöös, mis sisaldab suuremal hulgal proteiine ja rasvaineid (Behring, Krönig ja Paul jt.). Paljud katioonid

(eriti rasked metallid) liituvad proteiinidega, andes inertseid ja mittelahustuvaid albuminaate, mille tagajärjel kahaneb lahustes vabade aktiivsete ioonide hulk ja ühes sellega lahuste bakteritsiidne toime. Mikroobiliikide tundlikkus ühe ja sama soola suhtes on väga erinev. Paljud soolad ning nende komponendid katioonid ja anioonid on toksilisemad gram-positiivsetele kui gram-negatiivsetele bakteritele (Eisenberg), kuna teised (kaalium, telluriit jt.) on toksilisemad gram-negatiivsetele kui gram-positiivsetele bakteritele (Fleming).

Desinfitseerivate lahuste valmistamisel tuleb silmas pidada soolade antagonistilist toimet. Näiteks 0,85% NaCl-lahus on võrdlemisi mürgine mõnele mikroobiliigile (*Neisseria intracellularis*) ja tundlikumatele koerakkudele, kuid see mürgilisus neutraliseerub $CaCl_2$ lisandamise tagajärjel. Monovalentsete soolade toksilist toimet neutraliseerib vastava hulga divalentse soola lisandamine lahusele. Harvemini neutraliseerivad divalentsete soolade mürgilisust monovalentsed soolad (Flexner, Winslow ja Falk). Seda arvestades on hakatud valmistama tasakaalustatud soolalahuseid, kus mitmesuguste soolade vastava vahekorra abil on saavutatud üksikute komponentide mürgilisuse täielikku neutraliseerumist (Ringer'i lahus jt.). NaCl ja mitmete teiste soolade lisandamine $HgCl_2$-lahusele vähendab tugevasti viimase bakteritsiidset toimet, kuna samade soolade mõõdukas lisandamine Hg-nitraadi, sulfaadi ja atsetaadi lahustele suurendab nende bakteritsiidset toimet. *Ammonium formicicum'i* lisandamine *acid. formicicum*'ile vähendab ja $NaNO_3$ või NaCl väikese hulga lisandamine tõstab *acid. formicicum*'i bakteritsiidset toimet (Norton ja Hsu). Lisandades 1% fenoolile kuni 24% NaCl, kasvab tugevasti fenooli bakteritsiidne toime. Mida bakteritsiidsem on lisandatav sool ise, seda rohkem tõuseb fenoolilahuse desinfitseeriv toime.

Soolade desinfitseeriva toime mehhanismi kohta puuduvad lõplikud andmed. On vähe usutav, et see toime oleneb suuremal määral osmootse rõhu muutusest, sest mikroobid on viimasele üldiselt resistentsed. Kõik soolad ja teised ained, mis sisaldavad kõrge protsendi kergesti vabanevat hapnikku ($HNO_3$, *acid. bichromicum*, $H_2O_2$, $H_2S_2O_8$ ja $KMnO_4$) või mis on võimelised vabastama

hapnikku (HCl, Cl, Br, J) teistest ühenditest, toimivad bakteritsiidselt oksüdeerimise teel. Harilikult kasutatakse desinfektsiooniks $KMnO_4$ ja $(NH_4)_2S_2O_8$ lahuseid, milledele lisandatakse nende toime tõstmiseks HCl (vesi + 1% $KMnO_4$ + 1,1% HCl või vesi + 3,7% $(NH_4)_2S_2O_8$ + 1,1% HCl). Veel mõjuvam on HOCl, mis surmab 0,01% lahusena *Bac. anthracis*'e eoseid 30 sek. vältel.

Desinfektsioonipraksises kasutatakse sageli kloorlubjapiima: 1 liitrile kloorlubjale lisandatakse pikkamisi 5 liitrit vett, segatakse hoolega ja tarvitatakse värskelt. Selle vahendi puuduseks võiks pidada vastikut kloorilõhna. Raskete metallide sooladest kasutatakse desinfektsioonipraksises väga sageli sublimaati ($HgCl_2$) lahjenditena 1 : 500 ja 1 : 1000, milledes surevad mikroobide vegetatiivsed vormid mõne minuti ja eosed mõne tunni vältel. Sublimaat rikub metallasju, ärritab nahka, liitub valkudega albuminaatideks ja aurumisel mürgistab õhku. Paljude vahendite (sulfitid, *acid. sulfurosum*, formaliin jt.) bakteritsiidne toime oleneb nende põhjustatud redutseerivast toimest. Soolade dissotsieerumisel tekkivate elektrolüütide mürgilisus elusale mateeriale võib oleneda: 1) elektrilaengust, 2) proteiinide lahustaja muutusest (lüotroopne efekt), 3) elektrolüüdi erilisest spetsiifilisest toimest, 4) elektrolüüdi ja proteiini ühendeist ja 5) elektrolüüdi radioaktiivsusest (Falk). Kokkuvõttes võiks mainida, et soolade bakteritsiidne toime oleneb katioonidest, anioonidest ja dissotsieerumata molekulist, või mainitud kolme teguri kombineeritud mõjust.

Absoluutne etüülalkohol on nõrgalt bakteritsiidne, kuid vees lahjendatuna kasvab see toime ja on kõige tugevam 50% alkoholil, langedes kord-korralt nõrgemates lahjendites. Absoluutne alkohol pidurdab temas lahustatud desinfitseerivate ainete bakteritsiidsust; veega lahjendatud alkoholi pidurdav mõju on märksa väiksem. Lahustatuna 50% alkoholis on $HgCl_2$ bakteritsiidne toime suurem kui vesilahusena (Epstein, Krönig jt.). Alkoholi lisandamine fenoolile ja formaliinile kahandab nende bakteritsiidsust. Alkoholide bakteritsiidsus kasvab rööbiti nende molekulaarse kaalu suurenemisega (Ritchie).

Eetrid ja kloroform avaldavad võrdlemisi nõrka desin-

fitseerivat toimet. Viimast kasutatakse peamiselt orgaaniliste ainete (vereseerum, ekssudaadid jne.) konservimiseks ja desinfitseerimiseks. Eetrites lahustatuina kahaneb desinfitseerivate ainete toime.

Fenool ehk karboolhape ($C_6H_5OH$), mis lahustub kuni 15 osas vees, on väga kohane praktiliseks desinfektsiooniks, sest ta ei riku desinfitseeritavaid esemeid ega neutraliseeru desinfitseeritavais aineis leiduvate soolade ja valkude toimel (röga, roe, uriin, mäda jne.). 3—5% karboolhappe vesilahus surmab vegetatiivsed mikroobid mõne minuti ja eosed mõne tunni jooksul. Kerge soojendamine ja 0,5% HCl lisandamine fenoolilahusele suurendab selle bakteritsiidset toimet. Nn. toores karboolhappes leiduvad mitmesugused kresoolid (kresool, trikresool jt.), milledel on suur desinfitseeriv toime. Kresoolid ei lahustu vees, seepärast kasutatakse neid värske vesisuspensioonina. Lisandades kresoolile võrdse osa *acid. sulfur. crudum*'it, saame tugeva toimega desinfitseeriva segu (aseptool, sanatool, hügienool jt.). Kresoolid, segatud leeliseste kaali-seepidega *(sapo viridis)*, on 1—5% vesisuspensioonina tugevalt bakteritsiidsed. Säärastest segudest on tuntud kreoliin, mis sisaldab 10% kresooli, ja lüsool, mis sisaldab 50% kresooli. Trikresool, mis lahustub vees kuni 2,5%, on umbes kolm korda tugevama desinfitseeriva toimega kui fenool. Liites Cl ja Br kresoolidega, saadakse desinfektsiooniks soodsad derivaadid (sagrotaan jt.). Kresoolide segud mineraalõlidega (saprool jt.) on sobivad haisevate ainete (klosettide) desinfitseerimiseks.

Formaldehüüd ($CH_2O$), mille 40% vesilahust tuntakse formaliinina, on desodoreeriva ja desinfitseeriva toimega. Lisatuna fermenteeruvale valgusegule, liitub formaldehüüd valkainete lammutusproduktidega ja moodustab lõhnata keemilised ühendid. Formaldehüüdi toimel muutuvad valgud lahustumatuteks ja raskelt lammutuvateks substantsideks, millest oleneb formaliini bakteritsiidne ja kudesid konserviv toime. Nõrkade vesilahustena (1 : 10 000—1 : 20 000) takistab formaliin mikroobide kasvu; 1—2% vesilahused surmavad mikroobide vegetatiivsed vormid 15—30 min. vältel.

Formaldehüüdi-gaasi kasutatakse peamiselt ruumide ja sääraste objektide desinfitseerimiseks, mida rikub kuumus. Selle gaasi

bakteritsiidne toime oleneb formaldehüüdi kontsentratsioonist, õhurõskusest, temperatuurist (35—45° C), gaasi toime kestusest (6—24 t.) ja gaasi juurdepääsust mikroobidele. Formaldehüüdi-gaasil on üldiselt piiratud surmav toime insektidele, kes surevad ainult selle gaasi suure kontsentratsiooni puhul.

Ruumide desinfitseerimisel kuumutatakse formaliini või selle polümeeri trioksümetüleeni ehk paraformi (tablettideks pressitud pulber) erilistes aparaatides (generaatoreis) koos veega ja vabanev formaldehüüdi-gaas ning veeaur juhitakse ruumi. Formaliini võetakse 360—480 g iga 30 $m^3$ ruumi kohta. Formaldehüüdi-gaasi lastakse toimida 6—12—24 t., siis avatakse aknad ja uksed gaasi kõrvaldamiseks, mida võib kiirendada ammoniaagi pulveriseerimisega ruumis formaldehüüdi neutraliseerimiseks. Enne gaasi juhtimist ruumi suletakse võimalikult õhukindlalt aknad ja uksed, määritakse kinni kõik praod ja ruum köetakse hästi soojaks. Mitmesuguste objektide desinfitseerimiseks on kombineeritud (v. Esmarch jt.) erilise ehitusega desinfektsioonikatlad, kust enne õhk kuni teatava rõhuni evakueeritakse ja selle järel veeaur ja formaliinigaas sisse lastakse. Desinfitseeritavad objektid (riided, pesu, riistad, raamatud jne.) asetatakse ruumis võimalikult laiali, nii et formaliinigaas kergesti igale poole ligi pääseks.

Formaliinigaasi desinfitseeriva toime kontrollimiseks asetatakse 2—3 cm pikkused puuvillniidid või filterpaberi ribad, millede külge oli kuivatatud eosteta ja eostega mikroobide suspensiooni, avatud ümbrikes mitmesse kohta desinfitseeritavasse ruumi. Pärast desinfektsiooni lõppu saadetakse kinnikleebitud ümbrikud uurimisele, kus niidid või paberiribad asetatakse puljongsöötmesse ja jälgitakse kasvu tekkimist 48 t. vältel.

Vääveldioksüüdi ($SO_2$), mis tekib väävli põlemisel, kasutatakse haiglate, laevade, korterite, riiete jne. desinfitseerimiseks ja rottide hävitamiseks. See gaas on aktiivselt bakteritsiidne peamiselt rõskes õhus, mis oleneb nähtavasti sellest, et $SO_2$ veega liitudes annab desinfitseeriva toimega *acid. sulfurosum*'i ($H_2SO_3$). Rõskes õhus, mis sisaldab 4 mahuprotsenti $SO_2$, surevad ilma eosteta patogeensed mikroobid 8 t. jooksul. Desinfitseerimisel asetatakse võimalikult õhukindlalt suletud ruumi küllalt suur metall-

pann peeneks murtud väävlitükkidega, 1500 g iga 30 $m^3$ ruumi kohta, valatakse peale 100—200 $cm^3$ alkoholi ja süüdatakse põlema; väävlipann asetatakse teisele märksa suuremale ja vett sisaldavale pannile, suletakse uks ja lastakse seista 8—12 tundi. Olgu mainitud, et eluruumide desinfitseerimist formaldehüüdi-gaasiga tuleb mitmeil põhjusil pidada paremaks $SO_2$-ga desinfitseerimisest: formaldehüüdi-gaas on suurema bakteritsiidse toimega, ta rikub vähem majakraami ja seda võib juhtida ruumi väljastpoolt, millega väldi-takse tuleoht.

Kloor ($Cl_2$) on rõskes miljöös tugeva bakteritsiidse toimega gaas. Veega kokku puutudes vabaneb kloori afiinsuse tõttu vesinikule bakteritsiidne hapnik *in statu nascendi*. 0,2% vesilahusena surmab kloor mikroobide eosed 5 min. vältel ja vegetatiivsed vormid peaaegu silmapilkselt. Lisandades mikroobe sisaldavale veele 0,5—1,0% kloorlupja, vabaneb *acid. hypochlorosum* ja enamik eosteta mikroobest sureb 1—5 min. vältel; 5% lahus surmab eosed 1 tunni vältel. Kloori kasutatakse sageli joogivee desinfitseerimiseks. Mida rohkem vesi sisaldab orgaanilisi aineid, seda rohkem peab lisandama kloori desinfektsiooni saavutamiseks.

Värvainetest on violetsed värvid (kristallviolett, metüülviolett, gentsiaanaviolett jt.) bakteritsiidse toimega gram-positiivsetele mikroobidele, kuna gram-negatiivsed mikroobid on tundlikumad hapudele aniliinvärvidele (hapu fuksiin jt.). Gentsiaanavioleti vesilahus 1 : 100 000 surmab 90% gram-positiivsetest ja umbes 10% gram-negatiivsetest mikroobiliikidest (Churchman). Aniliinvärvide lisandamist söötmetele kasutatakse selektiivsöötmete valmistamisel mikroobide isoleerimiseks. Mõningaid värvaineid kasutatakse infitseeritud haavade ravimisel (flaviin jt.).

Eeterlikest õlidest on ainult vähesed (*ol. cinnamomi, ol. thymi, ol. juniperi, ol. santali* jt.) bakteritsiidse toimega nii puhtalt kui ka alkoholis lahustatult. Enamik eeterlikke õlisid on antiseptilise toimega, seepärast kasutasid juba vanad egiptlased neid laipade balsameerimiseks (Chamberland).

Loomarasvadest eritavad mõned (hülgerasv jt.) bakteritsiidse toimega auru, kuna teised rasvad (kalamaksaõli ja *ol. olivarum*) muutuvad bakteritsiidseks päikese ja ultravioletsete

kiirte mõjul, mis nähtavasti oleneb osalt sel puhul tekkinud $H_2O_2$-st (Harris, Milas jt.).

Seepide ehk küllastatud ja küllastamata kõrgemate rasvhapete leelissoolade desinfitseerivat omadust on tõestanud väga paljud uurimised (R. Koch, Reichenbach, Eggerth, Paris jt.). Olenedes seebi valmistamiseks kasutatud rasvast ja leelisest ning valmistamisviisist, on seepide bakteritsiidne toime üldiselt väga varieeruv. Seebi desinfitseeriv toime oleneb suurel määral hüdrolüüsiprotsessist, kusjuures vabanevad leelised ja rasvhapped, mis on bakteritsiidse toimega (Reichenbach). Lõhnaseepide desinfitseerivat toimet võivad tõsta seebile lisandatud lõhnaained (terpineool, vanilliin, heliotropiin jne.). Üldiselt toimivad seebid ühtedesse mikroobidesse võrdlemisi tugevalt bakteritsiidselt (*C. diphtheriae, Brucella abortus, Eb. typhosa* jt.), kuna teised mikroobid on resistentsemad (*Staphylococcus, Escher. coli* jne.). Erilise ettevaatusega tuleb hinnata mitmesuguste reklaamitavate desinfektsiooniseepide bakteritsiidset väärtust, sest seebid pidurdavad paljude neile lisandatud desinfitseerivate vahendite (fenooli ja selle derivaatide, sublimaadi jne.) toimet. Seebi desinfitseeriva omaduse tõstmiseks peab lisandama suurel hulgal desinfitseerivat ainet, mis pesemisel võib kahjulikult mõjuda nahale (Hampil). Nõuete kohaselt valmistatud ja ohtralt tarvitatud seebid omavad suurt tähtsust nakkuste vältimiseks, sest nad on parimaks vahendiks mustuse kõrvaldamisel ja avaldavad ühtlasi desinfitseerivat toimet.

Praktilise desinfektsiooni korral peab otstarbekohaselt valima desinfektsioonivahendit ja hoolitsema, et see puutuks mikroobidega kokku küllaldase aja vältel. Haigelt võetud ihupesu, voodipesu, käterätid, taskurätid jne. asetatakse haige ruumis 2,5% fenoolilahusesse 1—6 tunniks, liigutatakse korduvalt ja keedetakse enne pesemist. Roe, uriin, röga, okse, sülg ja ninalima kogutakse klaas-, metall- või savinõusse, mis sisaldab karboolhappelahust või lubjavett, segatakse korduvalt ja lastakse seista mõni tund (rooja kuni 12 tundi) enne käimlasse valamist. Desinfitseerivat lahust peab olema mahult vähemalt kaks korda rohkem kui desinfitseeritavat materjali. Tiisikushaigete röga tuleb koguda võima-

likult kaanega topsidesse, mis sisaldavad karboolhappelahust, lubjapiima või mõnd teist desinfitseerivat ainet, lastakse seista ja keedetakse enne röga väljaviskamist. Haigeilt järelejäänud toit põletatakse või asetatakse karboolhappelahusesse, lastakse seista mõni tund ja visatakse siis ära. Haigel kasutada olnud taldrikud, noad, kahvlid, lusikad jne. pestakse alul hoolega karboolhappelahuses, siis loputatakse keevas soodalahuses ja lõpuks keevas vees. Haige ruum, riided, mööbel jne. desinfitseeritakse eespool-mainitud gaasidega. Ohtlikult infitseeritud laip mähitakse täielikult karboolhappe- või sublimaadilahusega immutatud linadesse ja mahutatakse hermeetiliselt suletud puusärki.

Desinfitseerivate lahuste valmistamisel on tarvis silmas pidada, et mikroobirakku tungivad seesugused vahendid, mis lahustuvad lipoidides (Gutstein ja Schumacher). Kui desinfitseeriv aine lahustub paremini lahustusvahendis (alkohol jt.) kui mikroobimembraani lipoidides, siis ei tungi see mikroobi sisse ega toimi bakteritsiidselt. Mikroobid, mis sisaldavad palju lipoide (*M. tuberculosis*), samuti ka mikroobide eosed on üldiselt resistentsed desinfitseerivatele lahustele; neid surmab kiiremini kuumus. Desinfektsiooni tulemused olenevad suurel määral ka vahendi tarvitamise viisist, desinfektsiooniaparaatide ja -asutiste otstarbekohasest ehitusest ning desinfektori vilumusest.

Vaatamata hulgale katsetele ei ole veel leitud mõjuvat vahendit naha (käte) absoluutseks desinfitseerimiseks. Rasvaga läbiimbunud sarvnaha-kiht ei lase desinfitseerivat ainet tungida sügaval nahas viibivate mikroobideni. Kirurgiliste operatsioonide eel pestakse käsi harjaga 5 min. sooja seebiveega, siis 1 min. 85% alkoholis hõõrudes steriilse harjaga ja lõpuks 2 min. 1 : 1000 sublimaadilahuses. Viimasel ajal soovitatakse käte desinfitseerimiseks $^1/_2$% Zephirol'i lahust. Operatsioonivälja nahka pestakse sooja rohelise seebi lahusega, alkoholiga ja 1 : 1000 sublimaadilahusega; siis asetatakse nahale mõneks tunniks (3—6 t.) 25% rohelise seebi lahusega immutatud kompress ja kaetakse kummiriidega; lõpuks pestakse nahka veel eetriga, alkoholiga ja 1 : 1000 sublimaadilahusega. Operatsioonivälja kiirendatud desinfektsiooni tarviduse korral määritakse kuiva nahka 7,5% joodtinktuuriga (lastel 3%), lastakse kui-

vada ja pestakse siis 75% alkoholiga. Bakterioloogiline kontroll näitab, et mainitud meetoditega desinfitseeritud nahast erituv higi ei ole peaaegu kunagi steriilne, millega on õigustatud steriilsete kummikinnaste tarvitamise nõue operatsioonidel. Patogeensete mikroobidega (mäda, röga jt.) infitseeritud käsi peab enne pesemist hoolega desinfitseerima, et vältida ohtlikkude elusate mikroobide pääsemist pesuvette.

L i m a n a h k a d e absoluutne steriliseerimine neid vigastamata on peaaegu võimatu. Mitmesuguste desinfitseerivate vahendite nõrkade lahuste abil (vesinikülihapend, naatriumhüpoklorit, karboolhape, trüpaflaviin, rivanool jt.) võib kõrvaldada suurema osa limanaha pinnal leiduvaid mikroobe ning pidurdada sinna püsima jäänud mikroobide arenemist, kuid seejuures ei hävi sügavamal limanahas viibivad mikroobid.

Infitseeritud h a a v a d e desinfitseerimine ja desodoreerimine on lubatav ainult seesuguste vahenditega, mis ei vigasta ega halva elavate kudede enesekaitse võimet. Selleks on otstarbekohasemad klooriühendid, milledest vabaneb tarvilikul hulgal aktiivset kloori, näiteks Dakin'i lahus (eriliselt valmistatud 0,5% naatriumhüpokloriti neutraalne lahus). Nähtavasti liitub kloor valkude amiinohapete lämmastikuga, andes valgule antiseptilise toime. Katsed näitavad, et lämmastik-kloori komponenti sisaldavad ained ehk k l o o r a m i i n i d (diklooramiin-T jt.) on antiseptilise toimega ja seejuures ainult nõrgalt toksilised kudedele (D a k i n ja C a r r e l). Klooramiinist vabanev kloor tungib sügavale kudedesse, neid ärritamata, mis võimaldab vahendi permanentset kasutamist pikema aja vältel. Infitseeritud haavade osalist desinfitseerimist võib saavutada joodtinktuuriga (ärritab tugevalt kudesid), gentsiaanavioleti lahusega, flaviiniga, merkuurokroomiga, kinosooliga ja teiste vahenditega.

Uuema aja katsed on suunatud spetsiifiliste vahendite sünteesimisele, mis oleksid võimelised surmama nakkushaiguste puhul organismis levinud patogeenseid mikroobe, vigastamata kudesid ja koerakke *(sterilisatio magna)*. Juba ammu oli teada kiinapuu koore terapeutiline toime malaaria ja ipekakuannajuure toime amöbiaalse düsenteeria ravimisel. Immuunobioloogilistest uurimistest selgus, et paljud kroonilised, eriti protozoade poolt esilekutsu-

tud nakkushaigused ei ole ravitavad immuunseerumitega ja vaktsiinidega. Seega tekkis tungiv tarvidus keemiliste vahendite järele nende haiguste ravimiseks. P. Ehrlich oli esimene, kes sel alal saavutas silmapaistvaid tulemusi. Ta lähtus põhimõttest, et ainult niisugused keemilised ained on kasutatavad ravivahenditena, mis erilise suguluse tõttu fikseeruvad peamiselt mikroorganismidega (parasitotroopsed ained) ega liitu. või liituvad vähesel määral koerakkudega (mitteorganotroopsed ained). Behring'i väljenduse järgi peab seesuguste vahendite mürgilisus haigusidudele olema relatiivselt suurem kui haigustunud organismile. Keemilisi aineid, millede tarvitamisega taotellakse organismi seesmist desinfektsiooni *(therapia magna sterilisans)* hakati nimetama kemoterapeutilisiks vahendeiks ja nendega ravimisviisi kemoteraapiaks.

Kemoterapeutiliste vahenditena kasutatakse mitmesuguseid aniliinvärve (metüülviolett, gentsiaanaviolett, trüpaflaviin, rivanool jne.). Protozoade poolt inimesel ja loomadel põhjustatud haiguste (unitõbi, surra, piroplasmoos jt.) ravimisel on omandanud erilise tähtsuse mitmesugused sünteetilised värvained: trüpaanpunane, trüpaansinine ja germaniin (Bayer 205). Protozoade ja spirohheetide poolt põhjustatud nakkushaiguste (süüfilis, *febris recurrens* jt.) ravimisel on silmapaistvaid tulemusi saavutatud mitmesuguste arseenide rivaatidega, milledest on üldiselt tuntud atoksüül, salvarsaan (606) ja selle derivaadid (neosalvarsaan, silbersalvarsaan jt.). Peale selle on trüpanosoomide ja spirohheetide poolt esilekutsutud haiguste ravimisel saavutatud häid tulemusi antimoni, vismuti ja elavhõbeda preparaatidega.

Mitmesuguste nimetuste all tuntud kullapreparaate (krüsolgaan, solganaal, sanokrüsiin, kolloidaalkuld jne.) on edukalt kasutatud tuberkuloosi, süüfilise, leepra ja teiste mikrobiaalsete haiguste raviks, kuna väiksema tähelepanu osalisteks on seni saanud plaatina, hõbeda, vase, nikli, kadmiumi, vanaadiumi ja telluuri soolad. Jood ja joodi ühendid on ammutuntud vahendid süüfilise ja tuberkuloosiprotsesside (skrofuloos) ravimisel. Kiinapuu koorest eraldatud alkaloid kiniin on eriliselt mõjuv vahend malaaria ravimisel. Kiniini derivaatidega optokiiniga (etüül-

hüdrokupreiin) ja vutsiiniga (oktüülhüdrokupreiin) on saavutatud rahuldavaid ravitulemusi *Diploc. pneumoniae, Streptococcus*'e ja teiste mikroobide poolt põhjustatud haiguste puhul. Ipekakuannajuurest isoleeritud alkoloidid (emetiin jt.) on osutunud väärtuslikeks vahendeiks amöbiaalse düsenteeria ravimisel ja kaulmoogra-õli on leidnud laialdast kasutamist leepra ravimisel.

Paistab, et 1935. aastaga, mil ilmusid (Domagk, Mietzsch, Klarer jt.) esmakordselt teated sulfureeritud bensoolide kohta (p-amiinobensoolsulfoonamiid), mis avaldas tähelepanu-väärivat terapeutilist toimet streptokokkide poolt põhjustatud haigusprotsessidesse, avanesid märksa laiemad võimalused ravimiseks kemoteraapia abil. Senisaadud mitmesugused derivaadid, näit. Prontosil (Saksamaal), Rubiazol (Prantsusmaal) jt., avaldavad erinevat terapeutilist efekti streptokokkide, *Neisseria intracellularis*'e, *Dipl. pneumoniae* poolt põhjustatud haiguste korral kui ka coli-batsilloosi ja brutselloosi puhul (Tréfouël, Nitti, Bovet jt.). Erilise huviga hakati jälgima gonorröa ravi analoogilise derivaadiga — Uliron'iga ehk p-amiinobensoolsulfoniil-amiinodimetüülsulfaniilamiidiga (Dees ja Colston, Grütz, Domagk jt.), millega on saavutatud tähelepanuväärivaid tulemusi. Sulfaniilamiidid, mis preparaatide arv kasvab kiiresti, on toksilised, seepärast peab asjatundja nende tarvitamist hoolega kontrollima (Cokkinis), kuid selle kohta tähendab Levaditi, et nähtavasti ollakse juba teel seesuguste ravimisvahendite leiutamisele, mis on manifestselt aktiivsed ning vabad toksilisest toimest organismile.

Kemoterapeutiliste vahendite toime mehhanismi üle puuduvad veel lähemad andmed, kuid näib, et nende spetsiifilist toimet ei ole võimalik seletada ainult suure afiinsusega parasiitidele ja afiinsuse puudumisega peremehe kudedele. Kahtlemata fikseeruvad kemoterapeutilised vahendid retikulo-endoteliaalkudedele ja virgutavad neid aktiivsemale tegevusele organismi enesekaitseks, kusjuures vahendi suured annused võivad halvata organismi loomuliku enesekaitse reaktsioone ja kiirendada nakkushaiguse arenemist. Mürgistuste vältimiseks ja soovitava terapeutilise efekti saavutamiseks peab vahendit andma korduvalt väikeste annustena pikema

aja vältel, mis näitab, et seni ei ole veel leidnud tõestust Ehrlichi *„sterilisatio magna"* ideaal. Ei ole kahtlust, et kemoteraapia tulemused olenevad suurel määral peremeesorganismi individuaalsetest omadustest. Ravi korral ei ole kemoterapeutilise vahendi kontsentratsioon organismis igal juhul kaugeltki küllaldane parasiitide surmamiseks *in vitro* ja mõni vahend ei surma parasiite *in vitro*, kuid surmab neid *in vivo*. Võib-olla muutub vahend organismis uueks ühendiks, või fikseerub koerakkudega, moodustades ravimilademeid (depoosid), kust vahend läheb järk-järgult üle mikroobide külge (transgressioon), takistab nende sigimist või surmab neid lõplikult (Morgenroth). Ehrlich väidab, et mikroorganismid võivad omandada tugeva resistentsuse mõne kemoterapeutilise vahendi vastu, mis muudab edaspidise ravi võimatuks sama vahendiga (resistentsed tüved).

Desinfektsioonivahendite bakteritsiidset toimet peab enne üldisele tarvitusele võtmist hoolega kontrollima ehk standardima. Selleks proovitakse alul vahendi bakteritsiidsust mitmesugustele eosteta mikroobidele vesisuspensioonis ja hiljemini selles materjalis, mida praktiliselt soovitakse desinfitseerida (roe, röga, mäda, uriin jne.). Eostele surmava toime kontrollimisel kasutatakse kas ainult eostest, või eostega mikroobide vanadest kultuuridest valmistatud suspensioone. Praktiliseks otstarbeks on soovitav võrrelda kontrollitava desinfektsioonivahendi bakteritsiidsust fenooli desinfitseeriva toimega.

Mikroobide kasvu takistava toime uurimiseks lisandatakse söötmeile kord-korralt suurenev hulk kontrollitavat vahendit; külvatakse mikroobid juurde, kasvatatakse 37° C t°-s kuni 10 päeva ja märgitakse tulemused.

Desinfektsioonivahendi surmavat toimet mikroobidesse uuritakse mitmesuguste meetoditega, milledest mainime vaid üldtuntumaid.

1) Vahendist valmistatakse mitmesuguse kontsentratsiooniga lahused, lisandatakse teatavaid mikroobe ja lastakse seista; segust külvatakse mitmesuguste ajavahemikkude järel üks aasatäis 5—10 $cm^3$ soodsasse vedelasse söötmesse (puljongisse), kultiveeritakse 37° C t°-s kuni 10 päeva ja märgitakse tulemused. Parem

on mikroobe enne edasikülvamist sadestada tsentrifuugimise abil desinfitseerivast ainest ja sadet korduvalt pesta 0,85% NaCl-lahusega, et vältida vahendi pääsemist koos mikroobidega söötmesse. Tarbe korral võib ainest vabastatud mikroobe süstida vastuvõtlikele loomile ja jälgida viimaseid pikema aja vältel.

2) Steriilsed siidniiditükid (Koch), Böömi granaadid (Paul ja Krönig), klaasitükid, filterpaberi- või riideribad asetatakse mikroobide või eoste suspensiooni, võetakse sealt välja, kuivatatakse ekssikaatoris, termostaadis 37° C t°-s või toasoojuses ja asetatakse siis desinfitseerivasse lahusesse, kust võetakse üksikud neist mitmesuguse ajavahemiku järel, loputatakse 0,85% NaCl-lahuses ja asetatakse kasvuprooviks vastavale tahkele söötmele või vedelasse söötmesse. Kasvu tekkimist jälgitakse 10 päeva 37° C t°-s. Enne kontrollkülvi tuleb võimaluse korral neutraliseerida desinfektsioonivahendit vastavate ainetega, mis ise ei pidurda mikroobide kasvu ega anna kasvu pidurdavaid ühendeid. Näiteks raskete metallide soolad sadestatakse $(NH_4)_2S$ või $H_2S$ abil, leelisi võib neutraliseerida nõrga äädikhappega, happeid lahjendatud leelistega, formaldehüüdi ja fenooli lahjendatud ammoniaagiga, joodi naatriumtiosulfaadilahusega jne.

Testmikroobidena võetakse harilikult *Eb. typhosa, Esch. coli* ja *Staphylococcus*. Ühtlaste tulemuste saavutamiseks toimetatakse alul 4—5 korda kultuuri ümberkülvi puljongisse iga 24 t. järel. Siis valmistatakse 24 t. vanusest kultuurist suspensioon ja filtritakse läbi filterpaberi mikroobikogude kõrvaldamiseks. Eoste suspensiooni saamiseks võetakse 2—3 näd. vanad *Bac. anthracis*'e kultuurid. Desinfitseeriva aine lahused valmistatakse destilleeritud vees ja neid proovitakse värskelt. Kontrollkülvi peab toimetama uuritava mikroobi kasvuks soodsale söötmele, jälgides kasvu tekkimist harilikult kuni 10 p., tarbe korral 1—2 kuu vältel, sest mõnel juhtumil ilmub kasv suure hilinemisega. Et praktiliselt desinfitseeritakse substantse, mis sisaldavad desinfektsioonivahendi toimet pidurdavaid valke ja teisi aineid, siis soovitatakse teha desinfektsioonikontrolli inimese kuivatatud rooja 3% vesisuspensioonis (Chick ja Martin). Seesuguses segus kaob umbes 10% fenooli ja 30—50% kresoolide desinfitseerivast toimest.

XXX peatükk.

## Bakterite variatsioon ja klassifikatsioon.

Käesoleva sajandi algaastail hakati ligemalt jälgima bakterite muutlikkust ehk variatsiooni, mida põhjustavad seesmised ja ümbruskonna tegurid. Kasvades ebasoodsal söötmel, võivad muutuda bakteriraku kuju, mõõtmed, struktuur ja osa füsioloogilisi funktsioone. Võrdlemisi sageli esinevad morfoloogilised variatsioonid on harilikult ebastabiilsed; nad ei ole päritavad ja kaovad, kui järgnev generatsioon kasvab soodsais tingimusis. Kasutades üheraku-kultuuri meetodit, võib mõne bakteri kultuurist eraldada üksikuid mikroobirakke, mis kultiveerimisel jäävad erinevaiks teistest rakkudest. Niisugused variandid tekivad algvormidest selektsiooni teel ja püsivad generatsioonide vältel loomuliku pärilikkuse tõttu. Säärasel teel võib mõni bakteriliik jäädavalt kaotada viburid ning liikuvuse (püsiv variatsioon), kuna kasvades agarsöötmel, mis sisaldab 0,1% fenooli, kaotavad paljud bakterid ainult ajutiselt oma viburid ning liikuvuse, mis ilmuvad uuesti harilikel söötmeil.

Eostega *Bac. anthracis*'e tüvi võib loomulikult muutuda asporogeenseks variandiks, mis ei avalda tendentsi tagasimuutumiseks sporogeenseks vormiks. Samasugust vähem püsivat transmutatsiooni võib saavutada kunstlikult, kui kasvatada *Bac. anthracis*'t pikema aja vältel 42,5° C t°-s (Pasteur) või söötmeil, mis sisaldavad vähesel määral antiseptilisi aineid (Roux). Kaltsiumkloriidi (Bordet ja Renaux) sisaldaval söötmel võivad pikapeale areneda stabiilselt asporogeensed ning avirulentsed tüved. Paljud kihnudega bakterid võivad ajutiselt või jäädavalt muutuda ilma kihnudeta variantideks.

Juba ammu märgati, et paljude bakterite biokeemilised omadused on varieeruvad. Näiteks mõni bakteriliik fermenteerib konstantselt teatud substantse, kuna teiste substantside fermenteerumine on muutlik. Seesugune ebakindlus takistab sageli bakterite identifitseerimist fermentatsioonproovi abil. Paljud bakterid võivad seesmiste ja välimiste tegurite mõjul jäädavalt kaotada teatava aine

fermenteerimise võime. Näiliselt oleneb mainitud muutlikkus sellest, et bakterirakus on mõnede fermentide valmimine konstantne, kuna teiste fermentide tekkimine on kergesti mõjustatav mitmesuguste tegurite poolt. Uurimised (Massini, Penfold, Müller jt.) näitasid, et mõned värskelt isoleeritud *coli-typhus-dysenteria* gruppi kuuluvad bakterid ei fermenteeri alul laktoosi, kuid kasvades mitme generatsiooni vältel laktoosi sisaldaval söötmel, adapteeruvad nad ümbrusega ja hakkavad hiljemini fermenteerima laktoosi (*Esch. coli mutabile* jt.). Samuti võib *Eb. typhosa* harjuda fermenteerima dultsiiti ja ramnoosi ja *Salmonella schottmuelleri* rafinoosi, mida nad varemini ei fermenteerinud. Bakterite poolt põhjustatud fermentatsiooni iseloomu ja fermentatsiooni puhul tekkinud lammutusproduktide (hape, gaas jt.) varieerumist on võimalik esile kutsuda mitmesuguste ainete lisandamisega kultiveerimiseks kasutatavale söötmele.

Pigmenti valmistavad bakterid võivad kaotada selle funktsiooni ümberkülvamistel ebasoodsale söötmele, muutudes hiljemini soodsais kasvutingimusis uuesti pigmenti produtseerivaks variandiks. Pigmendi valmistamise funktsioon kaob harilikult osal ühes kultuuris kasvavatest bakteritest varemini, kuna see teistel indiviididel kauem võib säilida. Koos pigmendi valmistamise funktsiooni kadumisega võib muutuda ka bakteri kultuuri ja pesade kuju.

Arkwright (1920, 1921) ja de Kruif (1921) kirjeldasid bakterite variatsiooni eritüüpi, kus mõned alul siledapesalised *coli-typhus-dysenteria* gruppi kuuluvad tüved hakkasid ümberkülvamistel kasvama tahkel söötmel karedate teraliste pesadena; nad andsid teralise kasvu puljongis ja peptoonivees, mis ei esinenud samadel algtüvedel. Seesugustest kultuuridest valmistatud suspensioon 0,85% NaCl-lahuses andis sageli spontaanse aglutinatsiooni. Normaalseid, läikivaid, siledaid ja homogeenseid algkultuuri pesi, millede suspensioon 0,85% NaCl-lahuses ei avaldanud spontaanse aglutineerumise tendentsi, hakati nimetama S- (smooth) variatsiooniks ehk faasiks ja ülalmainitud karedaid teralisi pesi — R- (rough) variatsiooniks ehk faasiks, kuna S → R transmutatsiooni ennast hakati nimetama bakterite dissotsiatsiooniks. Ligemad uurimised näitasid, et S → R tüüpi bakterite variatsioon ei

toimu hüppeliselt, vaid kord-korralt lühema või pikema aja vältel, kusjuures tekivad mitmesugused intermediaarsed (SR) faasid (Hadley). Sellekohaselt areneks dissotsiatsioon järgmiselt: S → Sr → SR → sR → R, kus kahaneb kord-korralt S faas ja kasvab R faasi kuuluvate bakterite hulk. Wilker, Hadley ja teised konstateerisid, et mõnedel bakteriliikidel on limakihn vaid ajutine moodustis, mille kadumisega ilmub bakteri harilik S-faas (*Streptococcus haemolyticus, Diploc. pneumoniae* jt.). Seesugust kihnuga variatsiooni hakati nimetama M- (mucoid) faasiks. Fabian ja McCullough konstateerisid pärmidel veel erilise goniidide ehk G- (gonidial) faasi. Bakterite filtreeruvaid vorme peetakse uuemal ajal samuti G-faasiks. Hadley väidab, et R-faas on bakteriraku arengu haripunkt, kust algab filtreeruva G-faasi kaudu raku arengu uus tsükkel, mille alusel oleks bakterite dissotsiatsiooni üldine käik M → S → R → G.

Bakterite S → R variatsioon toob sageli kaasa mitmesuguseid teisi muutusi: bakterid võivad muutuda kujult ja mõõtmeilt (R-faasis harilikult pikemad) ning kaotada liikuvuse; mõnel liigil (*Salmonella typhimurium*) on märgata, et S-faasis esineva pooldumise korral jäävad tütarrakud vabaks ja on asetatud kõrvuti, kuna R-faasis jäävad tütarrakud otstega kokku ja moodustavad ahelikke (Nutt). R-tüvede spontaanne aglutineerumine 0,85% NaCl-lahuses kaob pärast bakterite soojendamist alkoholis 50—60° C t°-s, kus kõrvaldub rakupinnal esinev lipoidne substants. S → R variatsiooni korral kahanevad hulgalt ning muutuvad iseloomult bakteriaalsed polüsahhariidid ja *Diploc. pneumoniae*'l kaovad polüsahhariididerikkad kihnud (White, Avery jt.), millega ühenduses võib osaliselt või täielikult kaduda virulentsus. Paljudel bakteriliikidel, kuid mitte kõigil, on S- ja M-faasid virulentsemad ja toksigeensemad kui R-faas.

Dissotsiatsiooniga (S → R) käsikäes võib muutuda bakteri tundlikkus vastavatele bakteriofaagidele.

S → R variatsioon võib toimuda harilikes laboratooriumi tingimusis intermediaarsete faaside (SR) kaudu. R-faasi saamiseks kasvatatakse normaalset S-tüve mitme generatsiooni vältel tavalisis vedelais söötmeis või söötmes, mis sisaldab tüvele vastavat

antiseerumit (Griffith); samaks otstarbeks võib lisandada kultuurile vastavaid bakteriofaage, mis lahustavad S-faasi bakterid. Külvates edasi seesugustest kultuuridest agarsöötmele, kasvavad kas ainult R-pesad, või R-pesad koos S-pesadega. Dissotsiatsiooni tagajärjel tekkinud R-vormid on harilikult stabiilsed, kuid nad võivad mõnikord osaliselt või täielikult tagasi saada S-vormi omadused. Kui S → R transmutatsioon on täielik, siis on raske või koguni võimatu kunstlikul söötmel R-vormi muuta tagasi S-vormiks. Seda on õnnestunud saavutada elusate R-*Diploc. pneumoniae* inokuleerimisega (Griffith) hiirtele naha alla koos suurema hulga kuumutamise abil surmatud S-vormidega. Samasugust transmutatsiooni on õnnestunud (Dawson ja Sia) saavutada ka *in vitro*, kasvatades *Diploc. pneumoniae* R-vorme söötmes, mis sisaldas suuremal hulgal kuumutamise abil surmatud S-vorme ja anti-R-seerumit.

Bakterite variatsioonid kultuuris ei toimu harilikult ühtlase kiirusega, seepärast moodustavad ka bakterite puhtad kultuurid sageli variantide segu, mis raskendab bakterite diferentsimist. Nähtavasti on see asjaolu viimase ajani pidurdanud täiuslikuma süstemaatilise bakterioloogia ja bakterite klassifikatsiooni (taksonoomia) väljakujunemist. Bakterite klassifitseerimist on peaaegu võimatu korraldada ainult morfoloogia alusel, sest bakteriraku täpse struktuuri uurimine on veel seotud paljude ületamatute raskustega. Klassifitseerimisel tuleb tingimata abiks võtta bakterite füsioloogilisi funktsioone, antigeen-antikeha reaktsioone ja patogeensuse määramist eksperimentaalselt loomadel. Seesuguse kombineeritud meetodiga on juba identifitseeritud paljud stabiilsema iseloomuga bakterite grupid.

Viimase ajani on bakterioloogias püsima jäänud vastastikust arusaamist raskendav, ühele ja samale bakterile mitme autori poolt antud nimetuste suur erinevus. Seesugune otse kaootiline olukord sundis tõsiselt asuma korra loomisele bakterite nomenklatuuri ja süstemaatika alal. Mitmete varemini-avaldatud klassifikatsioonide (Migula 1894, Lehmann ja Neumann 1896, Orla-Jensen 1909, Bergey jt.) koostamisel on autorid lähtunud erinevatest seisukohtadest, seepärast on ka nende klassifikatsioonid väga eri-

nevad ega ole leidnud üldist pooldamist. Ameerika Bakterioloogide Seltsi Komitee (Commitee of the Society of American Bacteriologists) koostas bakterite klassifikatsiooni ja nomenklatuuri süsteemi ning soovitas (1920) võtta seda rahvusvaheliselt tarvitusele. Bakterioloogide rahvusvaheliste kongresside poolt moodustatud komisjon jätkab tööd selle süsteemi täiendamise alal.

Välja arvatud väiksemad muudatused, on lk. 374 jj. esitatud mikroorganismide klassifikatsiooni tabelis bakterid *(Schizomycetes)* liigitatud üldjoontes vastavalt Ameerika komitee poolt soovitatud alustel, kuna teiste mikroorganismide klassifikatsioon on koostatud üldiselt enam-vähem pooldamist leidnud andmete alusel.

Klassifikatsiooni ühikuna võetakse bakterikultuuride gruppi, mis on lähedalt sarnased *(species* — liik), näiteks *Bacillus subtilis*. Seesuguste tüüpiliste kultuuride raamistikus on võimalikud mitmesugused alaliigid ja variatsioonid. Näiteks *Bacillus subtilis* on harilikult endospooridega, kuid mõnel tüvel võivad eosed puududa *(Bac. subtilis* var. *asporus)*. Klassifitseerija (taksonomisti) poolt küllalt lähedalt sugulastena leitud liigid koondatakse ühte perekonda *(genus)*, mille piiride määramisel puudub alles kindlam üldiselt tunnustatud alus (näit. *Bacterium, Bacillus)*. Perekonnanimi kirjutatakse alati suure algustähega. Lähemalt sugulastest perekondadest koosnev grupp moodustab sugukonna *(familia)*; viimasele nimetuse andmisel lisandatakse *genus*'e nimetuse tüvele lõpp *-aceae* (näit. *Bacillaceae, Coccaceae* jne.). Lähemalt sugulased sugukonnad moodustavad seltsi *(ordo)*, millele nimetuse andmisel lisandatakse sageli sugukonna nimetuse tüvele lõpp *-ales* (näit. *Spirochaetales, Eubacteriales* jne.). Teatava määrani sarnased seltsid moodustavad klassi *(classis)*, kuna sarnased klassid moodustavad hõimkonna *(phylum)*.

Tänini pole õnnestunud fikseerida enam-vähem kindlamaid aluseid vastava paiga leidmiseks filtreeruvatele mikroorganismidele (ultraviirustele ehk viirustele) teiste mikroorganismide peres, seepärast puudub seni peaaegu täielikult nende teaduslik klassifikatsioon.

III OSA.

# Üldine mikrobioloogiline tehnika.

## XXXI peatükk.

## Töötamise kord.

Mikrobioloogilise tehnika äraõppimine ei ole raske, kui seda alustatakse kõige lihtsamaga ja minnakse keerulisemate ülesannete juurde alles siis, kui lihtsamate ülesannete täitmiseks on juba olemas tarvilik oskus. Korduv harjutamine vilunud eriteadlase juhatusel on mikrobioloogilise tehnika omandamisel üheks tähtsamaks eelduseks.

Puhtus ja kord on põhitingimused bakterioloogiliste tööde juures. Tööruum — laboratoorium — peab olema eraldatud kõrvalruumidest ja sissesead otstarbekohane, kuid lihtne, mis võimaldaks kergesti selle puhastamist ja tarbe korral desinfitseerimist. Jooksvaks tööks vajalikud tarbed peavad laboratooriumis alati käepärast olema.

Laboratooriumis ei tohi olla kärbseid ja teisi insekte. Patogeensete mikroobide kultuurid ja infitseeritud ained peavad seisma luku taga. Kultuure võib välja anda ainult asjatundjaile laboratooriumi juhataja loaga.

Infitseeritud vett ja teisi aineid võib välja valada ainult pärast nende põhjalikku desinfitseerimist. Juhuslikult infitseeritud ruumi, töölaudu ja riistu peab kohe desinfitseerima. Laboratooriumi personaali, kellele antakse puhastada infitseeritud nõud ja tööriistad, peab iga kord nende ohtlikkusest informeerima.

Infitseeritud katseloomi peab eraldi hoidma tervetest. Nendega töötamiseks olgu eraldi ruum; nende korjused peab ära põletama, milleks kasutatakse eri- või keskkütteahju. Töötades infitseeritud materjaliga, peab piinlikult selle eest hoolitsema, et mikroobid ümbrusse ei leviks.

Töötajad peavad hariliku töö juures operatsioonimantlit ja väga ohtliku materjali käsitsemisel lisaks kummipõlle kandma. Kunagi ei tohi kultuuriga katsuklaase mantli rinnataskusse panna, kust nad kummardumise korral kergesti võivad maha kukkuda ja puruneda. Infitseeritud mantlid, põlled, käterätid ja muu pesu peab kohe andma desinfitseerimiseks. Tarbe korral peab saapatallad desinfitseeriva lahusega märjaks tehtud lapil puhtaks hõõruma. Käsi peab kohe pärast infitseeritud materjaliga töötamist desinfitseerima ja alles siis pesema. Nahavigastused kätel peab enne töö algust kolloodiumiga kinni kleepima või köidisega kinni siduma.

Infitseeritud vedelikke ei tohi suuga imeda pipettidesse; selleks kasutatakse erilisi imemisseadiseid või kummiballoonikesi pipeti otsas. Kui aga infitseeritud vedelik eksikombel suhu on pääsenud, siis peab see kohe välja sülitatama, võimaluse korral õuna näritama ja kohe välja sülitama. Suud loputatakse lahjendatud alkoholiga, 0,1—1% soolhappega või lahjendatud vesinikülihapendiga.

Söömine ja joomine laboratooriumis on ohtlik. Sõrmi ja etikette ei tohi keelega niisutada. Töötamisel peab suitsetamisest hoiduma, sest see on mustuse allikaks ja töötajale ohtlik.

Patogeensete mikroobide kultuure ja infitseeritud uurimismaterjali tuleb töötamisel hoolega kaitseda kärbeste eest ja neid tarviduse möödudes kohe steriliseerida. Väärtusetu infitseeritud materjal, nagu paber, puuvill jne., tuleb kohe põletada.

Saprofüütidega töötades peab samuti hoolitsema puhtuse ja steriilsuse eest, sest nendega laboratooriumi ruumi ja aparaatide infitseerimine, eriti aga eostega saprofüütidega (hallitusseened jt.), takistab või teeb koguni võimatuks steriilse töötamise. Laboratooriumi vabastamine säärasest infektsioonist nõuab sageli suurt kulu ja vaeva.

XXXII peatükk.

## Mikrobioloogilise töö vahendid ja materjalid.

Mikrobioloogilisteks töödeks vajatakse steriilseid vahendeid ja aineid, seepärast peab laboratoorium varustatud olema mitmesuguste steriliseerimisaparaatidega ja -seadistega. Steriliseerimismeetodi valikul peab rõhku panema sellele, et steriliseerimine ei rikuks riistu ega muudaks ainete omadusi.

Tulega piirituslambil või Bunsen'i gaasilambil võib steriliseerida ainult niisuguseid esemeid, mida tuli ei riku: plaatinanõelu, nikkel- ja plaatinakausikesi ja -labidakesi, klaaskepikesi, esemeja kateklaase, klaasnõude servi jne. Enne kokkupuutumist elusaid mikroobe sisaldava materjaliga peab nad täielikult jahutama.

Kuiva kuuma õhuga steriliseerimist toimetatakse erilises, kahekordsete seintega, väljastpoolt asbestiga kaetud plekkkapis, mis on varustatud soojendamist automaatselt reguleeriva seadisega. Steriilsuse saavutamiseks peavad nõud viibima 30 min. 160—180° C või 2 tundi 150—160° C t°-s. Kuumus üle 180° C põhjustab klaasi purunemist ning paberi ja puuvilla söestumist, mille järel vabaneb antiseptilise toimega tõrvaine. Et viimane võib takistada mikroobide kasvu, siis peab seda alkoholiga ja veega nõudelt ära pesema ja neid uuesti steriliseerima. Mainitud meetodit kasutatakse täielikult puhtaks pestud ja kuivatatud klaas- ja portselannõude, puuvilla, paberi ja metallriistade steriliseerimiseks. Enne steriliseerimist kaetakse nõude avaused hariliku mittehügroskoobilise puuvillaga; Petri kausid, lehtrid ja teised klaasnõud, metallriistad ja puuvill mähitakse harilikku pakkimispaberisse. Pipettide tarvis on soovitavad metallümbrikud, milledes neid steriliseeritakse ja alal hoitakse. Klaasnõude purunemise ja materjalide riknemise vältimiseks ei tohi need kokku puutuda kapi seintega. Soojust peab pikkamisi tõstma ja kapi ust ei tohi steriliseerimise ajal avada, sest vastasel korral puruneb klaas külma õhuga kokku puutudes. Steriliseerimise lõppemisel võib klaasnõud kapist välja võtta siis, kui nad on täielikult jahtunud.

Keetmist 100° C t°-s toimetatakse harilikult Koch'i või

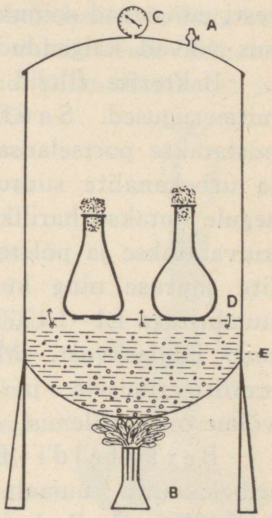
Arnold'i sterilisaatoreis. Silindrilise reservuaari (katla) põhjas keevast veest vabanev aur voolab ülemisse ruumi, kus viibivad steriliseeritavad nõud ja materjalid, ja pääseb välja aparaadi kaane väikese avause kaudu. Ühekordse keetmise toimel, mis harilikult 2—3 tundi kestab, surevad mikroobide vegetatiivsed vormid. Eoste surmamiseks kasutatakse *fraktsioneeritud* steriliseerimist. Selleks keedetakse vedelikke või söötmeid 30 min. kestel 3 üksteisele järgneval päeval. Vahepeal lastakse nõu steriliseeritava ainega seista toa või 22° C t°-s 24 tundi, andes eostele võimalust areneda vegetatiivseiks vormeks. Kui eosed idanevad kiiresti, siis tuleb seda aega lühendada, et vältida uute eoste tekkimist (*Magoon*). Mainitud steriliseerimist kasutatakse želatiin-, suhkur- ja piimsöötmete valmistamisel, mis ei kannata kõrgemat soojust. Aurust rõskeks läinud puuvill-korkide kuivatamiseks asetatakse nõud mõneks tunniks 37° C t°-s termostaati.

*Kuuma auruga* surve all steriliseerimist toimetatakse *autoklaavides*, mis on ehituselt väga mitmesugused. Lihtsama ehitusega autoklaav moodustab paksude metallseintega silindrilise katla, mida võib õhukindlalt sulgeda metallkaanega. Viimase külge on monteeritud manomeeter, termomeeter ja aurukraanid. Vertikaalselt seisva katla põhja valatakse destilleeritud vesi; selle pinnast veidi ülalpool asetsevale alusele pannakse steriliseeritavad nõud ja materjalid; kaas suletakse õhukindlalt ja auru tekitamiseks keedetakse vett gaasilambiga, priimusega või erilise elektrikütte abil (65. joon.).

Keerulisema ehitusega autoklaav moodustab horisontaalselt asetatud kahekordsete seintega ja ühest otsast suletava katla, kus vesi on mahutatud kahe seina vahele. Vee keemisel tekkiv aur tungib steriliseerimisruumi, kus viibivad steriliseeritavad objektid. Autoklaavi steriliseerimisruumi võib kuumutada ka erilisest boilerist sinna juhitud auruga. Steriliseerimise alguses avatakse auruväljavoolu kraan, mis jääb lahti nii kauaks, kui aur hakkab ühtlaselt täie hooga välja voolama; selle kontrolliks võib kraani otsa panna kummitoru, mille teine ots juhitakse nõus olevasse vette. Aurukraan suletakse siis, kui autoklaavist on välja aetud kõik õhk, mis takistab kuuma auru toimet ja manomeetri õiget näita-

mist. Soovitava surve ning soojuse saamist autoklaavi steriliseerimisruumis võimaldab kütte automaatne reguleerimine. Ülesurve tekkimist kontrollib vastav kaitseventiil.

Steriliseerimise aja möödumisel katkestatakse küte, autoklaav lastakse jahtuda, kuni manomeetri näitaja 0-le langeb, siis avatakse pikkamisi auruväljavoolu-kraan ja lõpuks avatakse autoklaav. Surve kiire langemise tagajärjel tekib autoklaavis viibivate vedelikkude tormiline keemine, mis puuvill-korgid märjaks teeb või neid nõude avaustest välja surub. Katsuklaasides viibivaid söötmeid steriliseeritakse harilikult 20 min. 115—120° C t°-s. Kui steriliseerimisele kuulub suuremates nõudes viibiv sööde, siis pikendatakse kuumutamise aega 30—60 minutini. Madalamat soojust ja steriliseerimise kestuse pikendamist (45—60 min. 105° C t°-s) või koguni korduvat steriliseerimist kasutatakse neil juhtumeil, kui ülekuumutamine ei ole soovitav. Agarsöödet peab enne autoklaavi mahutamist sulatama 100° C t°-s.



65. joon. Autoklaav (skeem). A — aurukraan; B — gaasilamp; C — manomeeter; D — aur; E — vesi.

Autoklaavi steriliseerimisruumi soojuse kontrollimiseks mahutatakse sinna kas maksimaaltermomeeter või klaastorukestesse joodetud indikaatorid, mis teatavas soojuses sulavad: bensonaftool 110° C, antipüriin 114° C, *acid. benzoicum* 121° C. Indikaatorile võib lisada väikese hulga värvainet (safraniini, briljantrohelist jt.), mis ainult sulanud indikaatorit värvib.

Fraktsioneeritud steriliseerimist 56—60° C t°-s kasutatakse sääraste ainete puhul, mis kõrgemas temperatuuris kalgenduvad ja kaotavad oma natiivse väärtuse, nagu vereseerum, transsudaadid, ekssudaadid (astsiidivedelik) ja valku sisaldavad söötmed. See meetod on sobiv peamiselt neil juhtumeil, kus aine oli vaba elusatest mikroobest ja ainult tema kasutamisel või-

sid sisse pääseda vähesed mikroobid. Steriliseerimist toimetatakse vesivannis, mille soojendamist reguleeritakse automaatselt. Steriliseerimist toimetatakse 1—2 tundi, korrates seda 5—6 päeva järgemööda.

Filtrimise abil steriliseeritakse sääraseid aineid, mis kiiresti muutuvad soojuse toimel, nagu mõnede suhkrute lahused, või mis võivad kalgenduda, nagu koeekstraktid, vereseerum jne.

Bakterite filtrid on oma ehituselt ja töötamisvõimelt väga mitmesugused. Saufiltrid (Chamberland'i küünlad jt.) valmistatakse portselansaue ja räniliiva segust, kus urvete (pooride) ja urbekanalite suurust reguleeritakse räniliiva hulgaga. Rõskele segule antakse harilikult ühest otsast kinnise õõnsa silindri kuju, kuivatatakse ja põletatakse vastavates ahjudes kõvaks. Urbekanalite suuruse ning kurna läbilaskvuse alusel märgitakse küünlad numbritega L1—L13, kusjuures väiksemad arvud tähistavad suuremat läbilaskvust. Mainitud filtrid on vastupidavad korduvale steriliseerimisele ja regenereerimisele, kuid nende töötamisvõime on võrdlemisi väike.

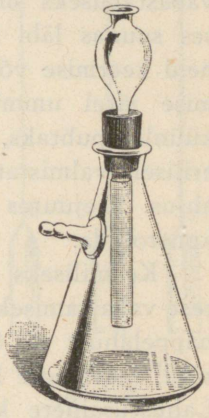
Berkefeld'i filtrid valmistatakse ränimullast ja nende urbekanalite ruumala ning vedelikkude läbilaskvus on suuremad kui eelmistel. Berkefeld'i filtrid on õrnad ega kannata korduvat steriliseerimist ja puhastamist.

Büchner'i lehterfiltrid moodustavad lehtri, mille sisse on monteeritud kõvakspõletatud massist urbne filterplaat. Nende filtrite vastupidavus ettevaatlikul käsitsemisel on rahuldav.

Kõvadest filtritest on tuttavamad veel Reichel'i, Pukall'i, Kitasato, Maassen'i ja Mandler'i filter.

Pehmetest filtritest on üldisemalt tuttavad Seitz'i omad. Mitmesuguse tihedusega urbsed filtrikettad koosnevad kokkupressitud asbestikiududest. Seitz'i filtrid on määratud peamiselt ühekordseks, lühemat aega kestvaks filtrimiseks. Neid tarvitatakse edukalt vereseerumi, toksiinide, vedelate söötmete ja suhkrulahuste steriliseerimiseks. Võrdlemisi suure läbilaskvuse tõttu ei ole nad kohased väiksemate mikroobide eraldamiseks. Neid kasutatakse sageli sääraste segude eelfiltrimiseks, mis pärast tulevad filtrimisele läbi tihedate filtrite.

Orgaanilised filtrid, mida suure eduga on kasutatud kolloidkeemiliste uurimiste puhul, leiavad rohket tarvitamist ka mikrobioloogias, eriliselt viiruste uurimisel ja seroloogias (kolloid- ja ultrafiltrid). Urbse pinna ehk sõela saamiseks immutatakse filterpaberit või mõnd teist suuremaurbelist tahket alusmassi želatiiniga, agariga või kolloodiumiga. Eriti otstarbekohased ja kergesti käsitsetavad on mitmesuguste meetoditega valmistatud, erineva tihedusega ja tarvilikule survele vastupidavad kolloodiumkotid ja -membraanid. Neid valmistavad ja lasevad müügile mitmed firmad, kuid nende valmistamine sellekohaste eeskirjade järgi laboratooriumis ei tekita suuremaid raskusi.



66. joon. Bakterite filter.

Steriliseeritud urbsed filtrid asetatakse steriilsetesse, klaasist või metallist filtrimisaparaatidesse ja filtritav vedelik lastakse väiksema või suurema surve all läbi voolata (66. joon.). Väiksema hulga vedeliku filtrimiseks ühendatakse filtrimisküünal auguga kummikorgi abil õhukindlalt imemiskolviga, millest imetakse veepumbaga või vaakuumpumbaga õhku välja kuni soovitava vaakuumi saavutamiseni. Vee filtrimiseks ühendatakse küünal veekraaniga ja avatud kraani kaudu lastakse vett surve all läbi küünla. Filtrimiseks imemise (aspireerimise) teel asetatakse filter vedelikku, lahtine ots ühendatakse kummi- ja klaastorude abil imemiskolviga, millest imetakse õhku välja; filtraat voolab küünlast vastava torustiku kaudu imemiskolbi. Suurendatud survega filtrimiseks kasutatatakse erilisi aparaate, kus filtritav vedelik tungib läbi filtri aparaati pumbatud õhu surve all, mida näitab aparaadi külge monteeritud manomeeter.

Müügil olevad kõvad küünlakujulised filtrid võivad olla pragunenud. Kontrolliks mahutatakse küünal vette, lahtine ots ühendatakse kummitoru abil õhupumbaga ja surutakse õhku küünlasse. Kui filtris on pragusid, siis tõusevad veest õhumullid üles. Filtrite permeaabluse kontrolliks lisandatakse filtritavale vede-

likule väiksemaid mikroobe (*Serratia marcescens* jt.), filtraadist tehakse külv ning kontrollitakse steriilsust.

Uusi mittetarvitatud filtreid puhastatakse destilleeritud vee läbifiltrimise abil. Siis asetatakse nad külma vette ja steriliseeritakse keetmise teel, või autoklaavis, vastavalt valmistaja poolt antud juhistele.

Kõvade filtrite korduvaks puhastamiseks ja regenereerimiseks hõõrutakse filtri pinda kergesti pehme harjaga ja urbekanalite vabastamiseks sinna püsima jäänud ainetest filtritakse vastupidises suunas läbi rohkesti puhast vett. Selle järel steriliseeritakse neid keetmise või autoklaavis kuumutamise teel. Korduva tarvitamise järel ummistunud urbekanalite regenereerimiseks pestakse küünlad puhtaks, kuivatatakse täielikult termostaadis ja põletatakse eriliselt valmistatud ahjus, Bunsen'i gaasilambi tules või harilikus ahjus. Seejuures võivad tekkida filtri pragunemised, mida tuleb kontrollida.

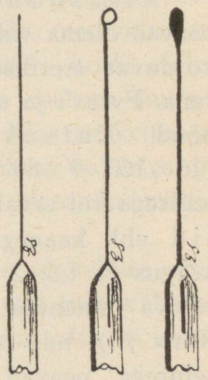
Keemiliseks regenereerimiseks filtritakse orgaanilistest ainetest vabastamiseks läbi filtri kuuma sooda-, ammoniaagi- või soolhappelahust või 80° C sooja väävelhapet naatriumnitraadi lisandusega; rasvainete kõrvaldamiseks filtritakse läbi tetrakloorsüsihapet. Lahustusainete kõrvaldamiseks lastakse läbi filtri rohkesti vett.

E s e m e k l a a s i d mikrobioloogilisteks töödeks lõigatakse siledast, valgest ja võimalikult 1,2 mm paksusega klaasist. 26 mm laiad ja 76 mm pikad esemeklaasid olgu siledaks ihutud servadega, et vältida töötamisel käenaha vigastust. Vedeliku rippuva tilga uurimiseks valmistatakse erilised õ õ n e g a esemeklaasid, millede keskele on ihutud 12—15 mm läbimõõduga ja küllalt sügav lohk. K a t e k l a a s i d e pinna suurus on harilikult 15×15 või 18×18 mm, paksus 0,16—0,18 mm.

Esemeklaasid ja kateklaasid peavad olema puhtad. Uusi, veel tarvitamata klaase võib puhta rätikuga pühkimise järel tarvitada. Rasvast täielikult puhastamiseks keedetakse neid 10—15 min. 1% soodalahuses, pestakse alul nõrgas soolhappes, siis destilleeritud vees ja hoitakse 95° alkoholis (ammoniaagi lisandusega). Enne tarvitamist hõõrutakse klaasid kuivaks filterpaberiga või pehme nahaga ja steriliseeritakse ettevaatlikult tulel. Kuivad klaasid vaba-

nevad rasvaineist, kui neid 30 min. 160—180° C t°-s kuumaõhukapis hoitakse, või mõne minuti jooksul tulel hoitaval plekitükil kuumutatakse.

Tarvitusel olnud klaase keedetakse 5% $Na_2CO_3$ lahuses, asetatakse 1—2 päevaks *acid. sulfuricum crud. concentratum*'isse või 24 tunniks järgmisse lahusesse: 600 $cm^3$ väävelhapet, 100 g *kal. bichromicum*'i ja 400 $cm^3$ vett (võib korduvalt tarvitada). Selle järel loputatakse neid harilikus vees ja keedetakse 15—20 min. 1% soodalahuses; siis pestakse destilleeritud vees ja asetatakse 95° alkoholi (ammoniaagi lisandusega). Prooviks klaasile asetatud veetilk läheb täiesti puhtal klaasil ühtlaselt laiali.



67. joon. Külvinõelad.

Külvinõelad valmistatakse 0,4—0,6 —0,8 mm jämedusega plaatina- või vähem painduvast plaatinairiidiumtraadist, kuna teras- ja platiniidtraat on küll odavam, kuid vähe püsiv. Nõelaks võetakse 6—8 cm pikkune tükk traati ja joodetakse 20—25 cm pikkuse klaaskepikese otsa või kinnitatakse metallist valmistatud nõelahoidjale. Traadi ots tehakse sirgeks või sellele antakse konksu, aasa, kolmnurga või labida kuju (67. joon.). Aas peab kinnine olema, s. t. traadi ots peab vastu külgeosa puutuma, vastasel korral ei püsi vedelikutilk aasa küljes. Aasade valmistamiseks painutatakse traadiots ümber ümmarguse naela, või selleks kasutatakse väikesi, ümmarguste otstega tange. Aasa läbimõõt on 1, 2, 3, 4 ja 5 mm. Normaalaas, mis on valmistatud keskmise jämedusega traadist ja läbimõõdult 2 mm, võib hoida umbes 2 mg bakterite kultuuri. Aasa mahtu võib tarbe korral määrata aine kaalumise teel, või titreerides mitu korda aasaga veele lisandatud happe hulka. Nõelu peab alati enne ja pärast infitseeritud aine võtmist steriliseerima tulel põletamise teel ja püsti hoidma vastava aluse aukudes.

Eseme- ja kateklaaside hoidmiseks kasutatakse anatoomilisi, laiu, kõverate otstega Kühne, või selleks valmistatud erilisi Cornet', Debrand'i jt. pintsette.

Bakterioloogilistel töödel võib kasutada nikeldamata kääre,

pintsette, lantsette ja teisi riistu, sest nikeldatud riistad ei kannata tulel steriliseerimist.

Preparaatide loputamiseks värvimise puhul tarvitatakse pritsimispudelit, millest vett preparaadile valatakse, kõrgemal alusel seisvat veepudelit, kust vett sifooni abil joosta lastakse, või vesivarustusega ühenduses olevat kraanivett. Pesuvesi kogutakse kergesti steriliseeritavasse emailitud nõusse.

Klaasnõud, mida kasutatakse mikrobioloogilistel töödel, peavad olema valmistatud kõrge väärtusega klaasist, mis kannatab korduvat steriliseerimist ega eralda leelist. Otstarbekohased on Jena, Pyrex'i ja muust sellesarnasest materjalist valmistatud klaasnõud. Katsuklaase kasutatakse mitmesuguses suuruses (16×160, 9×80 ja 0,3×2,5 mm); nad peavad olema paksemate seintega kui tavalised katsuklaasid keemilistel töödel. Petri kausid ehk kaanega kaetavad kausid (läbimõõt 9, 10, 20 jne. cm, kõrgus 1, 1,5, 2 jne. cm) peavad olema tasase põhjaga ja hästi sobiva kaanega. Kultuuripudelid (Petruschki, Kolle, Roux jt.), mis on lapergused, laia suuga ja võrdlemisi õhukeste seintega, peavad olema võimalikult tasaste pindadega. Kolbidest kasutatakse kõige suuremal määral mitmesuguse mahuga (25—2000 $cm^3$) koonusetaolisi Erlenmeyer'i ja õhemate seintega harilikke ümmargusi kolbe. Graadueeritud klaasnõudest tarvitatakse mõõtkolbe, mõõtsilindreid ja pipette; viimaste jaotised (1 $cm^3$ jagatud $^1/_{10}$ või $^1/_{100}$ osadeks) peavad olema hästi kontrollitud ja täpsed. Eripipettidest tarvitatakse pretsisioon- ja mikropipette, millede abil täpselt võib mõõta aine väiksemat hulka. Peale mainitute tarvitatakse mikrobioloogilistel töödel bürette, lihvitud klaaskorgiga pudeleid, klaaslehtreid, värviküvette, kristalliseerimiskausse jne.

Uusi klaasnõusid puhastatakse enne tarvitamisele võtmist hoolega kuuma seebiveega, kasutades katsuklaaside ja pudelite pesemiseks vastavaid harju. Seebivees keetmisega võib kõrvaldada ja surmata resistentseid eoseid, mis klaasile harilikult pakkimismaterjalist jäävad. Tarvitatud klaasnõusid, mis sisaldavad eostega mikroobide kultuuri, steriliseeritakse enne pesemist autoklaavis 30 min. 115° C $t^0$-s. Vähem resistentsete kultuuridega

nõudelt kõrvaldatakse puuvill-korgid ja nõusid keedetakse 1 tund seebivees keedukatlas. Pärast seebivees keetmist peab nõusid hästi loputama kraanivees, et kõrvaldada seepi. Klaasnõude neutraliseerimiseks loksutatakse neid mõni tund, või keedetakse 30 min. 1% soolhappes, loputades pärast hoolega kraanivees ja lõpuks destilleeritud vees.

Pestud ja kuivatatud klaasnõude väiksemad avaused kaetakse enne steriliseerimist mittehügroskoobilisest puuvillast korgiga. Selleks pööratakse puuvillatüki servad kahelt poolt volti, veeretatakse sõrmede vahel rulli ning asetatakse avausse, nii et $^2/_3$ korki oleks avauses ja $^1/_3$ väljaspool. Samaks otstarbeks võib vastava suurusega puuvillatükki avausse klaaspulgaga suruda. Klaaspeekrite ja teiste nõude laiad avaused kaetakse filter- või lihtsa paberiga ja kinnitatakse peenikese sidumisnööriga. Väiksemad klaasnõud mähitakse täielikult paberisse.

Klaasipuhumise teel on võimalik lihtsa seadeldise abil valmistada mitmesuguseid pipette (Pasteur'i jt.) ning teisi vähemkeerulisi esemeid. Selleks on otstarbekohane kergesti sulavast klaasist valmistatud paksu seinaga klaastoru.

Klaastorude painutamiseks nii, et õõs ühtlaseks jääks, kuumutatakse toru laialeegilises punases gaasitules, või õõs täidetakse peene liivaga, ja painutatakse tulel pikkamisi.

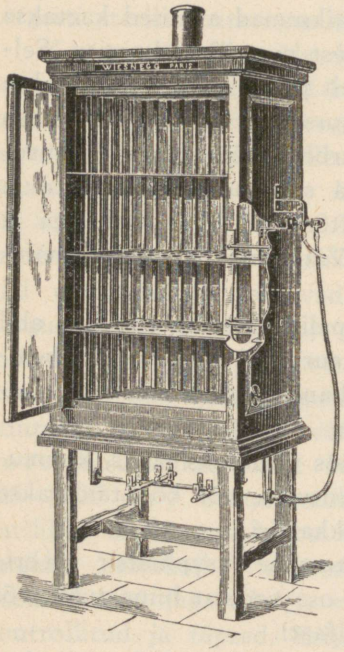
Klaasnõude märkimiseks kasutatakse rasvpliiatsit või erilist klaasitinti: 1—2 osa vesiklaasi + 1 osa vedelat hiina tušši, või 3—4 osa vesiklaasi + 1 osa baariumsulfaati.

Kummist asjade rikete ja kuivamise vältimiseks hoitakse neid rõskes kohas või õhukindla kaanega purgis, mille põhja on asetatud väike purgike mõne $cm^3$ petrooleumiga, väävelsüsinikuga, tärpentiiniga või ammoniaagiga. Kõvastunud kummi pehmeneb uuesti soojas vees või soojas 5—6% ammoniaagilahuses.

Elektriline tsentrifuug, mis võib teha 3000—4000 tiiru minutis, on tingimata tarvilik bakterite sadestamiseks. Tiirlemiskiiruse kontrollimiseks ühendatakse tsentrifuugi telg tiirulugejaga (güromeeter). Kiirust võib reguleerida vastava reostaadi abil. Tsentrifuugi peab alati korras hoidma ja tarvilikul määral õlitama; käivitama ja seisma jätma peab pikkamisi; vastamisi seisvad klaa-

sid ühes sisaldisega peavad olema täpselt tasakaalustatud kaalumise abil.

Peale ülalmainitud vahendite on mikrobioloogilises laboratooriumis tarvilikud lauakaalud, tehnilised kaalud, keemilised kaalud, õhupumbad puhumiseks ja imemiseks, reguleeritava temperatuuriga külmutuskapp, loksutamisaparaadid, vesivannid automaatselt reguleeritava soojendusega, keetmiskatlad, ekssikaatorid, klaasihoidjad, filterpaber ja mitmed teised laboratoorsed abiriistad. Korkidesse aukude puurimiseks tarvitatakse korgipuuri või häda korral kuuma traati. Kummikorki peab puurimiskohal ammoniaagiga niisutama.

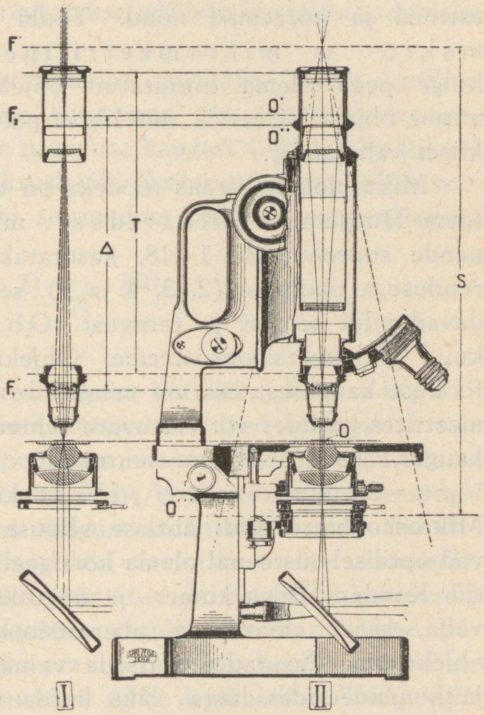


68. joon. Roux' termostaat.

Termostaat ehk haudekapp võimaldab ühtlast soojust, mis on tarvilik mikroobide kasvatamise ja paljude seroloogiliste tööde puhul. Harilikult on tarvilikud 22° C $t^0$ kultuuride kasvatamiseks kergesti sulaval želatiinsöötmel ja 37° C $t^0$ teiste tahkete söötmete tarvis. Kui välise õhu $t^0$ on kõrgem kui 22° C, siis tuleb termostaati jahutada jääga või külma vee vooluga. Harilik ajakohane termostaat kujutab kahekordsete metallseintega väiksemat või suuremat kappi. Seinte vahel on vesi või mõni teine aine soojuse ühtlustajana. Ümbritseva õhusoojuse muutuste vastu kaitsemiseks kaetakse termostaat väljastpoolt soojust mittejuhtivate ainetega, nagu asbest, linoleum, vilt jt. Termostaati soojendatakse kas elektrikütte, gaasi- või petrooleumitule abil (68. joon.). Soojendamist reguleeritakse automaatselt küttele vastava termoregulaatoriga. Termostaat peab olema õhustatav, mis on tarvilik ühtlase soojuse saamiseks kogu hauderuumis ja mittesoovitavate gaaside sealt kõrvaldamiseks. Hauderuum peab harilikult olema kaitstud valguse

eest. Suurtes laboratooriumides on sageli väiksem või suurem tuba sisse seatud termostaadiks. Selle eelsoojendamist toimetatakse kas hariliku ahjuga või keskkütteradiaatoriga ja soojust reguleeritakse automaatse elekterküttega.

Väiksemais laboratooriumes võib kasutada lihtsama ehitusega ja petrooleumilambiga soojendatavat termostaati (Hearson'i ja Sartorius'e tüübid). Lühemaks ajaks tarviliku soojuse saamiseks võib improviseerida lihtsat väikest ruumi mõne käepärast oleva soojuseallika (ahju, radiaatori jt.) läheduses. Anaeroobsete mikroobide kasvatamiseks on tarvitusel paksude seintega ja õhukindlalt suletavad termostaadid, milledest õhku võib välja pumbata. Hapniku täielikumaks absorbeerimiseks mahutatakse termostaadi põhja *acid. pyrogallicum*'i ja KOH lahust.



69. joon. Mikroskoop. Valguskiirte käik mikroskoobis (I ja II).

Mikroskoop mikrobioloogilisteks töödeks, mis seisab ehituselt ajakohaste optiliste saavutiste kõrgusel, võimaldab maksimumini tõsta töökiirust ja töötulemuste väärtust. Mikroskoobi muretsemisel oleks soovitav asjatundja abi kasutada, kes tarvilikkude peensuste üle kiire proovimise abil suudab otsustada. Mikroskoopidega ligemaks tutvumiseks on soovitav jälgida vastavat erikirjandust. Siin olgu vaid lühidalt juhitud tähelepanu mõnele iseärasusele, mida peab omama mikrobioloogilisteks uurimisteks tarvitatav mikroskoop (69. joon.).

Esemelaud peab olema nii suur, et selle peale mahuks harilik Petri kauss kultuuri uurimiseks. Liikuv objekti- ehk esemelaud kergendab märksa uurimistööd. Elusate mikroobide uurimiseks on ehitatud eriliselt soojendatav esemelaud. Tuubi ja esemelaua vahe peab olema küllalt lai, et sinna mahuksid ka paksemad esemed ja kõrgemad nõud. Tuubi liigutamiseks on tarvilikud makro- ja mikromeetriline kruvi. Tuubi alumise otsa külge peab olema kinnitatud objektiivivihoidja ehk revolver mitme objektiivi tarvis, mis lihtsa pööramise teel võimaldab nende kiiret vahetamist.

Mikrobioloogilisteks töödeks on tarvilik korralik optiline süsteem. Huygens'i okulaaridest, mis on nummerdatud vastavalt nende suurendusele 1—18, kasutatakse harilikult keskmise suurendusega okulaare (2, 3, 4 ja 5), sest tugevad okulaarid kahandavad pildi selgust ja teravust. Objektiividest kasutatakse kuivi ja immersioonsüsteeme. Objektiivi suurendus oleneb tema fookuse kaugusest, mis on märgitud objektiivi ümbrikule kas millimeetrites, tollides või vastavate tähtedega. Mida lühem on fookuse kaugus, seda rohkem suurendab objektiiv ($^1/_6$ tolli = 4 mm, $^1/_{10}$ t. = 2,8 kuni 3 mm, $^1/_{12}$ t. = 1,8 kuni 2 mm, $^1/_{16}$ t. = 1,6 mm). Mikroskoobilise pildi ühtlase selguse ja teravuse saamiseks peavad optilisel süsteemil olema korrigeeritud läätsede optilised defektid. Kombineerides kumer- ja nõguslääts ning vähendades vaatevälja, saadi sfäärilisest aberratsioonist vabad aplanaatsed objektiivid. Kasutades läätsede valmistamiseks paremat materjali ja kombineerides läätsi, läks korda valmistada ka kromaatilisest aberratsioonist enam või vähem vabu akromaatilisi ja väärtuslikke apokromaatilisi süsteeme. Väärtuselt ja hinnalt seisab akromaatide ja apokromaatide vahel fluoriitsüsteem. Mikrofotograafias ja täpsemate tööde puhul on tarvilikud apokromaatilised optilised süsteemid.

Kuivade süsteemide tarvitamisel, kus vajatakse vaid mõõdukat suurendust, jääb objektiivi ja uuritava preparaadi vahele õhukiht. Õliimmersioonobjektiivi kasutamisel täidetakse objektiivi ja preparaadi vahe tihendatud seedriõliga *(ol. ligni cedri)*, mille valguskiirte murdmise koefitsient (1,51) vastab ligikaudu klaasi omale

(1,52). Seesugune homogeenne süsteem võimaldab objektiivi apertuuri ja mikroskoobi töövõime suurendamist. Kõik objektiivid on korrigeeritud statiivi tuubi teatavale pikkusele (160—170 mm) ja kateklaasi paksusele (0,15—0,18 mm). Kateklaasi paksuse mõju võib korrigeerida tuubi pikemaks tõmmates või lühemaks surudes, kuid parem tulemus saavutatakse eriliste korrektsioonobjektiividega.

Objektiivi suurenduse arvutamisel jagatakse tuubi optiline pikkus ($D$) objektiivi fookuse kaugusega ($f$). Okulaari suurenduse saamiseks jagatakse selge nägemise kaugust (250 mm) okulaari fookuse kaugusega ($f_1$). Mikroskoobi kogusuurenduse ($V$) saamiseks korrutatakse objektiivi suurendust okulaari suurendusega:

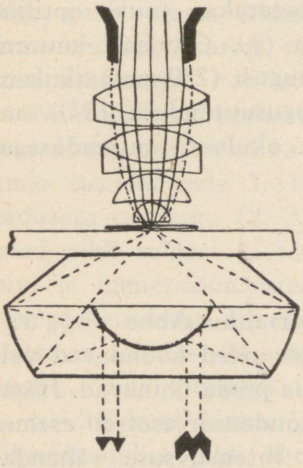
$$V = \frac{D}{f} \times \frac{250}{f_1}$$

Mikroskoop peab varustatud olema korraliku Abbe valgustusaparaadiga, mis koosneb läätsedest; need koondavad valguskiiri nii, et nad 2 mm ülalpool esemelaua pinda ühinevad. Hammasratta abil alla ja üles tõstetav Abbe kondensor asetseb esemelaua all sellekohases hoidjas; valgustuse intensiivsuse vähendamiseks lastakse kondensor allapoole (värvimata eseme uurimisel), kuna tugeva valguse saamiseks (värvitud preparaatide uurimisel) tõstetakse kondensor üles. Valgustuse reguleerimiseks on Abbe aparaat varustatud iirisdiafragmaga. Mikroskoobi jala külge kinnitatud peegel juhib valguskiiri Abbe aparaadile. Tasapeeglit kasutatakse peaaegu alati Abbe aparaadiga töötades, kuna nõguspeeglit kasutatakse ilma Abbe valgustusaparaadita (viimane lastakse alla ja diafragmat reguleeritakse), näit. pesade ja rippuva tilga vaatlusel.

Valguseallikana on väga otstarbekohased erilise ehitusega elektri-mikroskopeerimislambid, mis annavad hulgalt ja väärtuselt ühtlast valgust. Liiga heleda valguse puhul asetatakse diafragmahoidjale sinine või värvita mattklaas. Loomulikust valgusest on kõige parem hajunud päikesevalgus.

Otstarbekohasteks osutuvad mikrobioloogilistel töödel, eriti

väiksemate suurenduste korral, binokulaarmikroskoobid, millede tarvitamine üha kasvab. Möödapääsematuks on muutunud *stereoskoobiline* binokulaarmikroskoop, mida kasutatakse edukalt kultuuride ja mikroobipesade kuju ja ehituse uurimiseks. Selle mikroskoobi abil saadud pilt on märksa elavam ja reljeefsem kui harilikus mikroskoobis. Kultuuride pinna ehituse uurimiseks stereoskoobilise mikroskoobi abil on otstarbekas seadeldis kõrvalt langeva valgustuse saamiseks.



70. joon. Pimevälja kondensor. Kiirte käik peegelkondensoris.

*Pimevälja* meetodi abil on võimalik uurida ultramikroskoobilisi mikroobe ja aineosakesi. Selleks kasutatakse erilise ehitusega *kondensoreid*, mis asetatakse Abbe valgustusaparaadi asemele. Kondensorist läbi ei pääse objektiivi tsentraalsed valguskiired, sest neid pidurdab kondensori alumisele pinnale asetatud must ketas või kondensori sisse ehitatud kumer peegel. Kondensori apertuur peab alati suurem olema mikroskoobi objektiivi apertuurist. Rohkem pooldamist leiavad bitsentrilised *peegelkondensorid*, mis asetatakse Abbe aparaadi asemele, kuna esemelauale asetatavad ja paraboloidkondensorid on vähempraktilised (70. joon.).

Kondensorisse pääsenud äärekiired peegelduvad seal vastavalt kondensori ehitusele, tungivad sellest välja, läbivad esemeklaasi ja ühtivad ühes punktis, mis peab täpselt asetsema esemeklaasi pinnal, kus asetseb ka uuritav kateklaasiga kaetud aine. Kiired, mis ei puutu kokku uuritavas aines viibivate mikroobidega või aineosakestega, põrkavad vastu kateklaasi ülemist seesmist pinda, peegelduvad ja tulevad välja kondensori vastaspoolsest servast. Need kiired, mis puutuvad kokku preparaadis viibivate mikroobidega või aineosakestega, millede murdumiskoefitsient erineb klaasi ja vee omast, murduvad ja tungivad objektiivi ning edasi vaatleja

silma. Refraktsiooni tõttu saavad helendavatena nähtavaiks pimedal tagaseinal vedelikus viibivad mikroobid ja aineosakesed. Nähtavus oleneb murdunud ja silma pääsevate valguskiirte hulgast, kuid mitte objektiivi apertuurist, seepärast ei ole ka võimalik saada täpset pilti nähtava aineosakese üldkujust. Kondensori telg ja mikroskoobi optiline telg peavad moodustama ühe sirgjoone. Esemeklaaside ja kateklaaside paksus peab äärmise täpsusega vastama kondensorile.

Uurimisel asetatakse kondensori ülemise ja esemeklaasi alumise pinna vahele tilk seedriõli või glütseriini. Viimast on pärast kergem ära pesta kui õli. Immersioonobjektiivi tarvitamise puhul asetatakse tilk seedriõli objektiivi ja kateklaasi vahele. Vaatamisel kasutatakse tasapeeglit ja lahtist diafragmat. Apertuuri vähendamiseks ehitatakse sageli diafragmaga objektiivid. Küllaldast suurendust annavad tugevamad kuivad objektiivid (7 ja 8). Uurimisel on tarvilik intensiivne valgustus, mida saadakse elektriliste kaar- või teiste eriliselt ehitatud lampidega; mida tugevam on valgustus, seda heledamalt paistavad mikroobid ja aineosakesed.

Mikrobioloogilistel töödel on vajalikud veel mitmesugused täiendavad mikroskoobi osad: okulaar- või objektiivmikromeeter mikroobide ja aineosakeste mõõtmiseks, lugemisvõrguga okulaar, liikuva näitajaga okulaar preparaadi demonstreerimiseks, joonistusaparaat jne. Harilikuks bakterioloogiliseks tööks jätkub süsteemidest, mis suurendavad 1000—1200 korda; eriuurimisteks kasutatakse süsteeme, mis suurendavad 1200—1800 korda.

Mikroskoop on õrn aparaat, mida peab ettevaatlikult käsitsema, hoides teda valguse, tolmu, rõskuse, külma, kuumuse, keemiliste ainete toime ja põrumise eest kaitstult. Immersioonobjektiivi läätselt imetakse (mitte hõõruda!) kohe pärast tarvitamist õli ettevaatlikult ära filterpaberiga. Immersioonläätsi võib vahetevahel õlist puhastada ksülooliga, kloroformiga, bensiiniga või vabriku poolt määratud vedelikuga niisutatud pehme linase lapiga; hoidutagu asjatu pesemise eest, mis võib rikkuda objektiivi. Hingeauruga märjaks saanud metallosad peab alati korralikult kuivatatama kuiva pehme lapiga. Liikuvaid osi ja kruvisid peab vahetevahel puhastama ja määrima vaseliinõliga.

XXXIII peatükk.

## Mikroorganismide mikroskoobiline uurimine.

Mikroorganismide otsest uurimist mingis aines võib toimetada mikroskoobi abil värvimata või värvitud preparaatides (mikroskoobiline meetod). Lastes kasvada uuritavas materjalis viibivaid mikroobe kunstlikus söötmes, avaneb üha rohkem võimalusi mitmesuguste uurimismeetodite rakendamiseks mikroobide morfoloogia ja talituste selgitamiseks saadud kultuurides.

### Värvimata mikroobide uurimine.

Kuju ja liikumise uurimiseks võetakse Pasteur'i pipetiga esemeklaasile tilk mikroobide suspensiooni vedelas söötmes, või 0,85% NaCl-lahuses ja kaetakse kateklaasiga, nii et õhku klaaside vahele ei jääks. Et vältida vedeliku äraaurumist, imetakse filterpaberiga üleliigne vedelik kateklaasi servalt ära ja kateklaasi servad joodetakse kuuma traadi abil parafiiniga kinni. Seesuguste preparaatide uurimiseks võetakse harilikult kuivad süsteemid, objektiiv 6, 7 või 8, okulaar II, III või IV, valgustatakse tasapeegliga, iirisdiafragma koondatakse pooleni või rohkem.

Rippuv tilk võimaldab elusate mikroobide uurimist eelmisest pikema aja kestel. Selleks võetakse õõnega esemeklaas (Koch'i kambrike) ja steriliseeritakse gaasi- või piirituslambi tulel. Puhtale steriilsele kateklaasile võetakse tilk mikroobide suspensiooni ja asetatakse mustale alusele, veel parem — mustaks põletatud korgi otsale. Esemeklaasi õõne ümbrus määritakse vaseliiniga ja puudutatakse siis kateklaasi, nii et tilk oleks õõne keskel. Esemeklaas ühes külgejäänud kateklaasiga pööratakse ümber ja kateklaasi seatakse pintseti abil, nii et vaseliinirõngas oleks õhukindel ja tilk ei puutuks kokku õõne põhjaga.

Mikroobide sigimise uurimiseks võetakse tilk puljongit, vedelat agarsöödet või mingit teist söödet, külvatakse nõelaga väike hulk mikroobe juurde ja valmistatakse rippuv tilk. Kambrike hoitakse termostaadis, soojendataval esemelaual või mikro-

skoop-termostaadis ja jälgitakse 3—4 p. kestel mikroobide kasvu. Rippuva tilga uurimiseks kasutatakse veel mitmesuguseid teisi kambreid (Boettcher, Ranvier jt.).

Rippuva tilga leidmiseks mikroskoobis võetakse alul nõrgemad kuivad süsteemid ja kasutatakse nõrka valgustust. Tuub lastakse alla, nii et objektiiv oleks kateklaasi pinna ligidal, ja tõstetakse siis pikkamisi mikromeetrilise kruvi abil ülespoole, katsudes leida alul tilga servjoont, millest ühel pool paistavad ümmarikud udutilgad, teisel pool ühtlane väikeseteraline mikroobide suspensioon.

Pimeväljal mikroobide uurimiseks mahutatakse hästi vedel materjal (koemahl, uriin, mikroobide suspensioon, puljongkultuur jne.) võimalikult õhukese kihina eseme- ja kateklaasi vahele, vältides õhumullide tekkimist. Tarbe korral lahjendatakse uuritavat materjali 0,85% NaCl-lahusega, veel parem — vereseerumiga, astsiidivedelikuga või mõne transsudaadiga, mis vähem vigastavad mikroobe. Vedeliku aurumise vältimiseks pikemat aega kestva uurimise puhul kaetakse kateklaasi servad vaseliiniga või joodetakse kinni parafiiniga. Preparaat asetatakse täielikult horisontaalsele esemelauale, tasapeegel valgustatakse ühtlaselt ja valgus juhitakse hästi tsentreeritud kondensori ja mikroskoobi optilisse süsteemi. Jälgides pilti mikroskoobi okulaari kaudu, lastakse kuiva süsteemi kasutamise puhul tuub aeglaselt allapoole. Alul difuusselt valgustatud vaateväli muutub tuubi langemisel täielikult pimedaks. Langetades tuubi aeglaselt mikromeetrilise kruvi abil, hakkavad paistma pimedal tagaseinal valged helendavad mikroobid ja aineosakesed. Pildi selgust parandatakse mikromeetrilise kruvi ja valgustuspeegli liigutamise abil.

Burri tušimeetodi kasutamisel paistavad mikroobid tumehallil või mustal tagaseinal heledatena. Preparaadi valmistamiseks võetakse vedel, mikroobidevaba (alati alul proovida) tušš, lahjendatakse 1:2 või 1:4 destilleeritud veega, valatakse katsuklaasi või ampullidesse ja steriliseeritakse 15 min. kestel autoklaavis. Täiesti puhta esemeklaasi ühele otsale võetakse tilk lahjendatud tušši ja selle kõrvale uuritavat ainet; mõlemad tilgad segatakse aasaga, klaas tõmmatakse soojendamiseks läbi gaasi-

lambi tule ja tilk tõmmatakse kohe laiali lihvitud klaasi või kartongitüki servaga; lastakse õhus kuivada; klaasile asetatakse tilk seedriõli ja preparaati uuritakse immersioonobjektiivi abil. Tušikiht peab olema ühtlane ja paraja paksusega. See meetod on väga sobiv spirohheetide uurimiseks, mida on kerge ära tunda üldise kuju alusel.

## Mikroobide värvimine.

Mikroobide morfoloogia ja struktuuri täpsemat uurimist võimaldab nende värvimine. C. Weigert värvis esimesena baktereid koelõikudes hematoksüliiniga ja hiljemini aniliinvärvidega. R. Koch võttis tarvitusele mikroobide klaasile fikseerimise kuumutamise abil ja leidis, et bakterite värvimiseks on kõige kohasemad baasilised aniliinvärvid, mis on tuttavad aniliini ($C_6H_5NH_2$) derivaatidena. P. Ehrlich uuris põhjalikumalt aniliinvärve ja konstateeris, et baasilistel aniliinvärvidel on suur afiinsus taimeliste rakkude tuumale ja bakteritele, mis sisaldavad suuremal määral tuumainet.

Baasilistest värvidest leiavad rohkem tarvitust: 1) sinised: metüleensinine (B *extra*, BB, või *medicinale*), viktooria sinine, toluidiinsinine, tioniinsinine ja asuur, 2) punased: baasiline fuksiin (diamant, suurtes kristallides), safraniin, rubiin ja neutraalpunane, 3) violetsed: gentsiaanaviolett (B), kristallviolett, metüülviolett (6B) ja daaliaviolett, 4) rohelised: malahhiitroheline ja metüülroheline, 5) pruunid: vesuviin (000 *extra*) ja Bismarcki pruun, 6) mustad: induliin ja Colin-must.

Hapudest värvidest on rohkem tarvitusel: eosiin, aurantsia, hapu fuksiin, fluorestseiin, oranž G, tropeoliin, kongo punane jt. Hapud aniliinvärvid on protoplasmavärvid, mis värvivad valikuta preparaadi kõiki elemente.

Neutraalsetest värvidest kasutatakse metüleenvioletti, asuureosinaate jt.

Müügile lastakse aniliinvärvid harilikult kuiva pulbrina või kristallidena. Väärtuselt on nad väga erinevad, seepärast on soovitav neid muretseda juba hästi tuntud ja proovitud äridelt

(E. Merck — Darmstadt, Dr. G. Grübler & Co — Leipzig, Schering-Kahlbaum A. G. — Berliin, The British Drug Houses Ltd. — London, Produits R. A. L. — Pariis jt.).

Mikroobide värvumine ei olene ainult mehaanilisest protsessist, kus värvaine tungib raku sisse ja lahustub selle protoplasmas. Värvumise puhul toimuvad väga mitmesugused füüsikalised adsorptsioonprotsessid ja värvaine keemiline liitumine rakusubstantsidega. Nähtavasti vabaneb mikroobis värvainest värvibaas, mis liitub raku hapu komponendiga. Säärasel teel tekkiv ühend on püsitu ja värv dissotsieerub kergesti nende vedelikkude toimel, mis värvi hästi lahustavad (alkohol).

Günther pani tähele, et aniliinvärvide lahused absoluutses alkoholis ei värvi mikroobe, vaatamata sellele, et need värvid hästi lahustuvad absoluutses alkoholis. Peagi selgus, et mida täielikumalt lahustub aniliinvärv ühes või teises lahustajas, seda nõrgemalt värvuvad mikroobid selles lahuses. Lisandades värvilahusele ainet, mis kahandab värvi lahustumist, kasvab värvilahuse värviv toime. Seesuguseid aineid, mis suurendavad värvi afiinsust mikroobidele ja kiirendavad nende värvumist, nimetatakse peitsideks. Peitside lisandusega saadud värvilahused ei ole ise püsivad. Juba mõne päeva jooksul tekib nendes sade, mis värvi kõlbmatuks muudab. Peitsideks tarvitatakse fenooli, äädikhapet, tanniini, Lugoli lahust, broomisooli, sublimaati, KOH, ammoniaaki, booraksit, aniliinõli, fenüülamiini, toluidiini, alauni jne.

Mikroobide värvimist kiirendab soojendamine. Selleks mahutatakse preparaat värvilahusesse, mida soojendatakse 60° ja 100° C t° vahel. Ühed mikroobid lasevad endid kergesti värvida ja annavad kergesti ka värvi ära. Teiste värvimine on raskustega seotud ja nad ei anna värvi kergesti ära (*M. tuberculosis, M. leprae,* eosed). Mirone leidis, et paljud mikroobid annavad värvi ära hiina tuši toimel.

Valmis värvilahused on harilikult vähepüsivad; seepärast on soovitav hoida värvide tagavarasid kuiva pulbrina, millest valmistatakse tarbe korral vastavad lahused.

Lihtsad lahused. Alglahustena tarvitatakse küllastatud värvilahuseid 96° alkoholis. Nende valmistamiseks võetakse 1—1,5 g

kuiva värvainet ja 10 $cm^3$ 96° alkoholi, segatakse klaaskorgiga pudelis, lastakse seista 6—24 tundi toasoojuses ja filtritakse enne tarvitamist läbi filterpaberi. Sääraseid lahuseid võib pika aja jooksul alal hoida pimedas kohas. Tioniin lahustub paremini 70—80° alkoholis.

Vesi- ja alkohollahuse valmistamiseks segatakse 1—5 $cm^3$ filtritud alkohollahust 100 $cm^3$ destilleeritud veega, lastakse seista 2—3 tundi ja filtritakse läbi filterpaberi. Need lahused ei ole püsivad ja neid peab iga kord enne tarvitamist filtrima.

Küllastatud vesilahuste valmistamiseks segatakse 0,25 g värvainet 25 $cm^3$ destilleeritud veega, loksutatakse, lastakse mõni tund seista ja filtritakse läbi filterpaberi. Need lahused on vähepüsivad ja nad värvivad aeglaselt.

Peitsidega lahused. 1) Loeffler'i metüleensinise-lahus: 30 $cm^3$ küllastatud alkoholilist metüleensinise lahust + 100 $cm^3$ *sol. kal. caustici* 1:10 000, segada klaaskorgiga pudelis. See lahus on püsiv, teda võib tarvitada ka filtreerimata.

2) Ziehl'i karboolfuksiin: 1 g fuksiini + 10 $cm^3$ 96° alkoholi + 5 g *acid. carbol. cryst.* + 100 $cm^3$ *aq. destill.* Alul hõõrutakse fuksiin väikeses uhmris alkoholiga segi, lisatakse juurde *acid. carbolici* ja segatakse; lisandatakse väikeste hulkadena $^2/_3$ destilleeritud veest, segades vahetpidamatult; segu valatakse pudelisse ja uhmer loputatakse ülejäänud veega. Lastakse seista 24 tundi, filtritakse läbi filterpaberi teise pudelisse.

Sageli tarvitatakse mikroobide värvimiseks lahjendatud karboolfuksiini. Selleks võetakse 1 $cm^3$ Ziehl'i lahust ja segatakse 5—10 $cm^3$ destilleeritud veega; filtritakse enne tarvitamist. Mõlemad karboolfuksiini lahused on püsivad.

3) Karboolgentsiaanaviolett (Nicolle): 1 g gentsiaanavioletti + 10 $cm^3$ 96° alkoholi + 2 g *acid. carbolici cryst.* + 100 $cm^3$ *aq. destill.* Valmistada nagu Ziehl'i fuksiin. Lahus on püsiv; enne tarvitamist filtrida.

Gentsiaanavioleti asemel võib tarvitada metüülvioletti või viktooria sinist.

4) Karbooltioniin (Nicolle): 1 g tioniini + 10 $cm^3$ 80° alkoholi + 1 g *acid. carbolici cryst.* + 100 $cm^3$ *aq. destill.* Valmis-

tada nagu Ziehl'i fuksiin. Lahus on püsiv; ta värvib aeglaselt, kuid preparaadid on ilusad ja selged.

5) Karboolmetüleensinine (Kühne): 1,5—2 g metüleensinist + + 10 $cm^3$ 96° alkoholi + 2 g *acid. carbolici cryst.* + 100 $cm^3$ *aq. destill.* Valmistada nagu Ziehl'i fuksiin.

6) Aniliinvee-värvilahused (Ehrlich). Alul valmistatakse aniliinvesi. Selleks võetakse 5 $cm^3$ aniliiniõli ja loksutatakse hoolega segi kollasest klaasist pudelis 100 $cm^3$ destilleeritud veega ja lastakse seista. Tarbe korral filtritakse sellest soovitav hulk läbi veega niisutatud filterpaberi, valvates, et õlitilgad läbi ei läheks; juhtub aga see, siis peab korduvalt filtrima. 10 $cm^3$ filtraadile (aniliinveele) lisandatakse tilkade viisi filtritud, küllastatud alkoholilist gentsiaanavioleti lahust niipalju, et lahuse peale tekiks läikiv kile. Samuti võib valmistada värvilahust metüülvioletist, kristallvioletist, fuksiinist jne.

Need värvilahused on vähe püsivad (2—3 päeva). Parem on neid enne tarvitamist 6—12 tundi seista lasta, siis annavad nad vähem sadet. Enne tarvitamist peab neid filtrima.

Alkaalilistel metüleensinise, tioniini, toluidiini ja pararosaniliini derivaatide (gentsiaanaviolett ja metüülviolett) lahustel on omadused värvida mikroobide ning koerakkude osasid mitmevärviliselt (*metachromasia*).

Teistest värvilahustest tarvitatakse: vesuviini vesilahust 1 : 100—1 : 500. Värv lahustatakse keevas vees ja filtritakse enne tarvitamist. Eosiini vesilahus 1 : 500—1 : 1000 või 1 : 100 alkoholi (60°) lahus. Neutraalpunase vesilahus 1 : 1000 kurnatakse enne tarvitamist.

## Mikroobide värvimise meetodid.

Lihtne värvimine. Fikseeritud äigepreparaatide värvimiseks võetakse vedelaist uuritavaist aineist (puljongkultuur, mikroobide suspensioon, veri, mäda jne.) üks aasatäis ja määritakse laiali puhta eseme- või kateklaasi pinnale. Määritud kiht peab olema õhuke ja võimalikult ühtlane. Kui on karta, et määrimise

puhul võivad mikroorganismid puruneda, siis tõmmatakse võetud tilk laiali teise klaasi servaga.

Tahkeil söötmeil kasvavaist kultuuridest valmistatakse äigepreparaat järgmiselt: klaasile võetakse tilk vett; aasaga või nõelaotsaga võetakse kultuurist mikroobe ja segatakse veega suspensiooniks ning määritakse õhukese kihina laiali.

Uuritavate organite (maks, põrn jne.) küljest lõigatakse noaga või rebitakse steriilse pintsetiga väike tükike ja määritakse sellega klaasipinda või klaas litsutakse organitüki pinna vastu.

On uuritav aine tahke või koguni kõva, siis peab seda enne leotama destilleeritud vees, 0,85% NaCl-lahuses või *kal. causticum*'i lahuses.

Limasest, raskesti määritavast ainest (röga, mõned mikroobikultuurid jne.) võetakse väike osa esemeklaasile ja surutakse teise klaasiga laiali; siis tõmmatakse nad liugumisi üksteise küljest lahku. Sisaldab uuritav aine palju rasva (või, rasv), siis peab seda enne värvimist eetriga ekstraheerima.

Kasvab tahke söötme pinnal hulk pesi, siis võib pintsetiga võtta puhta kateklaasi, selle panna kultuuri pinnale, kergelt peale suruda, nii et ta ei libiseks. Tõstame klaasi ettevaatlikult üles, siis jääb klaasi külge igast pesast osa mikroobe.

Kui soovitakse ühe meetodiga värvida mitut ainet, siis on otstarbekohane neid ühele esemeklaasile kõrvuridadena määrida.

Klaasile määritud aine peab enne värvimist õhus täielikult kuivatatama. Kuivamise kiirendamiseks mahutatakse klaasid termostaati või vaskplekist alusele, mida soojendatakse 45—50° C t°-s.

Et mikroobid ei vabaneks klaasi küljest värvimise ja loputamise puhul, selleks peab neid klaasi külge fikseerima. Selleks tõmmatakse klaas (äigepinnaga ülespoole) 2—3 korda läbi gaasi- või piirituslambi tule, nii et see umbes 2 sek. tuleleegis viibiks ja käeselja naha vastu puudutades kuum tunduks, kuid nahka ei põletaks.

Kuumusega fikseerimisel on palju puudusi: värvimise ja loputamise korral vabaneb klaasilt hulk mikroobe, nad deformeeruvad ja nende värvi-vastuvõtmise omadused muutuvad.

Paremaid tagajärgi annavad järgmised fikseerimismeetodid.

1) Klaasile kuivanud äige peale valatakse mõni tilk 96° alkoholi, lastakse seista 2—5 min., valatakse alkohol pealt ära, ülejäänud osa süüdatakse tulel ja kustutatakse kohe ära.

2) Absol. alkohol + eeter ää, tilgutatakse peale ja lastakse ära auruda.

3) Kallatakse peale metüülalkoholi ja lastakse seista 2—3 min.; kallatakse pealt ära, kuivatatakse õhus või filterpaberiga.

Fikseerimine on kindlam, kui klaasid asetatakse 15—20 minutiks absoluutsesse alkoholi või metüülalkoholi ja kuivatatakse siis õhus.

4) Osmiumhappe-auruga fikseerimiseks võetakse klaaskorgiga purk, selle põhja asetatakse tassike 5 $cm^3$ 1% osmiumhappe-lahusega, traatvõrgu peale asetatakse klaasid rõske uuritava ainega (ainega külg allapoole) $^1/_2$—3 minutiks.

Värvimisel hoitakse preparaati pintsetiga või asetatakse alusele, tilgutatakse peale 2—3 tilka värvilahust, lastakse seista 1—5 minutit külmalt või 20—40 sek. kergelt soojendades tulel. Peab värvimine kauem kestma, siis asetatakse klaasid värvilahuse vannikesse.

Värvitud preparaati loputatakse veega, valades vett ühele servale, mitte aga preparaadi keskkohta, et vältida mikroobide ärauhtumist.

Loputatud preparaati kuivatatakse õhus, lastes teda längus seista. Kuivatamise kiirendamiseks pannakse preparaat mitmekordse filterpaberi vahele ja triigitakse kergelt sõrmedega.

Värvitud preparaadi väärtuse eeluurimiseks võetakse värvitud kohale tilk destilleeritud vett, kaetakse kateklaasiga ja vaadatakse alul kuivade süsteemidega; pärast võetakse kateklaasi pinnale tilk seedriõli ja vaadatakse immersioonobjektiiviga. Nõrgalt värvitud preparaati peab uuesti värvima; üleliia värvimist saab sel teel vähendada, kui mahutada preparaat lahjendatud alkoholi, nõrkadesse hapetesse, nelgiõlisse või glütseriini lühemaks või pikemaks ajaks.

Peale eeluurimist kõrvaldatakse kateklaas, preparaat kuivatatakse täielikult, värvitud kohale võetakse tilk seedriõli ja uuritakse immersioonobjektiiviga. Kui soovitakse preparaati alal hoida, siis pestakse õli pealt ära ksülooliga niisutatud filterpaberiga; värvitud kohale asetatakse tilk neutraalse reaktsiooniga kanada palsamit ja kaetakse puhta kateklaasiga. Giemsa soovitab värvitud preparaatide konservimiseks võtta värvitud kohale tilk parafiiniõli, katta kateklaasiga, suruda see vastu esemeklaasi, filterpaberiga üleliigne õli ära imeda ja servad kinni joota vahaga või 10% želatiiniga.

Gram'i värvimismeetod. Kui värvida baktereid baasiliste aniliinvärvidega pararosaniliini grupist (gentsiaanaviolett, metüülviolett ja viktooria sinine) aniliinvee- või karboolhappelahustes, ja kui toimida pärast nendesse jood-joodkaaliumi lahusega, siis ei dekoloreeru ühed mikroobid absoluutse alkoholi toimel, kuna teised mikroobid kiiresti dekoloreeruvad. Jood annab pararosaniliinidega uue ühendi — joodpararosaniliini, mis fikseerub energiliselt ühtede mikroobidega ja ei fikseeru teistega.

Ülaltähendatud nähtust silmas pidades jaotatakse mikroobid kahte pealiiki: 1) need, mis värvuvad Gram'i järgi (gram-positiivsed); 2) need, mis ei värvu Gram'i järgi (gram-negatiivsed). Kauakestva alkoholi toimel annavad ka gram-positiivsed mikroobid oma värvi ära. Gram'i meetodiga värvides võib tähele panna, et ühes ja samas preparaadis mõned mikroobid või mikroobi üksikud osad värvi püsivalt kinni hoiavad, kuna teised seda kergesti ära annavad.

Gram'i värvimise kohta arvatakse ühelt poolt, et joodpararosaniliini seovad nukleoproteiidid (Hottinger); teiselt poolt väidetakse, et seda teevad lipoproteiidid, mis asetsevad ektoplasmas (Gutstein) või endoplasmas (Schumacher) ja mida võib kõrvaldada soolhappe ja alkoholi abil.

Dekoloreerumine oleneb preparaadis viibivate mikroobide hulgast, mikroobikultuuri vanusest, värvilahuse omadustest, värvilahuse ja dekoloreeriva aine temperatuurist ja Lugoli lahuse koostisest, temperatuurist ning toime vältusest. Võrreldavate andmete saamiseks on tarvilik kasutada alati üht ja sama värvimistehnikat.

Värvimine Gram'i meetodi järgi:

1) Uuritav aine määritakse eseme- või kateklaasile, kuivatatakse ja fikseeritakse nagu lihtsa värvimise puhul.

2) Värvitakse karboolgentsiaanavioletiga või aniliinvee gentsiaanavioletiga 1—2 min.

3) Värvilahus valatakse ära (mitte veega loputada!) ja kallatakse peale värsket Lugoli lahust: *jodi puri* 1 g + *kal. jodati* 2 g + *aq. destill.* 300 $cm^3$, lastakse toimida 30 sek. — 1 min.

Lugoli lahuse valmistamiseks võetakse 5 $cm^3$ *aq. destill.*, lahustatakse selles 2 g *kal. jodati*, lisandatakse 1 g *jodi puri*, lahustatakse ja lisandatakse vähehaaval ülejäänud 295 $cm^3$ destilleeritud vett. Hoida pruunist klaasist pudelis jahedas kohas.

4) Lugoli lahus valatakse ära. Preparaat hoitakse veidi längus ja tilgutatakse peale absoluutset alkoholi, 96° alkoholi või järgmist Nicolle'i lahust: 5 osa absoluutset alkoholi + 1 osa atsetooni; lasta toimida niikaua, kui preparaat enam värvi ära ei anna (20 sek. — 1 min.). See moment on kõige delikaatsem ja nõuab vilumust.

5) Loputada kiiresti hariliku veega.

Gram-negatiivsete mikroobide nähtavaks tegemiseks toimetatakse järelvärvimist.

6) Järelvärvimiseks võetakse kas lahjendatud Ziehl'i fuksiini (1:8—1:10), millega värvimine kestab 10—30 sek., vesuviinilahust (10—20 sek.) või pikrokarmiini (2—10 min.) (kontrastvärvid).

7) Loputada veega. Kuivatada. Uurida.

Gram-positiivsed mikroobid on tumevioletsed, gram-negatiivsed mikroobid omandavad järelvärvimiseks tarvitatud lahuse värvuse.

Gram'i meetodi järgi on värvitavad suurem osa kokkidest, peaaegu kõik eostega aeroobsed batsillid, suurem osa anaeroobidest ja ilma eosteta bakteritest mõned liigid (*C. diphtheriae, M. tuberculosis, M. leprae, Actinomyces, Saccharomyces*).

## Happeresistentsete mikroobide värvimine.

Ehrlich pani tähele, et mõned mikroobid (nõndanimetatud happeresistentsed) värvuvad raskesti baasiliste aniliinvärvidega; on nad aga juba värvitud, siis hoiavad nad värvi kinni ega anna seda kergesti ära mineraalhapete toimel. Sääraste mikroobide värvimiseks tarvitatakse energiliselt värvivaid lahuseid, lastes neid toimida pikema aja jooksul ja suurendades värvilahuse toimet soojendamise abil. Mainitud mikroobide omadus oleneb nähtavasti vaha- või rasvainest, mis mikroobe ümbritseb või nende rakuprotoplasmas viibib. Mõned nendest on happe- ja alkoholiresistentsed (*M. tuberculosis, M. leprae*, sõnniku- ja timutheina-batsillid), teised on ainult happeresistentsed (smegmabatsillid).

### I. Ziehl-Neelsen'i meetod.

1) Uuritav aine määritakse klaasile, kuivatatakse ja fikseeritakse.

2) Värvitakse filtritud Ziehl'i karboolfuksiiniga, soojendades alul tulel auru ilmumiseni (5—10 min.).

3) Värvilahus valatakse ära ja preparaadile valatakse 5% $H_2SO_4$ või 25% $HNO_3$, lastakse seista 5 sek. Loputatakse veega ja kui preparaat on veel punane, siis lastakse hapet uuesti toimida 2—3 sek.

4) Loputada 70% alkoholiga, kuni preparaat enam värvi ei eralda (2—3 min.).

5) Loputada veega.

6) Järel värvida Loeffler'i metüleensinise lahusega, lahjendatult veega 1:3 (10—20 sek.).

7) Loputada veega; kuivatada; uurida.

Happeresistentsed mikroobid on punased, teised sinised.

Dekoloreerimiseks võib kasutada ka 96° alkoholi, millele on lisandatud 3% soolhapet. Preparaat kaetakse lühikeseks ajaks korduvalt selle lahusega, loputades vahepeal veega, kuni kaob punane värvus.

II. Jötten-Haarmann'i meetod.

1) Värvida Ziehl'i karboolfuksiini lahusega, nagu eelmises.
2) Dekoloreerida 15% $HNO_3$ umbes 20 sek.
3) Kiiresti loputada veega ja veel kord dekoloreerida 15% $HNO_3$ 10 sek.
4) Veega loputada.
5) Peale kallata 30 sekundiks järgmist lahust:
*Sol. acid. picronitr. aquos. concentr.* 1 osa + absol. alkoh. 1 osa.
6) Loputada veega; kuivatada; uurida.

Happeresistentsed mikroobid on punased, tagapõhi kollane.

Eoste värvimine. Eoseid on raske värvida, sest neid ümbritseb tihe ja resistentne kest, mis värvi läbi ei lase. Eoseid võib värvilahustele vastuvõtlikuks muuta, kui hoida neid autoklaavis 120° C t°-s 1 tunni jooksul, toimida kuiva kuumusega, tõmmates preparaati läbi lambitule, või peitsida preparaati enne värvimist mitmesuguste keemiliste lahustega. Värvitud eosed hoiavad värvi kõvemini kinni kui mikroobiraku teised osad.

Möller'i meetod.

1) Uuritav aine määrida klaasile. Kuivatada. Fikseerida tulel või absoluutse alkoholiga. Asetada kloroformisse 2 minutiks. Kuivatada.

2) Peale valada mõni tilk 5% *sol. acid. chromici* (30 sek.—10 min.). Aega peab iga mikroobiliigi tarvis proovima. Soojendamine tulel kuni keemiseni on sageli tarvilik.

3) Veega pesta.

4) Värvida Ziehl'i karboolfuksiiniga, soojendades korduvalt keemiseni (1—5 minutit).

5) Diferentsida 2,5—5% $H_2SO_4$ 5—10 sek. (parem 2,5% $H_2SO_4$).

6) Veega hästi loputada.

7) Järel värvida metüleensinise vesilahusega 3 min.

8) Veega loputada.

9) Kuivatada; uurida.

Eosed on punased, mikroobirakud sinised.

Kihnude värvimine õnnestub kõige paremini elusas organismis või organismivedelikke sisaldavas söötmes kasvanud mikroobide puhul. Kihnude uurimiseks peab värvitud preparaati vees vaatama, siis paistavad kihnud selgemalt kui seedriõlis.

I. Johne meetod.

1) Fikseeritud preparaati värvida 2% gentsiaanavioleti või metüülvioleti vesilahusega, soojendades auruni, 1—2 min.

2) Veega loputada.

3) Dekoloreerida 1—2% äädikhappega 5—10 sek.

4) Veega loputada, katta kateklaasiga ja uurida vees.

Kihnud on helevioletsed, mikroobid tumevioletsed.

II. Tušimeetod.

1) Puhta esemeklaasi ühe otsa peale võetakse tilk tušši, segatakse juurde aasatäis uuritavate mikroobide suspensiooni ja tilk tõmmatakse laiali teise klaasi servaga.

2) Õhus kuivanud preparaati fikseeritakse küllastatud $HgCl_2$ (sublimaadi) lahuses 1 min.

3) Veega loputada.

4) Värvida 2% gentsiaanavioleti vesilahusega, kergelt soojendades, 2 min.

5) Veega loputada; õhus kuivatada; uurida seedriõlis. Mikroobid on violetsed, kihnud värvita tumedal põhjal.

Babes-Ernst'i kehakesi ehk metakromaatilisi poolusterakesi, mis esinevad *C. diphtheriae* ja mõnede teiste bakterite rakkudes, võib värvida ja nähtavaks teha mitmesuguste värvimismeetoditega, milledest siin esitame vaid Neisser-Gins'i meetodi:

1) Tulel fikseeritud äigepreparaati värvida 5—10 sek. kestel värvilahuste seguga, mis sisaldab kaks osa lahust: 1 g metüleensinist (medic. Höchst) + 20 $cm^3$ 96° alkoholi + 50 $cm^3$ *acid. acetic. glaciale* + 950 $cm^3$ destilleeritud vett, ja üks osa lahust: 1 g kristallvioletti + 10 $cm^3$ 96° alkoholi + 300 $cm^3$ destilleeritud vett.

2) Loputada destilleeritud veega.

3) Valada peale 3—5 sekundiks Lugol'i lahust, millele on lisandatud 1% *acid. lacticum*'i.

4) Loputada destilleeritud veega.

5) Järelvärvida 10—15 sek. järgmise värvilahusega: vesuviini või krüsoidiini 2 g + destilleeritud vett 300 $cm^3$ (kuumalt lahustada).

6) Loputada destilleeritud veega, kuivatada, uurida. Babes-Ernst'i kehakesed on tumesinised või mustjad, bakterid kollakad või helepruunid. Kõige iseloomulikumad on terad mikroobide noores (12—18 t.) kultuuris.

Spirohheetide värvimisel kiire meetodiga peab sageli tarvitama mitmesuguseid peitsisid ja suurendama värvilahuste toimivust, sest paljud spirohheetidest ei võta kergesti värvi vastu, kuna teised värvuvad kergesti harilikkude värvilahustega. Häid tulemusi võib saada Becker'i meetodiga:

1) Õhukese kihina esemeklaasile määritud aine lastakse kuivada õhus, valatakse peale 96° alkoholi, lastakse seista 2—3 minutit, alkohol valatakse ära ja klaasile jäänud osa süüdatakse tulel põlema ning kustutatakse kohe.

2) Peale valada 1 min. kestel 3—4 korda uuesti järgmist lahust: 1 $cm^3$ *acid. acetici* + 20 $cm^3$ formaliini + 100 $cm^3$ destilleeritud vett.

3) Loputada hoolega veega 20—30 sek., siis peitsida 20 sek. kestel, soojendades auruni, lahusega — 1 $cm^3$ *acid. carbolici* + 10 g *acid. tannici* + 100 $cm^3$ destilleeritud vett.

4) Loputada veega 30 sek., värvida Ziehl'i karboolfuksiiniga, soojendades auruni 30—50 sek. Loputada veega; kuivatada; uurida. Spirohheedid ja teised mikroobid on punased.

Polükroomide ja eosinaatide tarvitusele võtmine võimaldas mikroorganismide peenema struktuuri uurimist. Lisandades metüleensinise lahusele leelist (ammoniaak, NaOH, KOH, $Na_2CO_3$, $K_2CO_3$, booraks), vabaneb juba toasoojuses, kiiremini aga soojendamise või keetmise tagajärjel, metüleensinisest osa sinist baasi (tetrametüültioniin), mis metüleenasuuriks ja metüleenvioletiks transformeerub. Muutumatut metüleensinise ja nende kahe

uue aine segu nimetatakse sageli polükroomsiniseks, mis lisandatud kloroformi punaseks värvib. Polükroomsinised värvivad raku üksikuid osi mitmesuguselt (metakromaatiliselt). Michaelis leidis, et eosiini või mõne teise happevärvi lisandamise tagajärjel metüleensinise lahusele tekivad spontaanselt asuur ja metüleenviolett, kuna osa metüleenist jääb muutumatuks. Säärasel teel saadud segu tuntakse Romanowsky värvilahusena.

Segades värsket metüleensinise lahust eosiinilahusega, tekivad metüleensinise liht-eosinaadid, mis on alusteks May-Grünwald'i, Jenner'i jt. värvilahustes. Leelistega transformeeritud metüleensinise lahusele lisandatud eosiinilahus põhjustab asuuri ja violeti liiteosinaatide tekkimist, mis ei lahustu vees. Giemsa valmistas puhta asuur II ja asuur II-eosiini, milledest valmistatakse mitmesugused lahused metüülalkoholis ja glütseriinis ja lastakse äride poolt müügile Giemsa lahusena. Valmistada võib seda järgmiselt: 250 $cm^3$ keemiliselt puhast metüülalkoholi soojendada 60° C t°-s, lisandada 3 g asuur II-eosiini ja 0,8 g asuur II, segades lisandada pikkamisi 250 $cm^3$ keemiliselt puhast glütseriini, lasta seista 24 t. ja kurnata.

Eosinaatide lahustega värvimisel peab tarvitama täielikult puhtaid ja ilma kriimustusteta esemeklaase, samuti ka puhtaid katsuklaase värvi lahjendamiseks ja neutraalset või nõrgalt leelisese reaktsiooniga bidestilleeritud vett, et vältida värvi sademe tekkimist.

Giemsa värvimismeetodid. A. 1) Õhus kuivanud äigepreparaat fikseerida kateklaasile absoluutse etüülalkoholiga 15—30 min., või parem neutraliseeritud metüülalkoholiga 2—3 min. Fikseerimisvedelik ära imeda filterpaberiga. Protozoade värvimisel fikseerida rõsket preparaati osmiumhappe auruga 1—2 min. Bakterite preparaati võib ka kergesti tulel fikseerida.

2) Täiesti puhtasse mõõtklaasi võetakse teatav hulk 30—40° C sooja destilleeritud vett ja lisatakse juurde iga $cm^3$ kohta 1 tilk 1% kaaliumkarbonaadi vesilahust; siis lisatakse juurde iga $cm^3$ kohta 1 tilk Giemsa lahust. Vedelik loksutatakse segi ja valatakse kiiresti täielikult puhtasse uuriklaasi; värvilahusesse või selle pinnale asetatakse kateklaasid äigepinnaga allapoole. Värvi-

lahust võib valada ka esemeklaasile, millel on valmistatud preparaat. Lasta värvuda 30 min. — 3 tundi või veel kauem.

3) Värvilahus valatakse ära ja preparaati loputatakse 2—3 min. jooksva kraaniveega, või parem destilleeritud veega, ja kuivatatakse filterpaberiga. Kui äigekiht on liiga paks, siis võib preparaati enne veega loputamist kasta 50% metüülalkoholi, mis muudab pildi selgemaks.

B. Kiire meetod soojendamise abil erineb eelmisest selle poolest, et preparaadile valatakse kaks korda järjest värvilahust ja soojendatakse mõne sekundi kestel väikesel tulel, kuni ilmub aur. Kolmandat korda lastakse värvi toimida 1—2 min. kestel. Teistes osades vastab toiming eelmisele.

C. Spirohheetide värvimisel võib muuta esimest (A) meetodit järgmiselt: osmiumhappe-auruga fikseeritud preparaati värvitakse 12—24 tundi; pärast veega loputamist dekoloreeritakse 25—30% tanniinilahusega 1—2 min. ja loputatakse veega. Spirohheedid on punakasroosad (Hoffmann'i meetod).

Giemsa meetodiga värvitud protozoade kromatiin on sinakaspunane või asuurne, tsütoplasma on sinine.

Viburite värvimine kuulub raskemate ülesannete hulka ja meetodeid selleks on soovitatud palju, kuid igaühel nendest on omad puudused. Toome siinkohal ainult need, mis on tehniliselt lihtsamad ja annavad väiksema vilumusega rahuldavaid tulemusi.

Üldised nõuded on kõikide uuemate meetodite (Gray, David, Conn ja Wolfe jt.) kasutamisel järgmised.

Esemeklaasid preparaadi valmistamiseks peavad olema täielikult puhastatud bikromaadilahuses ja hoitud 96° alkoholis (ammoniaagilisandusega). Parem on kasutada puhastatud uusi klaase. Enne preparaadi valmistamist tõmmata esemeklaasi mõlemad pinnad korduvalt läbi tule ja jahutada pikkamisi, et klaas ei puruneks. Suspensiooni valmistamiseks võetakse 18—22 t. kasvanud kultuur 1—2% agarsöötmel. Kuumutatud ja täiesti jahtunud steriilse nõela otsaga võetakse kultuurist väike hulk mikroobe ja segatakse suspensiooniks puhtale uuriklaasile võetud 5—10 $cm^3$ steriilses destilleeritud vees toatemperatuuri soojuses. Suspensioon lastakse seista

5—10 min., või 30 min., kui on tegemist limabakteritega (Hofer ja Wilson). Jahtunud nõelaga võetakse pinnaosast üks aasatäis suspensiooni esemeklaasile ja tõmmatakse laiali õhukese kihina lihvitud klaasi servaga. Kuivatada täielikult õhus või termostaadis.

1) Värvimiseks valatakse preparaadile 8—10 minutiks Gray peitsi:

5 $cm^3$ kaaliumalauni küllastatud vesilahust,
2 $cm^3$ sublimaadi küllastatud vesilahust,
2 $cm^3$ 20% tanniini vesilahust ja
0,4 $cm^3$ baasilise fuksiini küllastatud alkohollahust.

Filtrida kohe tarvitamise eel läbi filterpaberi. Gray arvates tuleb peitsi alati värskelt segada.

2) Loputada 10 sek. jooksva kraaniveega ja järelloputada destilleeritud veega.

3) Kuivatada õhus ja siis värvida 5 min. kestel ilma soojendamata Ziehl'i karboolfuksiiniga.

4) Loputada voolava veega, kuivatada, uurida.

Viburite hõbetamist, mis annab sageli paremaid tulemusi kui värvimine, toimetatakse järgmiselt.

1) Kuivanud preparaadile valatakse peale 8—10 min. külmalt eelmise meetodi puhul mainitud koostisega, kuid ilma baasilise fuksiinilahuse lisanduseta peitsi. Gray arvates püsib peits kauemat aega, kuna David alati värsket soovitab valmistada. Katsetest paistab, et 24—48 t. seisnud peits osutub kõige soodsamaks, kui võtta tekkinud sademe pealt selget lahust.

2) Loputada alul voolava kraaniveega ja siis destilleeritud veega. Preparaat täielikult kuivatada õhus.

3) Peale valada Fontana hõbedalahust, lasta seista 1 min., ära valada ja uus lahus peale valada, soojendada väikesel tulel auruni 2 korda, siis seista lasta 3—5 min.

Fontana lahus: 5% *argentum nitricum'i* lahusele destilleeritud vees lisandada tilkade viisi ammoniaaki, segades klaaskepikesega; ammoniaaki peab lisandama nii kaua, kuni alul tekkiv pruunikas sade ära kaob ja lahus õige vähe sogaseks jääb ning opalestseeruvana paistab. Kui lahus muutub täielikult selgeks, siis

peab lisandama tarviliku hulga 1% hõbedalahust soovitava hägu tekkimiseni.

4) Loputada 10—15 min. destilleeritud veega; kuivatada; uurida. Viburid ja mikroobid on kollakas- või mustjaspruunid.

Fontana-Tribondeau hõbetamismeetod. 1) Uuritav materjal määrida õhukese kihina esemeklaasile; kuivatada õhus; fikseerida 3—5 min. 96° alkoholiga.

2) Korduvalt (3—4 korda) peale valada ja ära kallata Ruge lahust — 1 $cm^3$ *acid. acetici glacial.* + 2 $cm^3$ formaliini + 100 $cm^3$ destilleeritud vett.

3) Loputada 96° alkoholiga, hoides preparaati längus. Klaasi külge jäänud alkohol põlema süüdata ja kohe kustutada puhumise teel.

4) Preparaadile kallata peitsilahust — 1 g tanniini + 20 $cm^3$ destilleeritud vett. Lahustada kuumas vees, lisandada väike tükk kamprit konservimiseks. Soojendada väikesel tulel auru ilmumiseni, kuid mitte keemiseni; tulelt ära võtta ja hoida 30 sek.

5) Loputada alul hariliku veega 30 sek., siis destilleeritud veega.

6) Peale kallata ülalpool-mainitud Fontana hõbedalahust, lasta seista külmalt (30—60 sek.), ära kallata ja uus lahus peale valada; soojendada väikesel tulel auruni; tulelt ära võtta ja seista lasta, kuni preparaat omandab metallilise läikega mustjaspruuni värvuse (3—5 min.).

7) Loputada 10—15 sek. destilleeritud veega; kuivatada; uurida.

See meetod on lihtne, kiire ja annab häid tulemusi spirohheetide uurimisel.

Vitaalse värvimise abil on võimalik uurida mikroobiraku ehitust, vältides värvimismanipulatsiooni tagajärjel tekkivaid muutusi. Selleks valmistatakse agarsöötmel kasvanud kultuurist saadud mikroobidega suspensioon 2,5% kobarsuhkru vesilahuses, lisandatakse tarvilik hulk allpool-mainitud värvaineid, suspensioonist valmistatakse rippuv tilk või seda asetatakse kahe klaasi vahele ja värvumiskäiku jälgitakse hariliku mikroskoobi või soo-

jendus-esemelauaga mikroskoobi abil. Samaks otstarbeks võib võtta esemeklaasile tilga mikroobide suspensiooni, katta see kateklaasiga ja lasta viimase ühe serva alla tilk värvilahust, imedes suspensiooni filterpaberi ribaga vastasoleva serva alt, mis võimaldab värvilahuse tungimist klaaside vahele suuremal või väiksemal määral. Vitaalseks värvimiseks kasutatakse mürgituid värvilahuseid, nagu neutraalpunast, vesuviini, metüleensinist, metüülrohelist ja teisi 1 : 10 000 või nõrgemate vesilahustena. Värvimine kestab mõnest minutist 24 tunnini, olenedes värvainest ja mikroobiliigist. Optimaalne värvumine tuleb igal juhtumil kindlaks teha preparaadi korduva vaatluse abil mikroskoobis. Surnud mikroobid värvuvad nõrga kongo punase lahusega, elusad aga mitte (Seifert ja Henrici).

Dermatofüütide uurimiseks tõmmatakse pintsetiga välja juukseid või karvu haiguskahtlasest kohast ja kaabitakse lantsetiga nahakestakesi, asetatakse esemeklaasile, valatakse peale 1—2 tilka 30% KOH vesilahust, kaetakse kateklaasiga ja soojendatakse väikesel tulel, kuni ilmuvad esimesed keemismullid. Selle tagajärjel lahustuvad koeelemendid ja rasv ning saavad nähtavaks mikroskoobis seeneeosed ja -niidid. Tarbe korral tuleb soojendamist korrata või kateklaasi servad vahaga kinni joota ja preparaati seista lasta. Preparaadi konservimiseks pestakse KOH veega ära, asetatakse peale tilk glütseriini ja kaetakse kateklaasiga, mille servad joodetakse vahaga kinni.

Dermatofüütide värvimiseks mõjustatakse uuritavat ainet alul kloroformiga rasva eraldamiseks, soojendatakse 2—3 min. *acid. formicicum*'is ja värvitakse 1 min. lahusega: 40 $cm^3$ destilleeritud vett + 24 $cm^3$ metüleensinise küllastatud vesilahust + 16 $cm^3$ 5% booraksilahust. Pesta veega, alkoholiga, ksülooliga ja katta kanada palsamiga.

Koelõikude värvimine võimaldab mikroobide asukoha ja nende poolt põhjustatud patoloogiliste muutuste uurimist infitseeritud organismi kudedes. Spontaansesse nakkushaigusse surnud inimese laiba või looma korjuse vastavatest kudedest ja organitest on tarvilik võtta koetükke võimalikult kohe pärast surma, sest hiljemini toimetatud lahkamisel saadud kudedes ja organites

võivad esineda postmortaalsed muutused, kusjuures mikroobide arv võib väheneda või suureneda. Koetükke bakterite värvimiseks võib välja lõigata ka kirurgiliste operatsioonide puhul. Eksperimentaalses bakterioloogias, mis areneb viimasel ajal üha kiiremini, infitseeritakse kunstlikult väga mitmesuguseid loomi (jäneseid, merisigu, valgeid hiiri ja rotte, koeri, veiseid, hobuseid, lambaid, ahve, kanu, tuvisid jt.), inokuleerides neile mitmel teel mikroobe sisaldavaid aineid. Säärasel korral on võimalik looma surmata juba haiguse arengu kestel ja saada soovitavaid koetükke bakterioloogiliseks uurimiseks. Samuti ei ole takistust lahkamise toimetamiseks kohe pärast looma surma ja võtta uurimiseks tarvilikke värskeid koetükke. Koetükid (umbes 5—6 mm paksud, 8—10 mm pikad ja 4—5 mm laiad) lõigatakse välja steriilsete riistadega.

Et mikroobide värvimist kudedes toimetatakse praegusel ajal harilikult käsikäes histopatoloogiliste uurimistega, milleks on tarvilik vastav sissesead, siis piirdume siinkohal vaid koetükkide otstarbekohaste fikseerimismeetodite lühikese kirjeldusega, et võimaldada ka mitteeriteadlasele säilitada materjali nõuetekohaselt ja saata seda kõlblikuna uurimiseks vastavasse asutisse.

Fikseerimiseks tarvitatavad lahused ei tohi muuta mikroobide keemilisi omadusi, mis takistab nende värvimist. Esitame siinkohal ainult need fikseerimismeetodid, mis on osutunud paremateks harilikkudel mikrobioloogilistel uurimistel. Klaaspurgi põhja võetakse kiht hüdrofiilset puuvilla, mille peale asetatakse koetükid, ja valatakse peale fikseerimislahust ruumalalt umbes 25—30 korda rohkem kui on koetükke.

1) Sublimaat on väga kohane fiksaator. Selleks valmistatakse soojendamise abil küllastatud lahus 0,75% NaCl-lahuses, millesse asetatakse väiksemad koetükid 4—6 tunniks ja suuremad kuni 24 tunniks; võetakse välja ja mähitakse marlisse ning loitakse 12—24 tundi jooksvas vees, et pesta ära $HgCl_2$. Siis mahutatakse tükid järgemööda 50°—60°—70°—80°—90°—100° alkoholi, 24 tunniks igaühte.

2) Formaliin kõlbab kõikide kudede fikseerimiseks. Fikseerimine ei ole küll täielik, kuid küllaldane jooksvaiks uurimisiks. Fikseerivate lahuste valmistamiseks segatakse müügil olevat for-

maliini 0,75% NaCl-lahusega mitmesugustes proportsioonides: 6—8 : 100 kudede ja organite tükkide fikseerimiseks; 10 : 100 närvikoe fikseerimiseks. Tükikesed mahutatakse formaliinilahusesse ja lastakse seista 6—24 tundi; aeg oleneb tükkide suurusest. Selle järel mahutatakse nad järgemööda 50°—70°—80°—90°—96°—100° alkoholi, igaühte 24 tunniks.

3) Bouin'i lahus: formaliini 20 cm³ + 75 cm³ *sol. acid. picrin. aquos. concentr.* + 5 cm³ *acid. acetici glacial.* Tükid lastakse viibida selles lahuses 24—48 tundi. Selle järel hoitakse neid 80°—90°—96°—100° alkoholis, 24 tundi igaühes.

See fiksaator on väga kohane; ta ei takista värvimist ja konservib hästi rakkude kuju.

Õhukeste lõikude saamiseks, mis on väga tarvilik mikrobioloogilistel uurimistel, immutatakse koetükikesi peaaegu alati parafiiniga.

## XXXIV peatükk.

## Mikroobide kunstlikud söötmed.

Mikroobide kasvatamiseks tarvitatakse mitmesuguse koostisega kunstlikke söötmeid. Ühed nendest kõlbavad enamiku mikroobiliikide kultiveerimiseks, kuna teisi tarvitatakse ainult teatavate mikroobiliikide kasvatamiseks. Siinkohal kirjeldame peamiselt esimesse liiki kuuluvaid söötmeid.

### Vedelad söötmed.

Lihapeptoon-puljong. 1) Võetakse 500 g rasvast ja kõõlustest vabastatud veise- või hobuseliha, lastakse läbi lihahakkimismasina; lisatakse juurde 1000 cm³ kaevu- või destilleeritud vett ja lastakse matsereeruda 12 tunni jooksul külmas kohas (suvel jääkapis). Soovitakse matsereerumist kiirendada, siis hoitakse nõu seguga $^1/_2$ tundi 50—55° C t°-s vesivannis.

2) Keeta Koch'i aparaadis 30 minuti jooksul 100° C t°-s.

3) Kurnata alul läbi linasest riidest koti, pigistades kogu vedeliku lihast välja. Pärast filtritakse läbi veega niisutatud filterpaberi. Filtraati võib steriliseerida ja alal hoida l i h a v e e n a mitmesuguste söötmete valmistamiseks.

4) Saadud lihaveele lisandatakse 1000 $cm^3$ kohta: 10 g peptooni (Chapoteaux või Witte), 5 g *natr. chlorati pur.* (või 5 g meresoola). Aetakse keema, liigutades vahetpidamatult, et peptoon täielikult lahustuks.

5) Neutraliseerimiseks võetakse NaOH normaalne lahus (40 g NaOH + 1000 $cm^3$ *aq. destill.)* või *natr. carbonic.* lahust, lisandatakse puljongile pipetiga väikeste hulkadena, segades hoolega segi pärast iga lisandamist; reaktsiooni proovitakse punase ja sinise lakmuspaberiga. Kui punane paber hakkab muutuma sinakaks, sinine aga punakaks, siis on puljong neutraalne lakmusele (pH 6,8). Tarviliku täpse reaktsiooni saamiseks lisandatakse puljongile ettevaatlikult NaOH normaallahust või *sol. natr. carbonici,* määrates pH väärtust allpool-kirjeldatud meetodite abil. Tarbe korral võib leelisust vähendada lahjendatud soolhappe lisandusega.

6) Alkaliseeritud puljong valatakse kolbidesse ja mahutatakse autoklaavi 15 min. 115—117° C t°-s. Filtrida läbi veega niisutatud filterpaberi; filtraat peab olema täielikult selge. Tarbe korral selitada valguga.

7) Saadud filtraadile lisandatakse destilleeritud vett kuni 1000 $cm^3$ ja tarbe korral parandatakse reaktsiooni soovitava pH väärtuseni.

8) Puljong valatakse soovi järgi kas katsuklaasidesse või kolbidesse, kaetakse puuvillkorkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 20 minuti jooksul 110—115° C t°-s.

Lõplikul steriliseerimisel on soovitav, et temperatuur ei tõuseks kõrgemale kui eelmiste keetmiste puhul, vastasel korral muutub puljong häguseks.

Söötmeid peab katsuklaasidesse ja kolbidesse valama ettevaatlikult, et nõude kael ei määrduks söötmega, sest siis kuivab puuvillkork klaasi külge ja raskendab avamist. Et seda vältida, võetakse klaaslehter, selle ots varustatakse 4—5 cm pikkuse kummitoruga, mille vaba ots ühendatakse 6—8 cm pikkuse, ühest otsast

tulel kitsamaks tõmmatud klaastoruga. Kummitoru suletakse Mohr'i näpitsaga. Valatakse sööde lehtrisse, juhitakse klaastoru sügavale katsuklaasi või kolbi, surutakse näpitsa harude peale ja lastakse söödet joosta soovitaval hulgal; lastakse näpits kinni ja võetakse klaas söötmega lehtri alt ära, nii et klaastoru ots ei puutuks kokku klaasikaelaga.

Müügil on ka valmis lihaekstraktid (Liebig'i ekstrakt jt.), milledest võetakse lihavee saamiseks keskmiselt 5 g 1000 $cm^3$ vee peale. Edasi valmistatakse puljongit nii, nagu ülalpool tähendatud.

M a r t i n'i p u l j o n g. Silmas pidades peptooni kõrget hinda ja selle väga muutlikku väärtust (sageli on ta sootuks kõlbmatu), on soovitav, et laboratooriumid ise valmistaksid peptoonilahuseid, milleks on üks paremaid Martin'i meetod:

1) Võetakse 3—5 värsket seamagu, lõigatakse rasv küljest ära; siis lõigatakse maod väikese kõveruse sihis lahti, pestakse kraani all, limanaha pinda kratsimata, surutakse käte vahel, et eraldada vett. Magu lõigatakse kääridega 4—5 tükiks ja aetakse läbi lihahakkimismasina.

2) 250 g saadud magude putru segatakse 1000 $cm^3$ $50^0$ C soe ja destilleeritud veega, millele oli lisandatud 10 $cm^3$ *acid. hydrochlorici puri* ($16^0$ C). Lastakse matsereeruda savist või muust ainest potis (mitte emailitud plekist pottides, mis oksüdeeruvad ja eraldavad mikroobide kasvu takistavaid aineid; ($50^0$ C $t^0$-s 20—24 tunni jooksul; $t^0$ ei tohi olla üle $50^0$ C, sest siis kaotab pepsiin oma toime). Matsereerumiseks asetatakse pott seguga erilisse veega täidetud katlasse, mille soojendamist reguleeritakse automaatselt. Mao limanahas viibiva pepsiini toimel seeduvad valk-ollused peptooniks.

3) Soojendatakse kuni $80^0$ C, et lõpetada pepsiini toimet. Lastakse seista toatemperatuuris 4—5 päeva jooksul. Siis eraldatakse pinnale kogunenud rasv. Sifooni abil eraldatakse pealmine selge vedelik, jättes sademe põhja.

4) Saadud vedelikku soojendatakse $80^0$ C $t^0$-s ja neutraliseeritakse soojalt kontsentreeritud soodalahusega, kuni lakmuspaber näitab veel nõrka happereaktsiooni.

5) Aetakse keema ja filtritakse läbi veega niisutatud filter-

paberi. Asetatakse 5 minutiks autoklaavi 117—118° C t°-s ja filtritakse siis uuesti.

6) Valatakse kolbidesse ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C t°-s 15—20 min.

Sel teel saadud hapu reaktsiooniga lahus sisaldab ligikaudu 4% peptooni. Puljongi valmistamiseks segatakse võrdsed osad ülalmainitud lihavett Martin'i peptoonilahusega, lisandatakse 0,5% *natr. chlorat. pur.* või meresoola ja valmistatakse puljongit edasi, nagu seda toimetatakse hariliku puljongi valmistamisel.

Suhkurpuljongid. Mikroobide kasvu kiirendamiseks ja nende elutegevuse uurimiseks lisandatakse puljongile sageli 1—4% mitmesuguseid suhkruid (glükoosi, laktoosi jne.). Neid võib lisandada puljongi valmistamise ajal või juba valmis puljongile, mida viimasel puhul uuesti peab steriliseerima ja filtrima. Peab tähendama, et paljud suhkruained kuumuse mõjul hüdrolüüsuvad, seepärast peab söötmeid, mis neid sisaldavad, steriliseerima mitte üle 105° C ulatuvas t°-s. Veel parem on steriliseerimist toimetada 100° C t°-s, korrates seda 3 päeva järjestikku. Et ka 100° C t°-s mõned suhkrud osalt võivad hüdrolüüsuda, siis on soovitav suhkurpuljongit steriliseerida filtrimise teel, või steriilsele puljongile lisandada vastav hulk 10% suhkrulahust, mida steriliseeriti filtrimise teel läbi bakteritefiltri. Täpsete uurimiste korral peab suhkurpuljongi valmistamiseks tarvitatavat liha matsereerima 37° C t°-s termostaadis, või lihaveele juurde külvama *Esch. coli* ja pärmikultuuri ja mõni tund termostaadis 37° C t°-s hoidma, mille tagajärjel lihaste suhkrud fermenteeruvad.

Mikroobide toitmise ja käärimisfunktsioonide uurimise otstarbel lisandatakse kunstsöötmeile harilikult järgmisi suhkru- ja tärklisaineid: monosahhariididest — peamiselt arabinoosi, ksüloosi, dekstroosi, levuloosi, mannoosi, galaktoosi; disahhariididest — sahharoosi, maltoosi, laktoosi; trisahhariididest — rafinoosi, polüsahhariididest — dekstriini, tärklist, glükogeeni, rafinoosi. Käärimise korral tekkivate hapete tõenduseks lisandatakse sääraseile söötmeile valmistamise ajal mikroobidele indiferentseid indikaatoreid, milledest allpool kuuleme. Kui aga tahetakse täielikult kõrvaldada indikaatori mõju kasvule, siis

lisandatakse seda kultuurile pärast soovitava kasvuaja möödumist, või määratakse pH väärtus kultuuris.

Glütseriinpuljong. Selle valmistamiseks lisandatakse puljongile 2—5% neutraalse reaktsiooniga puhast glütseriini. Lõplikku steriliseerimist toimetatakse samuti kui suhkurpuljongi puhul.

Piima tarvitatakse väga sageli mikroobide kultiveerimiseks. Harilikult valmistatakse piimsööde järgmiselt:

1) Võetakse 500 $cm^3$ värsket rõõska piima, proovitakse selle reaktsiooni, mis peab olema neutraalne või nõrgalt leelisene. Hapu reaktsiooniga piim ei ole kõlvuline, sest piimas võivad leiduda mikroobide poolt esilekutsutud fermentatsiooni produktid, mis võivad takistada teiste mikroobide kasvu.

2) Piim valatakse katsuklaasidesse, 10—15 $cm^3$ igaühte, ja klaasid kaetakse puuvillkorkidega.

3) Steriliseerida autoklaavis 105° C $t^0$-s 30 min. jooksul, veel parem Koch'i aparaadis 100° C $t^0$-s 30 min. jooksul kolm päeva järjestikku. Selle järel hoitakse klaasid piimaga 48 tunni jooksul termostaadis 37° C $t^0$-s ja tarvitatakse ainult neid, kus piim ei kalgendu, kõrvaldades need, kus piim kalgendub.

Sapp. Tapmise puhul võetud härja-sapipõiest saadud sapp filtritakse läbi veega niisutatud filterpaberi, valatakse katsuklaasidesse, 5 $cm^3$ igaühte, kaetakse puuvillkorkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 110° C $t^0$-s 30 minuti jooksul. Parem on steriliseerida Koch'i aparaadis 100° C $t^0$-s 30 minuti jooksul 3 päeva järjestikku.

Mikroobide kasvu soodustamiseks lisandatakse harilikele kunstlikele söötmeile sageli natiivseid valkaineid. Selleks kasutatakse peamiselt vereseerumit, transsudaate, ekssudaate või verd.

Seerumpuljongi valmistamiseks võetakse katsuklaasid või kolvikesed, mis sisaldavad lõplikult steriliseeritud puljongit või suhkurpuljongit, ja lisandatakse 1—2 $cm^3$ steriilset vereseerumit igale 10 $cm^3$ puljongile. Vereseerumi saamiseks lastakse steriilselt võetud inimese või looma veri hüübida ja seista külmas kohas, kuni vabaneb seerum.

Transsudaat- ja ekssudaatpuljongi valmistamiseks lisandatakse lõplikult steriliseeritud puljongile või suhkurpuljongile 2—5 $cm^3$ steriilset pleuraekssudaati, astsiidi- või hüdrotseelevede-

likku iga 10 $cm^3$ puljongi kohta. Mainitud vedelikkude saamiseks toimetatakse steriilselt vastavatel haigetel punktsiooni ja vedelik kogutakse alalhoidmiseks steriilsesse nõusse. Kui proovimisel selgub, et punktsioonil saadud vedelik ei ole steriilne, siis peab seda filtrima läbi Seitz'i filtri või lisandama 1% kloroformi, katma õhukindlalt ja laskma seista, kuni hävivad mikroobid. Enne kasutamist lasta kloroform ära auruda 56—58° C soojas veevannis.

Veripuljongi valmistamiseks lisandatakse lõplikult steriliseeritud puljongile üks kolmandik või üks neljandik osa defibrineeritud või tsitraati sisaldavat inimese või looma verd.

Tõmbsoone aseptilise punktsiooni või mõnel teisel teel saadud veri lastakse steriilsesse, klaaskuulikesi sisaldavasse kolbi, kaetakse puuvillkorgiga ja loksutatakse defibrineerimiseks 5—10 minutit. Vere hüübimise vältimiseks võetakse kolbi lahust — 8 g *natr. chlorati pur.* + 15 g *natr. citrici* + 200 $cm^3$ destilleeritud vett — ja steriliseeritakse autoklaavis. Värske veri lastakse kolbi, nii et umbes 100 $cm^3$ segus oleks 20 $cm^3$ tsitraadilahust, ja loksutatakse segi (tsitraatveri). Mõlemal viisil saadud vered hoitakse külmas kohas, kasutades neid tarbe korral söötmeile lisandamiseks.

Martin-Pettit' sööde. 1 osale steriilsele jänese vereseerumile lisandatakse 5 osa steriliseeritud 0,85% NaCl-lahust. Filtritakse läbi Chamberland'i küünla; filtraat valatakse katsuklaasidesse, 10—15 $cm^3$ igaühte; valatakse peale 2—3 cm kõrgune kiht steriliseeritud parafiinõli; kaetakse puuvillkorkidega ja steriliseeritakse 56° C $t^0$-s 30 minuti jooksul, kolm päeva järjestikku.

Jäneseseerumi asemel võib tarvitada härja või hobuse vereseerumit. Sööde on kasvuks soodsam, kui ta seisab enne tarvitamist mõne nädala jooksul termostaadis 37° C $t^0$-s. Selles söötmes kasvavad peale teiste bakterite rahuldavalt ka mõned spirohheediliigid.

Mikroobide kultiveerimiseks tarvitatakse ka mitmesuguseid taimseid leotisi. Et need sisaldavad vähe toiteaineid, siis lisandatakse neile harilikult peptooni, suhkrut, sooli jne.

Linnasevesi. 1) Võetakse 100 g linnaseid, hõõrutakse puruks ja lisandatakse 1000 $cm^3$ vett.

2) Segu hoitakse 1 tunni jooksul 55—58° C t°-s, kus diastaas transformeerib tärklise maltoosiks. Temperatuur ei tohi üle 58° C tõusta, mis lõpetab diastaasi toimivuse.

3) Keeta mõne minuti jooksul. Filtrida läbi filterpaberi.

4) Valada katsuklaasidesse või kolbidesse. Steriliseerida autoklaavis 115° C t°-s 20 min. jooksul.

See sööde on soodus pärmseente kasvatamiseks ja alalhoidmiseks. Lisandame sellele söötmele $^1/_2$—1% peptooni ja 5—10% glükoosi, siis saame linnasevesi-puljongi, mille toiteväärtus on palju suurem kui linnaseveel.

Spronck'i pärmpuljong. 1) Segatakse 1000 g müügil olevat leivapärmi 5 liitri veega. Keedetakse 20 minuti jooksul, segades vahete-vahel. Valatakse silindrilisse riista ja lastakse seista 24 tundi.

2) Eraldatakse pealmine hägune vedelik, lisandatakse iga liitri kohta 5 g meresoola või NaCl ja 10 g peptooni, keedetakse mõne minuti jooksul.

3) Neutraliseerida soovitava pH väärtuseni. Filtrida läbi filterpaberi.

4) Valada katsuklaasidesse või kolbidesse. Steriliseerida autoklaavis 110—115° C t°-s 20 min.

Taimeekstraktide lisandamine harilikele söötmeile soodustab paljude bakterite kasvu (Thompson). Ekstrakti valmistamiseks võetakse 150 g purukslõigatud või -hõõrutud kartulite, porgandite, rediste jne. massi, lisandatakse 200 $cm^3$ destilleeritud vett, loksutatakse 10 min., kurnatakse läbi marli. Tsentrifuugitakse 30 min. elektertsentrifuugis, pealmine osa filtritakse läbi Seitz'i filtri; hoitakse steriilsetes katsuklaasides külmas kohas. Säärast taimeekstrakti lisandatakse umbes 0,2 $cm^3$ 6—7 $cm^3$ söötmele.

Arvesse võttes liha võrdlemisi kõrget hinda, eriti majandusliku surutise ajal, on korduvalt soovitatud liha asendada söötmete valmistamisel platsentaga, verega ja verehüüvetega, piimaga, siseorganitega, lihapulbriga ja sojaubadest valmistatud ekstraktiga. Tunduva kokkuhoiu saavutamiseks võib hinnaliste puhtate pep-

toonide asemel kasutada jooksvaks mikrobioloogiliseks tööks laboratooriumis lihtsate abinõudega valmistatud peptoonisegusid või toorest peptooni.

### Tahked söötmed.

Tahkete söötmete saamiseks lisandatakse ühele või teisele vedelale söötmele niisuguseid aineid, mis hanguvad toatemperatuuris. Samuti võib tarvitada tahke söötmena koaguleerunud valkusid ja mitmesuguseid taimseid aineid.

Želatiinsööde. Lisandame lihapeptoon-puljongile teatud hulga želatiini, siis saame söötme, mis jääb tahkeks keskmiselt kuni +25 °C temperatuurini ja sulab, kui soojus tõuseb kõrgemale. Selle söötme valmistamiseks peab tarvitama head puhastatud želatiini (*gelatin extra* — bakterioloogiliseks otstarbeks). Želatiinsöötmel võib mikroobe kasvatada 22—25° C t°-s — kõrgemas temperatuuris sulab sööde. Paremate želatiinisortide sulamistäpp on 28—30° C.

Valmistamisviis: 1) 1000 $cm^3$ lihaveele lisandatakse 10 g peptooni, 5 g meresoola või NaCl ja 80—150 g želatiini; suvel lisandatakse 130—150 g, talvel — 80—100 g. Soojendatakse emailitud kastrulis vesivannis 40—50° C t°-l, vahetpidamata liigutades puulusikaga kuni želatiini sulamiseni. Siis keeta 5—6 minuti jooksul 100° C t°-s Koch'i aparaadis.

2) Ettevaatlikult lisandada hoolega segades NaOH normaallahust, kuni neutraalse reaktsioonini (pH 6,8—7,0).

3) Suurde kolbi valatud želatiinsööde lastakse jahtuda kuni 50—55° C ja lisandatakse ühe kanamuna valk, segatult 50—100 $cm^3$ veega. Segatakse segi ja hoitakse Koch'i aparaadis 100° C t°-s 1 tunni jooksul. Parandada reaktsioon kuni soovitava pH väärtuseni; filtrida läbi niisutatud filterpaberi.

4) Täiesti selge želatiin valatakse kuumalt katsuklaasidesse või kolbidesse, kaetakse puuvillkorkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 105° C t°-s 15 minutit, parem 100° C t°-s 30 min. 3 päeva järjestikku.

Agarsööde. Agar-agar, mis pr. A. Hesse soovitusel söötmetehnikas tarvitusele võeti, saadakse vastava läbitöötamise teel

Aasia meredes kasvavaist vetikaist (*Gracilaria lichenoides, Eucheuma spinosum, Gelidum corneum* jt.) ja on oma koostiselt ning väärtuselt väga mitmesugune. Müügile lastakse agar-agar kuivatatud niitidena või pulbriks hõõrutult, mis on halvem esimesest. Agar-agar absorbeerib suurel hulgal vett, sulab 95—98° C t°-s ja hangub 40—42° C t°-s. Agarsöödet tarvitatakse nende mikroobide kasvatamiseks, mis vajavad sigimiseks 37—38° C t°. Harilikult lisandatakse agarit 1,5—2%.

Valmistamisviis: 1) Võetakse 15—20 g kuiva agarit, lõigutakse kääridega lühikesteks tükkideks, matsereeritakse 2—6 tunni jooksul külmas vees; pressitakse kuivaks linases rätikus.

2) Paisunud agar lisandatakse 1000 $cm^3$ harilikule neutraliseeritud lihapeptoon-puljongile.

2) Segu soojendatakse 100° C t°-s Koch'i aparaadis, kuni agar ära sulab (umbes 1 t.).

4) Proovida reaktsiooni; tarbe korral neutraliseerida (pH 7,0—7,2).

5) Lasta jahtuda kuni 50—55° C ja lisandada ühe kanamuna valk, segatult 100 $cm^3$ veega; hästi segi loksutada.

6) Hoida autoklaavis 115° C t°-s 20 min. jooksul. Valk koaguleerub ja võtab kaasa osasid, mis võivad söötme häguseks teha.

7) Autoklaavist võetud kuum agarsööde filtritakse läbi niisutatud filterpaberi 100° C t°-s Koch'i aparaadis või läbi mitmekordsete puuvillakihtide. Filtrimise kiirendamiseks võetakse Büchner'i lehter, mille auklik põhi kaetakse linase riidega; selle peale asetatakse puuvill või filterpaber. Lehter ühendatakse kolviga, millest imetakse õhku välja. Samaks otstarbeks kasutatakse ka kahekordsete seintega plekklehtrit, mida soojendatakse seinte vahel viibiva kuuma veega.

8) Filtritud kuum agarsööde valatakse täitmislehtrisse ja kallatakse kiiresti katsuklaasidesse, 8—10 $cm^3$ igaühte. Klaasid kaetakse puuvillkorkidega ja steriliseeritakse 110° C t°-s autoklaavis 30—45 minuti jooksul.

9) Autoklaavist võetud katsuklaasid vedela agarsöötmega lastakse hanguda kas vertikaalses olekus — p ü s t a g a r — või längus,

nii et agari ülemine osa oleks mõni sentimeeter allpool korki — l ä n g a g a r.

Agarit võib vedelaile söötmeile lisandada 0,4% — tahkjas sööde, $1^1/_2$—2% — harilik agarsööde või 3—4% — tahke sööde. Viimast tarvitatakse siis, kui agarsöötmele soovitakse pärast lisandada mõnd vedelikku, näit. vereseerumit, verd, transsudaati või ekssudaati.

Et pääseda võrdlemisi tülikast filtrimisest, võib valada autoklaavist võetud kuuma agari lehtrisse, mille alumine ots korgiga on suletud, ja lasta seal hanguda. Seejuures langeb sade alumisse ossa. Hangunud agarsööde võetakse lehtrist tervelt välja ja lõigatakse ära sadet sisaldav alumine osa. Ülemine läbipaistev osa sulatatakse, valatakse katsuklaasidesse ja steriliseeritakse.

G l ü t s e r i i n a g a r. Harilikule agarsöötmele lisandatakse 4—6% *glycerini pur.* ja steriliseeritakse 100° C t°-s Koch'i aparaadis.

S u h k u r a g a r. Harilikule agarsöötmele lisandatakse 1—4% glükoosi, laktoosi või mõnd teist suhkrut. Steriliseerida 100° C t°-s Koch'i aparaadis.

S a b o u r a u d' s ö ö d e (Milieu d'épreuve). 2 g granuleeritud peptooni (de Chassaing) ja 4 g maltoosi (bruite de Charnit) lahustatakse veidi soojendades destilleeritud vees, lisandatakse 1,8 g vees 30 min. leotatud agarit ja siis veel destilleeritud vett kuni 100 $cm^3$. Mahutada autoklaavi, lasta t° kuni 120° C tõusta, siis jahutada kuni 100° C ja filtrida läbi filterpaberi, vahetades viimast kohe, kui söötme tilkumine jääb aeglaseks. Steriliseerida autoklaavis. Reaktsiooni pole tarvis parandada, sest see peab jääma nõrgalt hapuks.

G r ü t z'i s ö ö d e. 5 g peptooni (Knoll) lahustatakse väheses vees kerge soojendamise abil, lisandatakse 80 g nerviinamaltsi (Nervinamalz-Knoll) ja 1000 $cm^3$ 1,8% agarit. Hoolega segada, valada katsuklaasidesse ja steriliseerida Koch'i aparaadis 20 min. kestel 3 päeva järgemööda. Söödet ei neutraliseerita.

Soovi korral võib kahele eelmisele söötmele lisandada 0,5% glütseriini. Need söötmed on soodsad seente kasvatamiseks.

Tahkete seerumsöötmete valmistamisel bakterioloogiliseks otstarbeks tarvitatakse peamiselt hobuse, veise ja lamba vereseerumit.

Steriilse vereseerumi saamiseks valitakse terve loom ja punkteeritakse veeni (*v. jugularis*) 24-tunnise nälgimise järel (et ära hoida vere infektsiooni, mis tekib harilikult seedimise ajal) steriilse troakaariga. Veri kogutakse aseptiliselt steriilsesse silindrisse, kaetakse pealt kinni, hoitakse $^1/_2$ tundi termostaadis 37° C t°-s, et veri kiiremini hüübiks; selle järel hoitakse 24 tundi külmas kohas (jääkapis). Seerum imetakse aseptiliselt suure pipetiga ära ja valatakse steriilseisse Jena klaasist või parafineeritud pudelitesse, mis kindla korgiga suletakse, või ampullidesse, mis tulel kinni joodetakse.

Looma tapmise puhul tapamajas kogutakse veri silindrisse ja lastakse hüübida; vereseerum kogutakse pudelitesse, nagu eespool mainitud. Seesugune seerum sisaldab harilikult mikroobe ja teda peab hoolega steriliseerima, mida toimetatakse mitmel viisil: a) Seerumile lisandatakse 3% kloroformi, seerumit sisaldav riist kaetakse kindla kummikorgiga, loksutatakse 10 min. ja lastakse seista jääkapis 2—3 p. Enne tarvitamist valatakse seerum kolbidesse, kaetakse need puuvillkorkidega ja hoitakse mõni tund 37° C t°-s, et kloroform ära auruks. b) Seerum filtritakse läbi Berkefeld'i või Seitz'i filtri. c) Seerumit võib steriliseerida tündaliseerimisega 56—58° C t°-s 1 tund iga päev kuni 7 päeva järjest.

Koaguleerunud seerumsööde. Katsuklaasidesse valatakse umbes 10 $cm^3$ steriliseeritud vereseerumit ja mahutatakse längus olekus Koch'i koaguleerimisaparaati. See aparaat kujutab kahekordsete seintega plekk-kasti, mida vähem või rohkem längu võib asetada. Seinte vahel on vesi, mille soojust automaatselt reguleeritakse. Soojendatakse pikkamisi kuni 68—72° C ja hoitakse selles soojuses 2—3 tundi.

Enne tarvitamist proovitakse söötme steriilsust; selleks hoitakse klaase 36 tundi termostaadis 37° C t°-s.

Loeffler'i seerumsööde. Võetakse 3 osa võimalikult steriilset veise või lamba vereseerumit ja lisandatakse 1 osa neutraalset (pH 7,0) 1% glükoospuljongit, segatakse ja valatakse katsuklaasidesse; längus katsuklaase kuumutatakse Koch'i koaguleerimisaparaadis, tõstes soojust aeglaselt ja hoides seda esimesel päeval

70—80° C t°-s 2 tunni kestel. Lõplikuks steriliseerimiseks ja koaguleerimiseks kuumutatakse söödet veel järgmisel päeval 1 tunni kestel 80—85° C t°-s ja 1 tund 90—95° C t°-s.

Agarsööde natiivse valguga. Võetakse katsuklaasid hariliku steriilse agarsöötmega ja hoitakse 100° C t°-s vesivannis, kuni sööde täielikult ära sulab. Lastakse jahtuda kuni 45—50° C (kontrollida termomeetriga söötme t° katsuklaasis). Igale klaasile lisandatakse 1/3 osa vereseerumit, astsiidivedelikku, ekssudaati või 1—2 cm³ värsket verd, segatakse klaasi veeretamise teel käte vahel, asetatakse längu või valatakse Petri kaussidesse ja lastakse hanguda. On soovitav soojendada 45—50° C t°-s ka lisandatavaid aineid enne agarile juurdekallamist.

Kartulsööde. Võetakse suured, hästi valminud, ilma mädaplekkideta valged kartulid ja pestakse neid jooksva kraanivee all harjaga. Siis kooritakse nad steriliseeritud roostevaba või hõbenoaga puhtaks ja lõigatakse 10—15 mm paksusteks liistakuiks; mahutatakse kaussi steriliseeritud destilleeritud vette ega puudutata neid enam sõrmedega. Kartuliliistakud kuivatatakse steriilse filterpaberi vahel ja asetatakse Petri kaussi või Koch'i kartulikaussi. Steriliseeritakse autoklaavis 120° C t°-s 20 min.

Kooritud kartulist võib lõigata noaga või sellekohase puuriga ka 4—5 cm pikkused silindrikujulised tükid, mis siis diagonaalselt pooleks lõigatakse. Kiilusarnased tükid pestakse steriilses destilleeritud vees puhtaks, kuivatatakse filterpaberi vahel, asetatakse Roux' kartuliklaasidesse ja kaetakse puuvillkorkidega. Roux' klaas on harilik katsuklaas, mille alumises osas on kitsus. Selle peale jääb püsima klaasi lastud kartul. Samaks otstarbeks võib tarvitada harilikku katsuklaasi, mille põhja mahutatakse 2—3 cm pikkune klaaspulgake, mis kartuli ülal hoiab. Katsuklaasi põhja valatakse mõni cm³ vett, et kartul ära ei kuivaks. Steriliseerida autoklaavis 120° C t°-s 20 min. jooksul. Autoklaavist väljavõtmise järel hoitakse klaas 24 t. länguş, nii et kartuli tasane pind oleks allpool ja et kumer pind oleks vabastatud klaasi küljest; säärase seismise järel ei jää kumer külg enam klaasi külge ja kartul ei lähe kõveraks.

Mõned kartulid on tugevalt happelise reaktsiooniga; siis peab valmislõigatud tükke hoidma 6—12 tundi 1% soodalahuses.

Glütseriin-kartulsöötme saamiseks mahutatakse valmislõigatud kartulitükid 24 tunniks 2—5% glütseriinivette. Klaasi põhja valatakse glütseriinivett kartuli alumise otsani, kartulitükid lastakse klaasidesse ja steriliseeritakse, nagu eespool kuulsime.

Samuti kui kartulist võib söödet valmistada ka porgandist või teistest juurviljadest.

## Indikaatorsöötmed.

Sageli lisandatakse söötmeile üht või teist indikaatorit, mis näitab teatavate ainete (happe, aldehüüdi jne.) tekkimist mikroobide kultuuris.

Lakmussöötmed. Võetakse harilikku steriliseeritud suhkur- (1—2% glükoosi, laktoosi, manniiti, galaktoosi, maltoosi, roosuhkrut jt.) puljongit, -agarit või -želatiini katsuklaasides (viimased kaks tahket söödet sulatatakse enne vesivannis) ja nendele lisandatakse steriilse pipetiga lakmustinktuuri, kuni sööde omandab selgelt sinise värvuse. Ei ole soovitav söödet enam steriliseerida pärast lakmuse lisandamist, sest siis võib muutuda lakmuse värv. Tekib mikroobide kasvu puhul hape, siis muutub sööde kord-korralt punakaks.

Lakmustinktuuri valmistamiseks võetakse kuivatatud sinist lakmust ja keedetakse 85° alkoholis; lastakse seista, eraldatakse pealmine vedelik ja sademele lisandatakse 6—8 osa destilleeritud vett; soojendatakse tulel ja filtritakse läbi filterpaberi. Saadud filtraati hoitakse puuvillkorgiga pudelis. Saadud lahuse poolele osale lisandatakse lahjendatud väävelhapet, kuni segu muutub peaaegu punaseks. See segatakse järelejäänud teise poolega, et saada tundlikku tinktuuri. Segu steriliseeritakse 115° C t°-s 10 min. jooksul. Tinktuur peab olema pisut violetse varjundiga sinine. Muutub tinktuur seistes punakaks, siis võib teda soodalahuse lisandamisega sinakaks muuta.

Lakmustinktuuri asemel võib kasutada ka Kubel-Tiemann'i lakmuslahust.

Kongopunase-agar. 1 liitrile harilikule agarile, mis on soodalahusega nõrgalt alkaliseeritud, lisandatakse 15 g laktoosi ja

3 g kongo punast (pulbrina). Keeta, hästi segi loksutada. Valada katsuklaasidesse väikeste hulkadena ja steriliseerida 3 korda 100° C t°-s 20 min. jooksul. Sellel söötmel kasvab *Escherichia coli* sinakasmustade pesadena.

Endo agarsööde (Harris). Harilikule 1,5% agarsöötmele, reaktsiooniga pH 7,4—7,6, lisandatakse 1% keemiliselt puhast laktoosi, mis on lahustatud väheses destilleeritud vees, ja 0,35% $K_2HPO_4$. Iga 100 cm³ sula kuuma agari kohta lisandatakse 0,5 cm³ 24 tundi seisnud ja enne tarvitamist läbi filterpaberi filtritud baasilise fuksiini küllastatud alkohollahust ning ligikaudu 2,5 cm³ värskelt steriilses destilleeritud vees lahustatud keemiliselt puhta ja veevaba naatriumsulfiti ($Na_2SO_3$) 10% lahust (kuni prooviks tassile võetud väike hulk roosakat söödet hangudes värvuse kaotab). Segu valatakse väikestesse kolbidesse või katsuklaasidesse ja steriliseeritakse kaks korda 100° C t°-s Koch'i aparaadis. Sulatada tarvitamise eel ja valada Petri kaussidesse. Hoida pimedas kohas võimalikult õhu juurdepääsu eest kaitstult. Kui mikroobidepesas tekivad happed ja aldehüüdid, siis muutub sööde pesa kohal ja selle ümber punaseks.

Neutraalpunase-agar. Harilikul teel valmistatud 0,4% agarsöötmele lisandatakse 0,2% glükoosi ja iga 100 cm³ söötme kohta umbes 0,75 cm³ 1:100 neutraalpunase vesilahust, kuni sööde omandab selgelt roosa värvuse. Valatakse katsuklaasidesse ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C t°-s 20 min. *Escherichia coli*, kasvades selles söötmes, põhjustab silmapaistva fluorestsentsi. Neutraalpunase punane värvus muutub kollaseks pH 6,8—8,0 piirides.

Indikaator-värvainetest on mõned väga tundlikud ja nende abil võib määrata hapete väikeste hulkade tekkimist suhkursöötmetes kasvavas kultuuris. Selleks võib lisandada söötmele valmistamisel säärast indikaatorit, mis ei takista mikroobide kasvu, kuid näitab küllaldase täpsusega vesinikioonide kontsentratsiooni muutust kasvavas kultuuris. Otstarbekohasemad on hariliku töö korral järgmised indikaatorid: Broomtümoolsinine, millest valmistatakse 0,04 : 100 lahus destilleeritud vees ja sellest lisandatakse 10 cm³ iga 100 cm³ söötme kohta. Leelisene

sööde on sinine, hapete tekkimise puhul muutub mikroobipesa koht ja ümbrus kollakaks. Kollane muutub siniseks pH 6,0—7,6 piirides. Vesisinise (Wasserblau 6B. extra, Dr. Hollborn—Leipzig) 2% vesilahusest lisandatakse söötmeile 5—6 $cm^3$ iga 100 $cm^3$ kohta. Happe toimel muutub sööde siniseks. Metakroomkollast lisandatakse söötmeile harilikult 0,04—0,06%. Kui on tarvis täielikult kõrvaldada indikaatori toime kasvule, siis lisandatakse seda vedelale kultuurile pärast kasvu.

Täpsete tulemuste saamiseks peab kontrolliks igale söötmele, millele lisandatakse mingit suhkrut fermentatsioonprooviks, juurde külvama uuritavaid mikroobe ilma suhkrulisanduseta, sest söötmes eneses võib leiduda aineid, mis mikroobide toimel fermenteeruvad ja hapet annavad.

Erisöötmete valmistamisel lisandatakse neile sageli mitmesuguseid värvaineid, mis teatava kontsentratsiooni puhul pidurdavad ühe mikroobiliigi kasvu ega takista tunduvalt teise liigi sigimist. Lisandatava värvaine toimet peab enne kontrollima, sest müügil leiduvad värvained sageli pole toimelt täiesti sarnased. Lisandamiseks on kasutatud malahhiitrohelist, briljantrohelist, hiina rohelist, gentsiaanavioletti ja teisi. Samaks otstarbeks võib kasutada ka teisi aineid, nagu telluriiti, safraniini, pikriinhapet, kofeiini jne.

## Söötmete reaktsioon ja selle määramine.

Hapu reaktsiooniga söötmeis kasvavad ainult vähesed mikroobid (seened jt.). Enamik patogeenseid mikroobe kasvab neutraalses või nõrgalt leelisese reaktsiooniga söötmeis. Mõned mikroobid nõuavad oma kasvu optimumiks söötmereaktsiooni, mis ainult kitsais piires võib kõikuda, kuna teised on selles suhtes vähemnõudlikud. Söötme reaktsiooni parandamist vastavalt mikroobi nõuetele saavutatakse NaOH, $Na_2CO_3$ või tarbe korral HCl lahuse lisandusega, kontrollides reaktsiooni võimalikult täpsete meetoditega. Söötme valmistamisel ei tohi unustada, et reaktsioon, mis oli enne steriliseerimist, võib sageli osutuda teiseks pärast

steriliseerimist. Samuti võib söötme algreaktsioon märksa muutuda mikroobide kasvu kestel, mis pidurdab edaspidist kasvu ja põhjustab degeneratsiooninähte mikroobirakus. Selle vältimiseks lisandatakse söötmeile regulaatoreid (pidureid), milleks on osalt ka peptoon ja lihavesi. Regulaatoriteks ehk piduriteks nimetatakse kõiki aineid, mis on võimelised oma afiinsuse tõttu hapetele ja leelistele neutraliseerima lahusele lisandatavat hapet ja leelist, hoides alal lahuse esialgset vesinikioonide kontsentratsiooni.

Söötmeile lisandamiseks kasutatakse piduritena harilikult fosforhappe naatriumi ja kaaliumi primaarseid ja sekundaarseid sooli ja nende segusid, nagu $Na_2HPO_4 + NaH_2PO_4$. Näiteks 1 liitrile agarsöötmele lisandatakse 1 g *natr. phosphoricum*'i või 2 g *magnes. phosphoricum*'i. Ühtlasi olgu tähendatud, et mõned regulaatorid, näiteks $K_2HPO_4$, lisandatuna 0,5% söötmele, kaitseb seda mikroobide kasvu puhul tekkivate hapete vastu, kuid ei kaitse küllaldaselt tekkivate leeliste vastu.

Enamik patogeenseid mikroobe kasvab pH 7,0 ja pH 8,0 vahel, kuna üksikud vajavad märksa erinevat reaktsiooni (*M. tuberculosis, Malleomyces mallei, Hemoph. pertussis*, pH 5,0). Viimase ajani määrati mikrobiaalsete söötmete reaktsiooni peamiselt lakmuse (pH 6,8) ja fenoolftaleiini (pH 8,5) abil, mis ei võimalda söötmete reaktsioonimuutuste täpset jälgimist.

Söötme reaktsiooni sobivus ühele või teisele mikroobile oleneb söötme aktuaalsest happesusest ehk vesinikioonide kontsentratsioonist, mida väljendatakse Sörensen'i soovitusel vesinikueksponendiga ehk pH väärtusega. Sellega sõltub aktuaalne happesus söötmes viibivate hapete ja leeliste dissotsiatsioonist teatud olukorras. Dissotsiatsiooni ulatus igas lahuses oleneb happe või leelise lahjendusest, temperatuurist, reguleerivate ainete ehk pidurite hulgast ja iseloomust ning paljudest teistest faktoritest. Ei ole kahtlust, et totaalse happesuse või leelisuse määramisega, mis haarab kogu hapet või leelist, nii dissotsieerunut kui ka mittedissotsieerunut, ei ole võimalik saada täpsemat pilti söötme reaktsiooni sobivusest ühele või teisele mikroobile.

Aktuaalset happesust ehk vesinikioonide kontsentratsiooni määratakse elektromeetriliselt ja kolorimeetriliselt. Esimene on

täpne meetod, millega harilikult kontrollitakse kolorimeetrilisi meetodeid. Et kolorimeetriline meetod on märksa lihtsam ja üldiselt rahuldav jooksvas töös, siis kasutatakse seda praegusel ajal paljudes bakterioloogialaboratooriumes.

Elektromeetriline meetod on rajatud diferentsi mõõtmisele tundmatu ja tuntud potentsiaali vahel. Kujutleme, et uuritav sööde etendab lahuse osa improviseeritud elemendis, mille elektrilise voolu tugevus sõltub vesinikioonide hulgast. Vajaliku diferentsi saamiseks võrdleme erilise elektroodi abil nõrka voolu, mis tuletub elektriliselt muutunud ioonides uuritavas söötmes, standardelemendi juba tuntud vooluga eriliselt tundliku mõõtmisaparaadiga. Saadud diferentsi alusel arvestatakse vastavate matemaatiliste valemite abil vesinikioonide kontsentratsioon ja pH väärtus uuritavas söötmes. Mõõtmist toimetatakse kas potentsiomeetri (Mislowitzer) või elektro-ionomeetri (H. Lüers) abil. Mõlemad aparaadid on võrdlemisi kallid ja nende käsitsemine vajab vilumust.

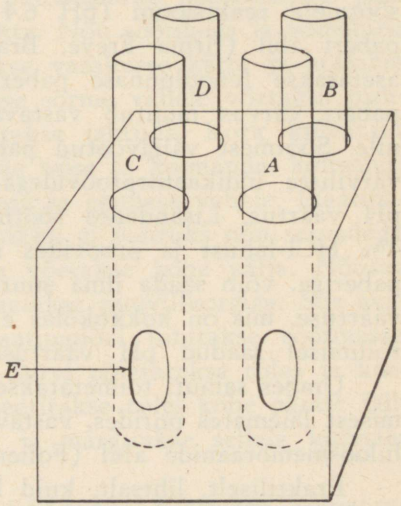
Kolorimeetrilise meetodi puhul on tundlikud indikaatorid vajalikud. Söötmele lisandatult peab sobiv indikaator muutma oma värvust, nii et viimase varjundid varieeruksid koos söötme vesinikioonide kontsentratsiooni muutustega.

Kui valmistame vastavatest ainetest (primaarsed ja sekundaarsed fosfaadid, happed ja nende alkalisoolad jne.) mitmesuguse vesinikioonide kontsentratsiooniga puhver- ehk standardlahused, mis on ühtlasi hästi kontrollitud elektromeetrilise meetodi abil, ja lisandame neile mainitud indikaatorit, siis saame värvuselt erinevad lahused. Võrreldes neid uuritava söötme värvusega pärast sama indikaatori lisandamist, saame teada söötme pH väärtuse.

Kolorimeetriliste meetodite puhul võivad määramist segada söötmete värvus ja sageli esinev sade. Arvesse võttes, et söötmed on harilikult puhverlahused, millede vesinikioonide kontsentratsioon muutub tegelikult vähe või ei muutu üldse, kui söödet lahjendame 2—3 korda veega, võib tarbe korral söödet lahjendada, mis kõrvaldab suurel määral tema värvuse ja sademe takistava toime reaktsiooni määramisel.

Kolorimeetrilisi meetodeid on palju, kuid mainime nendest vaid tähtsamaid.

Michaelis'e püsivate indikaatorite meetod. Ühevärvilistest nitrofenoolidest valmistatakse järgmised põhilahused destilleeritud vees: 0,3% m-nitrofenool, 0,1% p-nitrofenool, 0,25% γ-dinitrofenool ja 0,05% α-dinitrofenool. Need lahused püsivad hästi. Nendest valmistatakse destilleeritud veega lahjenduse ja 0,1 n-naatriumkarbonaadi lahuse lisandamise abil indikaatorlahused, valatakse neutraalsest klaasist katsuklaasidesse ja joodetakse tulel kinni. Indikaatorlahused on nii valmistatud, et iga astmete vahe on pH 0,2. Indikaatorite klaasid asetatakse püsti alustele, mis viibivad valguse eest kaitstult kastis. Nende abil on võimalik määrata söötmete reaktsiooni pH 2,8—8,4 vahel, millest jätkub harilikkude söötmete valmistamisel.




71. joon. Komparaator. A — sööde + indikaator; B — destilleeritud vesi; C — sööde + 1 cm³ vett; D — püsiv indikaator; E — vaatamisava.

Reaktsiooni määramisel lahjendatakse vedelat söödet tarbe korral 1:2 või 1:3 destilleeritud veega; tahkeid söötmeid sulatatakse alul vesivannis ja siis lahjendatakse. Võetakse 4 katsuklaasi, mis on täpselt niisama laiad, kui indikaatorite klaasid. Kahte klaasi võetakse kumbagi 6 cm³ lahjendatud või lahjendamata vedelat söödet ja mahutatakse komparaatori aukudesse A ja C. Klaasile A lisandatakse 1 cm³ sobiva (alul proovida) indikaatori põhilahust ja klaasile C lisandatakse 1 cm³ destilleeritud vett. B auku (A vastas) mahutatakse katsuklaas destilleeritud veega ja D auku mahutatakse indikaatorite reast üks või teine klaas püsiva indikaatoriga, võrreldes vaatamisavade läbi selle värvust A augus viibiva söötme värvusega. Ühtivad värvused, siis vaadatakse indi-

kaatoril märgitud pH väärtust, mis vastab uuritava söötme pH väärtusele. Paremaks võrdluseks hoitakse komparaatori taga mattklaasi või läbipaistvat sinist klaasi. Tarbe korral võib söödet lahjendada kuni 1 : 10 ilma suurema veata. Lahjendamiseks on parem kasutada bidestilleeritud vett (71. joon.).

Jooksvaks bakterioloogiliseks tööks küllaldase täpsusega võib söötmete reaktsiooni (pH 6,4—8,4) määrata fenoolpunase testpaberi abil (firma Freye, Braunschweig, pH-testpaber). Selleks asetatakse fenoolpunase paberi riba uuritavasse söötmesse, kus paberi värvus muutub vastavalt vesinikioonide kontsentratsioonile. Söötmest väljavõetud paberi värvust võrreldakse ligilisatud värviliste indikaatorproovidega, mille alusel määratakse söötme pH väärtus. Lisandades söötmele tilkade viisi 4% NaOH või 4% HCl-lahust ja proovides reaktsiooni korduvalt fenoolpunase paberiga, võib saada ilma suurema vaevata söötme soovitava pH väärtuse, mis on kokkukõlas elektromeetriliste meetoditega kontrollimisel saadud pH väärtusega (J. Hohn).

Umbes samuti toimetatakse pH väärtuse määramist, kuid eelmisest laiemates piirides, vastavate indikaatoritega immutatud tselluloosmembraanide abil (Folienkolorimeter nach Wulff).

Praktiliselt, lihtsalt, kuid küllaldase täpsusega saab söötmete pH väärtust määrata järgmiste indikaatorlahuste abil: 0,04% broomkresoolpurpuri (kollase-purpuri pöördeala pH 5,2—6,8), 0,04% broomtümoolsinise (kollase-sinise pöördeala pH 6,0—7,6) ja 0,02% fenoolpunase (kollase-punase pöördeala pH 6,8—8,4) lahustega 95° alkoholis. Lisandades mainitud lahuseid söötmele, muutub söötme värvus vastavalt pH väärtusele, mida võib täpselt võrrelda standard-puhverlahuste värvusega, milledele lisandati mainitud indikaatorlahuseid. Teatava vilumuse puhul võib võrdlemisi täpselt määrata pH väärtust lihtsa vaatamise teel.

**Mikroobide kasvatamine ja puhtate kultuuride isoleerimine.**

Mikroobide kasvatamiseks peab neid külvama soodsasse steriilsesse söötmesse ja hoidma söödet optimaalses soojuses. Külvamise puhul ei tohi pääseda söötmesse juhuslikke mik-

roobe ümbrusest, samuti ei tohi külvamisega vigastada mikroobe (kuum instrument, desinfitseerivate ainete juurdepääsemine jne.). Kui ruumis on palju tolmu või külvatud mikroobid on väga ohtlikud, siis toimetatakse külvamist sellekohases klaaskapikeses, kuhu ainult töötaja käed sisse pääsevad.

Vedelasse söötmesse külvamiseks võetakse katsuklaas või kolb vedela söötmega; puuvillkorke keerutatakse paar korda, et neid vabalt võiks ära võtta. Nõu söötmega ja võimaluse korral ka külvatava ainega võetakse vasakusse kätte ja hoitakse längus. Parema käe esimese ja teise sõrme vahele võetakse plaatinanõel, põletatakse tules ja lastakse jahtuda. Kork külvatava ainega klaasilt võetakse parema käe teise ja kolmanda, kolmanda ja neljanda sõrme või viienda sõrme ja peopesa vahele. Plaatinanõel juhitakse nõusse nii, et see kokku ei puutuks nõu servadega, kastetakse külvatavasse ainesse ja võetakse kohe välja. Nõusuu servi põletatakse tules ja klaas kaetakse puuvillkorgiga. Siis avatakse samuti söötmega klaas, plaatinanõel juhitakse söötmesse, loksutatakse kergelt söötmes, nõu servi põletatakse tules ja kaetakse korgiga. Plaatinanõel steriliseeritakse tulel kohe pärast külvamist. Nõule kleebitakse etikett ja märgitakse sellele külviaeg ning külvatud aine nimetus.

Joonkülviks tahkele söötmele juhitakse külvatava ainega kokkupuutunud plaatinanõel või aas söötmega katsuklaasi, nõela ots surutakse kergelt vastu klaasi põhja ligidal olevat längus söötmepinda ja tõmmatakse kas õige või loogelise joonena söötme ülemise servani.

Pistkülviks võetakse nõu tahke söötmega vasakusse kätte ja hoitakse vertikaalselt sõrmede vahel, põhjaga ülespoole. Sirge plaatinanõel võetakse paremasse kätte, põletatakse tulel, jahutatakse, kastetakse külvatavasse ainesse ja juhitakse söötme pinna keskkoha vastu; siis lastakse klaasi vajuda oma raskusega, kuni nõela ots ulatub söötme põhjani, ja tõmmatakse sama joont pidi jälle välja. Pistkülvi joon peab olema sirge; lateraalseid söötme osasid ei tohi külvamise aegu purustada.

Pasteuri pipeti abil toimetatakse külvamist, kui soovitakse korraga suuremat hulka vedelat ainet edasi külvata. Kui külva-

takse ainet söötme suurele pinnale (Roux', Soyka, Erlenmeyer'i kolbides jne.), siis lastakse nõu söötmega seista laual, külvatakse aine söötmele ja nõu tõstetakse ainult pärast külvamist avause servade põletamiseks tulele.

Kui ei ole teada külvatavate mikroobide kasvu optimaalne soojus, siis peab mitu külvi tegema ja kasvatama ühel ajal mitmesuguses soojuses; harilikult sobib selleks 15—20° C, 25—30° C ja 36—38° C t°. Kui kåsvatamist tuleb toimetada pika aja kestel, siis peab kultuurinõude avaused enam-vähem õhukindlalt sulgema, et sööde ära ei kuivaks. Selleks on mitu võimalust: puuvillkorgid kaetakse kummist või vahapaberist mütsikestega või puuvilla välimist osa põletatakse tulel, kork surutakse sügavamale avausse ja viimane kaetakse plastooliga või mingi teise massiga, või katsuklaasi avaused kaetakse eriliste alumiiniummütsidega. Külvide kasvu jälgitakse iga päev 1—2 korda ja märgitakse kasvu algus ning areneva kultuuri kuju, värvus ja teised omadused.

Puhtate kultuuride isoleerimine. Mikroobide isoleerimine uuritavast ainest puhta kultuurina on esimeseks ülesandeks, kui kavatsetakse põhjalikumalt uurida ühe või teise mikroobi morfoloogilisi, füsioloogilisi ja antigeenseid omadusi.

Aeroobsete mikroobide isoleerimismeetodeid on väga palju. Nendest on osa üldised, mida tarvitatakse siis, kui ei ole teada, missuguse mikroobiga on tegemist. Säärasel korral peab uuritavat ainet külvama kohe mitmesuguse koostisega söötmeile, mis suurendab ülesande õnnestumise võimalusi. Erimeetodeid kasutatakse sääraseil juhtumeil, kui ülesanne on piiratud tuntud omadustega mikroobi isoleerimisega.

Laskumata tehnilistesse detailidesse, anname siinkohal lühikese kirjelduse üldisema iseloomuga meetodeist, milledega ligem tutvumine vajab korduvaid praktilisi harjutusi.

Lahjendamine želatiinsöötmega. Võetakse kolm katsuklaasi steriliseeritud želatiinsöötmega; želatiin sulatatakse vesivannis ja jahutatakse kuni 30—35° C. Klaasi I külvatakse uuritavat ainet steriilse pipetiga või plaatina-aasaga. Segada mikroobide dissemineerimiseks, veeretades klaasi käte vahel. Mitte

loksutada, sest siis tekiks vaht ja söötmesse jääksid õhumullid. Klaasist I külvatakse steriilse Pasteuri pipetiga mõni tilk või plaatina-aasaga 1—3 aasatäit klaasi II ja segatakse. Samuti külvatakse klaasist II edasi klaasi III. Sel teel saame kolm lahjendit, milledest klaas III sisaldab kõige vähem mikroobe.

Võetakse 3 steriliseeritud Petri kaussi ja katsuklaaside sisaldis valatakse eraldi kaussidesse ning lastakse hanguda (tarbe korral erilise jahutusaparaadi pinnal). Kaussidele tehakse vastavad märgid ja mahutatakse termostaati 20—22° C t°. Kui ei ole vastava soojusega termostaati, siis võib mikroobe kultiveerida toatemperatuuris.

Igast eluvõimelisest mikroobist kasvab söötmes eraldatud pesa. Hästi isoleeritud pesast tehakse külv puhta kultuuri saamiseks mõnda söötmesse (puljong, agar, želatiin) ja uuritakse saadud puhast kultuuri.

Želatiini tarvitatakse peamiselt saprofüütide isoleerimiseks (vee ja teiste välismaailmast saadud materjalide uurimisel). Ta on vähekõlvuline patogeensete mikroobide isoleerimiseks: sulab soojuses, mis on tarvilik enamiku patogeensete mikroobide kasvamiseks (37—38° C); kasv on pikaldane (mitu päeva); mõnede pesade ümber vedeldub sööde, mis takistab uurimist. Želatiinsöötme heaks omaduseks on, et ta sulab säärases soojuses, mis ei vigasta külvatavaid mikroobe, ja et želatiinis kasvavad mikroobipesad on eriti iseloomulikud.

Lahjendamine agarsöötmega. Võetakse 3 katsuklaasi agarsöötmega. Agar sulatatakse keevas vees (100° C) ja lastakse jahtuda kuni 42—44° C.

Klaasidesse külvatakse uuritavat ainet ja valmistatakse lahjendid samuti kui želatiini tarvitamise korral. Siin peab kiiresti töötama, sest vastasel korral hangub agar ja ilmuvad tükid. Et seda ära hoida, hoitakse klaasid vesivannis 42—44° C t°-s, kuni lahjendeid valmistatakse. Samuti peab soojendama Petri kausside põhju kas tulel või mõnel 42—44° C soojal pinnal, et võimalik oleks väljavalatavat agarit ühtlaselt laiali ajada kausi põhjal.

Hangunud agariga kausid mahutatakse termostaati 37—38° C soojusse. Kausside põhjad pööratakse ülespoole, et kondensatsi-

oonivesi ei koguneks kultuuri pinnale, mis võib takistada isoleerimist.

Lahjendamiseks vedelikkudega, millel on praegusel ajal rohkem ajalooline tähtsus, võetakse rida katsuklaase steriilse puljongsöötmega. Uuritavast ainest võetakse tilk või aasatäis esimesse klaasi ja segatakse puljongiga hoolega segi. Sellest viiakse üks tilk teise klaasi ja segatakse loksutamise teel hoolega segi. Edasi viiakse teisest klaasist kolmandasse üks tilk segu, ja nii edasi, kuni võib arvata, et mõnda viimastest klaasidest sattus ainult üks mikroob. Kasvatatakse ja uuritakse, missuguses klaasis leidub puhas kultuur.

See Lister'i poolt soovitatud meetod on tülikas ja sageli ei anna soovitavaid tulemusi.

Dissemineerimine tahkete söötmete pinnale. Seda toimetatakse harilikult katsuklaasides või Petri kaussides.

Katsuklaasid längagariga lastakse enne tarvitamist seista, kuni agari pind pisut kuivab. Plaatina-aasaga võetakse väike hulk uuritavat ainet ja hõõrutakse söötme pinnale laiali, alates põhjapoolsest osast ja minnes ülespoole. Sama aasaga, mille külge jäi osa ainest, hõõrutakse söötme pinda teises klaasis. Siis hõõrutakse sama aasaga söötme pinda kolmandas klaasis. Külvatud katsuklaasid mahutatakse termostaati 37—38° C t°-s.

Selle meetodi tarvitamisel vabaneb aas kord-korralt mikroobest. Esimeses klaasis asetseva söötme pinnal kasvab suur hulk pesi, teises klaasis vähem ja kolmandas klaasis veel vähem; viimases võib leida isoleeritud mikroobipesi.

Isoleerimine Petri kaussides. Vesivannis sulatatud agarsööde valatakse Petri kaussidesse ja lastakse täielikult hanguda (soovitav enne külvi 20—30 min. kuivatada termostaadis). Plaatina-aasaga võetakse tilk uuritavat ainet kausis asetseva agari pinnale, avades kausi kaant ettevaatlikult, et mikroobid õhust sisse ei pääseks. Siis võetakse tules steriliseeritud ja täielikult jahtunud Drigalski kepike (roobitaoliselt kõveraks painutatud klaaspulk), traadist valmistatud kolmnurkse otsaga labidake või klaasist valmistatud erilised nööbisarnased esemed ja määritakse

aine söötme pinnale laiali. Osa ainest ühes mikroobidega jääb määrimisinstrumendi külge. Sama instrumendiga määritakse (kerge hõõrumise teel, et ei puruneks söötme pind) teise, kolmanda, neljanda jne. kausi söötme pinda (mida rohkem on aines mikroobe, seda rohkem peab võtma kausse). Kausid mahutatakse termostaati 37—38° C t°-s. Isoleeritud mikroobipesi võib oodata viimseis kaussides.

Uuritava aine laialihõõrumist võib veel järgmiselt toimetada: plaatinanõelaga võetakse ainet; sellega tõmmatakse Petri kausis oleva söötme pinnale õiged paralleelsed jooned, mis asetsevad üksteisest mõne millimeetri kaugusel. Igale joonele jätab nõel kordkorralt vähem mikroobe. Isoleeritud pesi leidub peamiselt viimseis joontes.

Sisaldab uuritav aine palju mikroobe (näit. roojas jt.), siis võetakse sellest väike osa ja lahjendatakse mõnes $cm^3$-s steriilses füsioloogilises söögisoola lahuses, millest pärast aasaga külvamiseks võetakse.

Erilisist isoleerimismeetodeist kirjeldame siinkohal kõige tarvilikumaid.

Aine soojendamine. Me teame, et enamik eosteta mikroobe sureb lühema või pikema aja jooksul 60° C t°-s, kuna eostega mikroobid kannatavad 80—100—110° C t° pikema aja jooksul. Sellest näeme, et eostega mikroobe võib eraldada eosteta mikroobidest, kui soojendada segu mõne minuti jooksul temperatuuris 80—100° C ja külvata siis soojendatud aine vedelasse söötmesse või tahke söötme pinnale. Peab valvama, et soojendamise korral soovitav temperatuur toimiks ühteviisi kogu segule. Kuumutamist toimetatakse vesivannis 5—10 min. kestel.

Kultiveerimine mitmesuguses soojuses. Me teame, et mikroobid võivad kasvada väga mitmesuguses soojuses, kuid sigimise seismajäämise temperatuur on paljudel mikroobidel erinev. Külvame näiteks aine, mis sisaldab *Esch. coli* ja teisi mikroobe, söötmesse ja kasvatame 43° C t°-s, siis sigib peamiselt *E. coli*, mis esineb kultuuris teistest suuremal arvul. Et täielikult elimineerida *E. coli*, peab tarvitama korduvat kultiveerimist mainitud tingimusis. Paljud termofiilsed ehk soojalembesed mikroo-

bid sigivad 65—70° C t°-s, mida ei kannata teised eosteta mikroobid. Neid on kerge isoleerida, kasvatades kultuuri 65—70° C t°-s.

Isoleerimine elektiivsete söötmetega. Praegusel ajal tarvitatakse isoleerimiseks söötmeid, mis on soodsad kasvuks ühele mikroobiliigile ja vähemsoodsad teisele (relatiivne elektiivsus).

Nagu ülalpool kuulsime, lisandatakse harilikele söötmeile aineid, mis takistavad enamiku mikroobide kasvu ega avalda sellist toimet mikroobidele, mida soovitakse isoleerida. Näiteks sigivad pärmseened ja hallitusseened hapu reaktsiooniga söötmes. Enamik gram-positiivseid mikroobe ei kasva söötmeis, milledele on lisandatud 1:10 000 gentsiaanavioletti. Samaks otstarbeks kasutatakse ka indikaator-söötmeid.

Eelkultuurid. Kui uuritav aine sisaldab väikesel arvul neid mikroobe, mida soovitakse isoleerida, siis võib nende isoleerimist sel teel kergendada, et külvatakse aine ühte või teise elektiivsesse vedelasse söötmesse ja kasvatatakse. Saadud segakultuur sisaldab palju suuremal arvul otsitavaid mikroobe kui uuritav aine ja nende isoleerimine on märksa kergendatud. Seesuguseid eelkultuure tarvitatakse paljudel kordadel: *Vibrio comma* — peptoonivees, *E. typhosa* — sapis jne.

Mikroobide surmamine. *M. tuberculosis*'e isoleerimiseks rõgast, mädast, organitest ja teistest ainetest tarvitatakse meedodit, kus uuritavale ainele lastakse toimida niisuguse aine lahust, mis surmab kõik teised mikroobid ja jätab *M. tuberculosis*'e eluvõimeliseks. Selleks on kõige kohasemad 4% NaOH, 5—10% $H_2SO_4$ või HCl lahused. Vastavalt aine konsistentsile segatakse näiteks üks osa ainet ühe või mitme osa 4% NaOH-lahusega, loksutatakse hästi segi, hoitakse 30 min. termostaadis 37° C t°-s, loksutatakse veel kord segi ja hoitakse 30 min. 37° C t°-s termostaadis; tsentrifuugitakse 10—15 min., eraldatakse pealmine vedelik, sadet neutraliseeritakse mõne tilga 10% soolhappega ja külvatakse vastavale söötmele. Külvama peab mitmesse (5—10) klaasi, sest igaühes ei ilmu kasv puhta kultuurina.

Inokuleerimine loomadele. Kui on tegemist patogeensete mikroobidega, siis võib neid isoleerida, süstides ainet

vastuvõtlikkudele loomadele. Niisugusel korral sigib infitseeritud looma organismis temale eriliselt patogeenne mikroob kõige kiiremini ja sageli päris puhta kultuurina. Näiteks *Diploc. pneumoniae* isoleerimiseks rögast, mädast jne. süstitakse ainet valgele hiirele nahaalusi. Loom sureb ja tema veres leidub *D. pneumoniae* puhta kultuurina.

Üherakukultuur. Eelmiste meetodite abil saadud puhtate kultuuride kohta ei saa iga kord väita, et need oleksid arenenud ainult ühest rakust, mis on hädavajalik mikroobide variaabluse uurimisel. Senisoovitatud paljudest üherakumeetoditest mainime siinkohal ainult üksikuid.

Tušimeetod (Burri). 10 $cm^3$ destilleeritud veega 1:10 lahjendatud hiina tušš (Pelikantusche Nr. 541 — Grübler) valatakse katsuklaasi ja steriliseeritakse autoklaavis 30 min. 0,5 atmosfääri rõhu all. 2 nädala kestel täielikult loksutamata seisnud tuši pinnaosast võetakse steriilse plaatina-aasaga (5 mm läbimõõt) 4 suurt tilka eraldi täielikult rasvavabale steriilsele esemeklaasile. Väikese aasaga (1 mm läbimõõt) võetakse võimalikult noorest (6 tundi vana) puljongkultuurist või kultuurist tehtud suspensioonist üks aasatäis ja segatakse ühe tilga tušiga. Sellest võetakse üks aasatäis ja segatakse 2 tilgaga ja nõnda edasi. Puhtaks pestud, kuivatatud ja tulel steriliseeritud (mitte hõõgumiseni kuumutada) ning jahutatud tušisuleotsaga, hoides sulge peaaegu perpendikulaarselt, puudutatakse 3. või 4. tušitilka. Siis võetakse Petri kauss želatiin- või mõne teise, mikroobile soodsa, kuid hästi läbipaistva söötmega, mille pinnale asetatakse sule otsast üksteisest eemale väikesed tušipunktid. Selleks puudutatakse ainult sule otsas rippuva tušitilga pinda söötmega, et vältida söötme pinna purunemist. Tilgad kaetakse kohe kateklaasidega ja uuritakse mikroskoobi abil, kus mikroobid paistavad heledatena tumedate tušiosade vahel. Need tilgad, kus viibib ainult üks mikroob, märgitakse ja Petri kausid hoitakse uuritava mikroobi kasvuks soodsas soojuses. Kui ilmub nähtav pesa, siis võetakse kateklaas pealt ära ja tehakse edasikülvid. Hapnikulembeste mikroobide kasvu kiirendamiseks võib kateklaasi juba varemini ära võtta.

Lahjendusmeetod (Chamlers). Tugevasti lahjendatud

mikroobide suspensiooni pistetakse kapillaarpipett, mille ots on tulel nõelaks tõmmatud; nõela ots murtakse vastu nõuseina ära, mille tagajärjel kapillaarpipett täitub suspensiooniga. Siis kinnitatakse pipett erilisele hoidjale (mikromanipulaator), lastakse steriilsele kateklaasile eraldi mitu väikest suspensioonitilka ja uuritakse rippuvate tilkadena mikroskoobis. See tilk, mis sisaldab ainult üht mikroobi, imetakse teise kapillaarpipetti ja külvatakse vastavale söötmele.

Lahjendatud suspensioonist on võimalik mikroskoobiga kontrollides ka otsekohe kapillaarpipeti abil kinni püüda ühte mikroobi, milleks on ehitatud mitmesugused mikromanipulaatorid (Janse ja Peterfi jt.) kapillaarpipeti hoidmiseks ja sellega imemiseks.

Raskendatud on üherakumeetodiga kultuuride saamine anaeroobseist mikroobest. On teada, et anaeroobide kultuuride ümberkülvamisel sageli siis kasv ei arene, kui külvati edasi väike arv mikroobe, kuna kasv areneb sama mikroobi suurema hulga edasikülvamise puhul. Võib-olla on siin tegemist kannibalismi fenomeniga (Kollath), kus mõned mikroobid kasvuks oma surnud kaaslaste rakusubstantse kasutavad.

## XXXV peatükk.

## Anaeroobide kultiveerimine.

Anaeroobsete mikroobide kultiveerimismeetodite pea-ülesandeks on kõrvaldada vaba hapnik söötmest ja hoida kultuurid hapniku juurdepääsemise eest kaitstult kogu kasvu ajal. Selle otstarbe saavutamiseks soovitatakse mitmesuguseid meetodeid.

Keetmine. Võetakse katsuklaasid, mis sisaldavad rohkesti ($^2/_3$—$^3/_4$ klaasi) kuumust kannatavat söödet, ja keedetakse neid 10—30 min. vesivannis 100° C t°-s, mille tagajärjel eraldub söötmest õhk ühes hapnikuga. Lastakse neid kiiresti jahtuda külmas vees; parem on katta klaasid enne jahutamist hermeetiliselt kummi-

korkidega või valada vedelate söötmete pinnale 2—3 cm kõrgune kiht steriliseeritud vaseliinõli. Kui külvata sel teel saadud söötmesse nõelapistega uuritavat ainet, siis ilmub nendes anaeroobide kasv (iseäranis sügavais osades). Sel teel valmistatud vedelad ja tahked söötmed kõlbavad peamiselt anaeroobsete mikroobide kultuuri alalhoidmiseks.

Inertne gaas. Anaeroobsed mikroobid võivad kasvada puhastatud vesiniku või lämmastiku juuresolekul. Laseme inertse gaasi toru kaudu, millesse on asetatud steriilne puuvill õhu mikroobide kõrvaldamiseks, voolata läbi vedela söötme, siis viib ta söötmest kaasa õhu ühes hapnikuga. Selleks võetakse suur katsuklaas või Erlenmeyer'i kolb vedela söötmega, külvatakse uuritav aine sisse, kaetakse kummikorgiga, mille läbi tungivad kaks klaastoru (välisotsad kõveraks painutatud, otstes puuvill) — üks neist ulatub läbi söötme kuni nõu põhjani, teine aga veidi allapoole korki. Söötmest lastakse läbi inertne gaas, kuni see kogu õhu enesega kaasa viib. Selle järel suletakse klaastorude välisotsad ja kultiveeritakse mikroobe termostaadis.

Hapniku absorbeerimine. Ekssikaatorisse või mõnda teise õhukindlalt suletavasse nõusse mahutatakse anaeroobidega külvatud söötmed. Nõu põhja asetatud 1 g *acid. pyrogallicum*'ile valatakse peale 10 $cm^3$ 10% KOH või NaOH vesilahust ja nõu suletakse kiiresti õhukindlalt. Mainitud hulk leelisese *acid. pyrogallicum*'i segu on küllaldane hapniku absorbeerimiseks 100 $cm^3$ õhuruumist. Segu muutub alul pruuniks ja lõpuks mustaks.

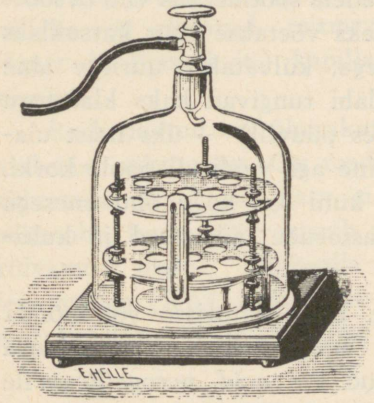
Õhu väljapumpamine. Kui soovitakse kasvatada suuremat hulka anaeroobseid kultuure, siis võetakse paksude seintega suuremad ekssikaatorid või selleks valmistatud erilised aparaadid, milledest õhk vaakuumpumba abil välja pumbatakse (õli- või veepumbad). Hapniku täielikumaks kõrvaldamiseks võib seda meetodit kombineerida hapniku absorbeerimismeetodiga, või asendada väljapumbatud õhk inertse gaasiga (72. ja 73. joon.).

Buchner'i meetod. Hapnikuvaba ruumi saamiseks võetakse suur katsuklaas, kitsusega alumises osas või klaaspulgakesega põhjas, mille põhja valatakse värskelt valmistatud *acid. pyrogalli-*

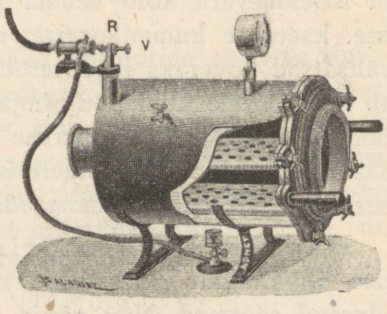
*cum*'i + KOH segu. Sellesse katsuklaasi mahutatakse väiksem katsuklaas anaeroobide külviga ja kultiveeritakse termostaadis.

Tarozzi meetod. Katsuklaasidesse võetakse rohkesti vedelat või hangumiseni jahutatud tahket söödet ja lisandatakse igaühesse tükike värsket steriilselt väljalõigatud jänese, merisea või hiire maksa, põrna, neeru või lümfinääret. Klaasid lastakse seista steriilsuse kontrolliks 1—2 päeva termostaadis ja steriilseid klaase kasutatakse anaeroobide külvamiseks.

Määratust hulgast meetodeist, mis seni on soovitatud anaeroob-




72. joon. Aparaat anaeroobide kasvatamiseks. (Besson'i järgi.)




73. joon. Termostaat anaeroobide kasvatamiseks. (Besson'i järgi.)

sete mikroobide kasvatamiseks ja isoleerimiseks, on kõige otstarbekohasemad need, kus vaba hapnik kõrvaldatakse täielikult kasvatamisruumist hapniku põletamise (McIntosh ja Fildes, Brown jt.) teel või õhu väljapumpamise ja $O_2$ absorbeerimise abil.

Anaeroobide isoleerimisel ja puhtate kultuuride saamisel tarvitatakse üldiselt samu meetodeid kui aeroobide isoleerimisel (lahjendamine, söötme pinnale määrimine, aine kuumutamine, süstimine loomadele jne.).

Anaeroobide kasvatamiseks ja isoleerimiseks on peale ülalmainitu väga suure tähtsusega kunstliku söötme koostis, milles neid kultiveeritakse. Juba ammu pandi tähele, et anaeroobid kas-

vasid paremini neis söötmeis, milledele oli lisandatud hapnikku absorbeerivaid aineid, nagu värskete organite tükikesi, toore või steriliseeritud kartuli tükikesi, glükoosi, *natr. formicicum*'i, *ferrum reductum*'it jne. Erisöötmeist on osutunud kõige kohasemaiks järgmised.

Maksapuljong, milleks võetakse harilik liha-peptoon-puljong ja lisandatakse iga 8 $cm^3$ kohta 3—4 g merisea värsket maksa ning steriliseeritakse 60 min. 110° C t°-s autoklaavis.

Maksapiima, mis on anaeroobide kasvuks väga soodus, valmistatakse samuti kui eelmist söödet.

Ajupudru valmistamiseks võetakse hiljemalt 24 tundi pärast surma inimese või looma aju, vabastatakse ajukelmest ja aetakse läbi lihahakkimismasina. Kaks osa ajumassi segatakse ühe osa kraaniveega (mitte hapu reaktsiooniga) ja hõõrutakse läbi traatsõela. Saadud massi keedetakse Koch'i aparaadis 2 tundi õhu väljaajamiseks. Siis mahutatakse ajupuder katsuklaasidesse, umbes 10 $cm^3$ igasse klaasi, ja steriliseeritakse 2 tunni kestel autoklaavis 110° C t°-s.

Glükoos-veriagarsööde. Võetakse 60 $cm^3$ 1,5—3% lihapeptoon-puljongagarit pH 7,2, mis sisaldab 2% glükoosi, ja valatakse suurde (25×2,5 cm) Jena klaasist katsuklaasi, kaetakse pealt puuvillkorgiga, steriliseeritakse 30 min. autoklaavis 110° C t°-s ja hoitakse tagavaraks jääkapis. Tarvitamise eel sulatatakse sööde Koch'i aparaadis või vesivannis ja jahutatakse kuni 45° C. Lisandatakse aseptiliselt 12—15 $cm^3$ inimeselt või veiselt tõmbsoone punktsiooni teel saadud värsket verd; klaasi längu laskmise ja käte vahel keerutamise abil segatakse veri hästi söötmega (mitte loksutada) ja segu valatakse 3—4 Petri kaussi, lastakse hanguda ja hoitakse 20 min. termostaadis 37° C t°-s lahtiselt, söötme pinnaga allapoole. Et müügil leiduvate agar-agarite hangumistäpid erinevad, siis ei ole võimalik määrata iga agari soodsat hulka söötmes proovimata, milleks valmistatakse söötmed agari varieeruva hulgaga ja kasvatatakse kontrolliks *Bac. Chauvoei*.

$CO_2$-rikas atmosfäär. On selgunud, et mõned mikroobid kasvavad paremini atmosfääris, mis sisaldab 10—20% $CO_2$-gaasi (Wherry ja Erwin, Cohen ja Fleming, Gates jt.). *Neisseria intracellularis*'e ja *N. gonorrhoeae* kultuuride kasv on lopsakam

$CO_2$ toimel ja *Brucella abortus*'e (Bang) isoleerimine haige organismi mahladest ja kudedest on märksa kergendatud, kui kasvu ruumis on umbes 10% $CO_2$. *C. diphtheriae* kasvu ja toksiini valmistamist soodustab kasvuruumi aeratsioon õhuga, mis sisaldab 5—10% $CO_2$-gaasi (Plastridge ja Rettger). $CO_2$ reguleerib vesinikioonide kontsentratsiooni ja pidurdab oksüdatsiooniprotsesse söötmes.

10% $CO_2$ sisaldava õhu saamiseks imetakse kasvuruumist välja õhku 0,1 atmosfääri (76 mm) ja lastakse asemele Kipp'i aparaadist (HCl + marmor) või süsihapet sisaldavast silindrist sama hulk $CO_2$-gaasi. Sama kasvutingimuse saame, kui võtame õhukindlalt suletava klaaspurgi, mille kaane läbi ulatuvad purki kaks kraaniga toru (üks ulatub nõu põhjani); asetame nõu põhja küllaldase hulga $NaHCO_3$, mahutame kultuurid sisse ja katame nõu kaanega. Hoides mõlemad kraanid lahti, valame nõu põhja ulatuva toru kaudu juurde $H_2SO_4$ ja suleme kohe mõlemad kraanid. Säärasel korral vabaneb 10% $CO_2$ ühele liitrile mahule.

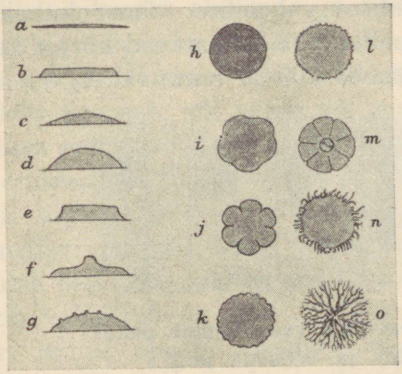
## XXXVI peatükk.

## Mikroobide indentifitseerimine.

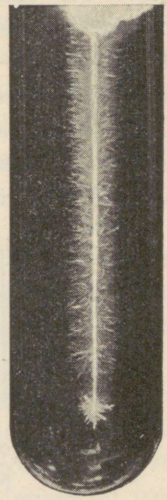
Saanud ühe või teise mikroobi puhta kultuuri, on tarvilik asuda mikroorganismi identifitseerimisele, milleks peab uurima tema morfoloogilisi, kultuuri ja biokeemilisi omadusi. On soovitav edaspidiseks võrdlemiseks fotografeerida värskelt isoleeritud mikroobi ja selle pesade kuju tähtsamatel söötmetel. Kõigi tarvilikkude omaduste uurimine nõuab sageli palju aega ja tööd, kusjuures kindluse mõttes on möödapääsematud mõnegi uurimise kordamised.

Morfoloogia jälgimisel on tarvilik märkida mikroobiraku kuju, mõõtmed, asetus teiste mikroobide suhtes, liikuvus, viburite arv ja asetus, eoste kuju ja asetus ning kihnude tekkimine. Täpsema pildi saamiseks nendest omadustest peab uurimist toimetama mitmesuguseil söötmeil kasvanud kultuuridel, kasutades elusate ja värvitud mikroobide uurimiseks ettenähtud meetodeid.

Kultuuride omadused on tähtsaks juhiseks mikroobide identifitseerimisel. Tahkel söötmel kasvavate pesade puhul peab tähele panema nende kuju, suurust millimeetrites, tõusengut söötme pinnalt, struktuuri, pinna välimust, servade ehitust, värvust, läbipaistvust, konsistentsi ja mikroobide suspendeerumist vees (74. joon.). Söötme pinnale joonkultuurina külvatud mikroobide kasvu korral peab märkima kultuuri rohkust, kuju, lõhna, muutusi söötmes ja pesade kohta




74. joon. Pesade kuju (skeem). a—g — pesade tõuseng söötme pinnalt; h—o — pesade servakuju. (Topley järgi.)

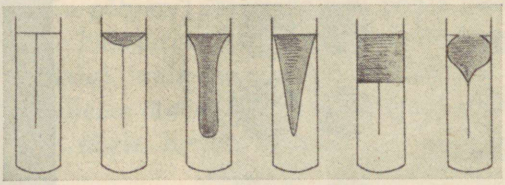


75. joon. *Bac. anthracis.* Pistekultuur želatiinis.

eespool mainitud teisi omadusi. Pistekultuuri puhul on harilikult ühele või teisele mikroobiliigile iseloomustavad kasvujoone intensiivsus söötme pinna- ja põhjaosas, kasv söötme pinnal, kasvujoone servad (75. joon.) ja želatiinsöötme vedeldumise arenemine (76. joon.). Vedelates söötmetes kasvavaid kultuure iseloomustavad kasvu hulk, tekkiva hägu välimus ja hulk; sademe hulk, välimus ja segunemine loksutamisel, pinnakasv ja selle iseloom, kultuuri värvus ja lõhn. Veriagarsöötmel kultiveerimise puhul peab jälgima hemolüüsi tekkimist ja hemolüüsipinna kuju ning värvust. Kultuuride uurimiseks peab

mikroobi kasvatama mitmesuguseil söötmeil, jälgides kasvu käiku ja kultuuri iseloomu alul vähemalt kord päevas, hiljemini 2—7 päeva järel.

Resistentsuse suhtes jagatakse bakterid kolme peagruppi. 1) Eosteta bakterid ja eostega bakterite vegetatiivsed vormid, mis on tundlikud madalamale $t^0$-le ja keemiliste desinfitseerivate ainete nõrgale kontsentratsioonile. Surevad 30 min. kestel 60° C $t^0$-s rõskuses ja 1 tunni kestel 1% fenoolilahuses. 2) Happeresistentsed bakterid, mis surevad 30 min. kestel 60° C $t^0$-s, kuid kannatavad keemiliste vahendite toimet külmas tundide kestel. 3) Eostega mikroobid, mis kannatavad kõrget kuumust (surevad 110° C $t^0$-s autoklaavis 20—30 min. vältel) ja surevad



76. joon. Želatiinsöötme vedeldumine pistekülvis. (Topley ja Wilson'i järgi.)

5% fenoolilahuses mõne tunni vältel. Resistentsuse katseks hoitakse mikroobi suspensioone 1 tund 55° C, 1 tund 60° C ja 30 min. 80° C $t^0$-s vesivannis ja tehakse kontrollkülvid soodsasse söötmesse.

Ainevahetuse selgitamiseks uuritakse mikroobi nõudlikkust vaba hapniku suhtes, kasvu piiri ja optimaalset temperatuuri, pigmendi valmistamist ja söötmete koostise mõju mikroobi kasvule.

Biokeemilistele reaktsioonidele osutatakse suurt tähtsust mikroobide identifitseerimisel. Suhkrute fermentatsiooni toimetatakse harilikult 1% peptoonivees, millele lisandatakse 1% keemiliselt puhast suhkrut ja indikaatorit happesuse määramiseks. Märgitakse happe ja gaasi tekkimist. Lakmuspiimale külvatakse juurde mikroobid ja jälgitakse reaktsiooni muutust ja piima kalgendumise iseloomu. Teistest reaktsioonidest on tähtsamad indooli,

nitraatide reduktsiooni, Voges-Proskauer'i, $H_2S$, ammoniaagi, metüleensinise reduktsiooni ja katalaasi proovid.

Antigeense struktuuri uurimiseks kasutatakse hulgast seroloogilistest reaktsioonidest peamiselt aglutinatsiooni ja komplemendi sidumist. Mõnede mikroobide identifitseerimiseks on seroloogilised reaktsioonid väga otstarbekohased ja kiiresti teostatavad. Seroloogilised reaktsioonid võimaldavad esile tuua erinevusi ka lähedalt sugulaste mikroobide vahel. Selles suhtes on nad väärtuslikumad biokeemilistest reaktsioonidest, osutudes sageli ainsaks meetodiks mikroobi alaliikide ja variantide diferentsimisel.

Patogeensuse määramiseks süstitakse laboratoorsetele katseloomadele uuritava mikroobi suspensiooni nahaalusi, lihastesse, kõhukoopasse või verre, või suspensiooni piserdatakse õhku, kust loom mikroobe sisse hingab. Patogeensuse katse abil on võimalik eraldada virulentseid tüvesid avirulentseist ja võrrelda kahe lähedalt sugulase mikroobitüve poolt esilekutsutud haigusnähte ja patoloogilisi muutusi haige looma organismis. Loomadele süstimise abil peab iga patogeense tüve kohta selgusele jõudma, kas mikroob valmistab *in vitro* ektotoksiini ja kas see on neutraliseeritav ainult samale toksiinile vastava antitoksiiniga, või toimub see ka lähedalt sugulase mikroobi poolt valmistatud toksiinile vastava antitoksiiniga.

Tundmatu mikroobi täielik identifitseerimine on sageli väga raske või koguni võimatu, sest ühe liigi piirides võib esineda hulk variante. Kui esinetakse mõne uue mikroobi kirjeldusega, siis on tarvilik ette tuua täielikult kõik uuritud iseloomustavad omadused ja nende võrdlused lähedalt sugulaste mikroobide omadustega.

## Mikroorganismide klassifikatsioon.

| Riik *Regnum* | Hõimkond *Phylum* | Klass *Classis* | Selts *Ordo* | Sugukond *Familia* | Perekond *Genus* |
|---|---|---|---|---|---|
| Taimed | *Schizophyta* ehk lagutaimed | *Schizomycetes Bacteria* | *Eubacteriales* | *Nitrobacteriaceae* | *Nitrobacter, Nitrosomonas, Nitrosococcus, Hydrogenomonas, Methanomonas, Carboxydomonas, Thiobacillus.* |
| | | | | *Rhizobiaceae* | *Rhizobium, Chromobacterium, Alcaligenes.* |
| | | | | *Pseudomonadaceae* | *Vibrio, Cellvibrio, Cellfalcicula, Spirillum, Pseudomonas, Phytomonas, Protaminobacter, Mycoplana.* |
| | | | | *Acetobacteriaceae* | *Acetobacter.* |
| | | | | *Azotobacteriaceae* | *Azotobacter.* |
| | | | | *Micrococcaceae* | *Micrococcus, Staphylococcus, Gaffkya, Sarcina.* |
| | | | | *Neisseriaceae* | *Neisseria, Veillonella.* |
| | | | | *Parvobaeteriaceae* | *Pasteurella, Malleomyces, Brucella, Hemophilus. Noguchia, Dialister.* |
| | | | | *Lactobacteriaceae s. Streptobacteriaceae* | *Diplococcus, Streptococcus, Leuconostoc, Lactobacillus, Propionibacterium.* |
| | | | | *Enterobacteriaceae* | *Escherichia, Aerobacter, Klebsiella, Erwinia, Serratia, Proteus, Salmonella, Eberthella, Shigella.* |
| | | | | *Bacteriaceae* | *Listerella, Microbacterium, Kurthia, Cellulomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Actinobacillus, Bacteroides, Fusobacterium, Bacterium.* |
| | | | | *Bacillaceae* | *Bacillus, Clostridium.* |
| | | | *Actinomycetalės* | *Mycobacteriaceae* | *Corynebacterium, Mycobacterium.* |
| | | | | *Actinomycetaceae* | *Leptotrichia, Erysipelothrix, Proactinomyces, Actinomyces.* |

| Riik *Regnum* | Hõimkond *Phylum* | Klass *Classis* | Selts *Ordo* | Sugukond *Familia* | Perekond *Genus* |
|---|---|---|---|---|---|
| Taimed | *Schizophyta* ehk lagutaimed | *Schizomycetes Bacteria* | *Chlamydobacteriales* | *Chlamydobacteriaceae* | *Sphaerotilus, Clonothrix, Leptothrix, Crenothrix.* |
| | | | *Caulobacteriales* | *Nevskiaceae* | *Nevskia.* |
| | | | | *Gallionellaceae* | *Gallionella.* |
| | | | | *Caulobacteriaceae* | *Caulobacter.* |
| | | | | *Pasteuriaceae* | *Pasteuria, Blastocaulis.* |
| | | | *Thiobacteriales* | *Rhodobacteriaceae* | *Thiocystis, Thiosphaera, Thiosphaerion, Thiocapsa, Thiosarcina, Lampropystis, Thiopedia, Thioderma, Lampropedia, Amoebobacter, Thiodictyon, Thiothece, Thiopolycoccus, Chromatium, Rhabdomonas, Thiospirillum, Rhodocapsa, Rhodothece, Rhodocystis, Rhodonostoc, Rhodorrhagus, Rhodobacterium, Rhodobacillus, Rhodovibrio, Rhodospirillum.* |
| | | | | *Beggiatoaceae* | *Thiothrix, Beggiatoo, Thioploca.* |
| | | | | *Achromatiaceae* | *Achromatium, Thiophysa, Thiospira, Hillhousia.* |
| | | | *Myxobacteriales* | *Archangiaceae* | *Archangium, Stelangium.* |
| | | | | *Sorangiaceae* | *Sorangium.* |
| | | | | *Polyangiaceae* | *Polyangium, Synangium, Melittangium, Podangium, Chondromyces.* |
| | | | | *Myxacoccaceae* | *Myxococcus, Chondrococcus, Angiococus.* |
| | | | *Spirochaetales* | *Spirochaetaceae* | *Spirochaeta, Saprospira, Cristispira, Borrelia, Treponema, Leptospira.* |

| Riik *Regnum* | Hõimkond *Phylum* | Klass *Classis* | Selts *Ordo* | Sugukond *Familia* | Perekond *Genus* |
|---|---|---|---|---|---|
| Taimed | *Euthallophyta* ehk pärisrakistaimed | *Archimycetes* | *Myxomycetales* | | |
| | *Mycetes* ehk seentaimed | *Phycomycetes* | *Phycomycetales (Oomycetes* ja *Zygomycetes)* | *Chytridiaceae* | *Coccidioides, Paracoccidioides, Rhinosporidium.* |
| | | | | *Peronosporaceae* | *Peronospora* |
| | | | | *Mucoraceae* | *Mucor, Lichtheimia, Rhizomucor, Rhizopus.* |
| | | *Ascomycetes* | *Endomycetales* | | *Endomyces.* |
| | | | *Saccharomycetales* | | *Debaryomyces, Endomycopsis, Hansenula, Saccharomyces.* |
| | | | *Plectascales* | *Aspergillaceae* | *Aspergillus, Sterigmatocystis, Penicillium, Scopulariopsis.* |
| | | | *Gymnoascales* | | *Achorion, Ctenomyces, Epidermophyton, Microsporum, Trichophyton.* |
| | | *Basidiomycetes* | *Basidiomycetales* | | |
| | | *Hyphomycetes Fungi imperfecti* | *Hyphomycetales* | *Arthrosporaceae* | *Geotrichum, Sarcinomyces, Trichosporum.* |
| | | | | *Blastosporaceae* | *Blastocystis, Blastodendrion, Candida, Mycocandida, Mycotorula, Cryptococcus, Torula, Torulopsis.* |
| | | | | *Sporotrichaceae* | *Rhinocladium, Sporotrichum.* |
| | | | | | *Histoplasma, Madurella, Malassezia.* |

| Riik *Regnum* | Hõimkond *Phylum* | Klass *Classis* | Selts *Ordo* | Sugukond *Familia* | Perekond *Genus* |
|---|---|---|---|---|---|
| Loomad | *Protozoa* ehk algloomad | *Rhizopoda* | *Amoebida* | *Amoebidae* | *Entamoeba, Endamoeba, Endolimax, Jodamoeba (= Pseudolimax), Dientamoeba.* |
| | | *Mastigophora (Flagellata)* | *Protomonadida* | *Monadidae* | *Craigia, Enteromonas, Tetramitus.* |
| | | | | *Trypanosomidae* | *Leptomonas, Crithidia, Herpetomonas, Phytomonas, Leishmania, Trypanosoma.* |
| | | | | *Embadomonadidae* | *Embadomonas.* |
| | | | | *Chilomastigidae* | *Chilomastix.* |
| | | | | *Cercomonadidae* | *Cercomonas, Tricercomonas.* |
| | | | | *Cryptobiidae* | *Trypanoplasma.* |
| | | | | *Trichomonadidae* | *Trichomonas.* |
| | | | *Diplomonadida* | | *Hexamita, Giardia.* |
| | | *Sporozoa* | *Coccidiida* | *Eimeriidae* | *Isospora, Eimeria.* |
| | | | | *Haemoproteidae* | *Haemoproteus, Leucocytozoon.* |
| | | | | *Plasmodiidae* | *Plasmodium.* |
| | | | | *Babesiidae* | *Babesia, Nuttallia.* |
| | | | | *Theileriidae* | *Theileria.* |
| | | | *Adeleida* | *Haemogregarinidae* | *Haemogregarina.* |
| | | | | *Hepatozoidae* | *Hepatozoon.* |
| | | *Ciliata* | *Heterotrichida* | | *Balantidium, Nyctotherus.* |

Bakterite liigitamine on tehtud 1939. a. ilmunud käsiraamatu Bergey's Manual of Determinative Bacteriology alusel.

Seente ja algloomade hulgast on esitatud klassifikatsioonitabelis ainult need liigid, mis erilist huvi pakuvad parasitoloogile. Seente liigitamisel on aluseks võetud E. Brumpt'i poolt avaldatud andmed (Précis de Parasitologie, Paris 1936). Algloomade liigitamisel on lähtutud C. M. Wenyon'i andmeist (Protozoology, London 1926).

# Register.

## A.


Absorptsioon 188
*Achorion* 61—62
*Actinomycetes* 20; fermendid 42, kolvid 42, morfoloogia 38—39, pigmendid 42, terad 40
Adsorptsiooni fenomen 183
Aeroobid 100
Aeroobide isoleerimine 360
Aerotaksis 102
Agar-agar 347
Aglutinatsioon 193; hape- 196, käärimis- 197, soola- 197, spontaan- 197, niit- 199
Aglutinatsioonreaktsioon 201—202
Aglutiniinid 193—195
Aglutinoskoop (Kuhn-Woithe) 202
Agressiinid 158
Aktinomükoos 43
Aktsessoorsed faktorid 168
Algloomad 19, 68—80; morfoloogia 69, tuum 70, viburid 73, liikumine 72—73, sigimisprotsessid 74—76
Allergia 170, 269
*Amoeba* 79
Ammoniaagi tekkimine 126
*Amphitricha* 27
Amülaas 121, 131
Anaeroobid 101; isoleerimine 368, kultiveerimine 366—370
Anafülaksia 257—270; aktiivne 259, alimentaarne 265, passiivne 260
Anafülaktiline šokk 258
Anafülaktogeen 258
Anafülotoksiin 262
Anamnestiline reaktsioon 250
Anatoksiin 159
Aniliinvee värvilahused 325
Aniliinvärvid 322
Anisogaamia 75
Anisogameedid 75
*Antheridium* 47
Antianafülaksia 261
Antifagiinid 159
Antifermendid 228—230
Antigeenid 180—182
Antikehad 182
Antisepsis 104
Antitoksiinid 16, 177; kontsentr. 245
Antitoksilised seerumid 224—228
Antitoksil. seer. titreerimine 225—228
*Archimycetes* 44
Aromaatsed mikroobid 140—142
Arthus'e fenomen 258
Artrospoorid 59
Ascoli reaktsioon 191
*Ascomycetes* 45
*Ascus* 47
Asepsis 104
Askospoor 47
Aspergilloos 51
*Aspergillus* 45, 49, 50
Asporogeenne generatsioon 32
Assimilatsioon 105
Autodesinfektsioon 173
Autogaamia 76
Autointoksikatsioon 104, 161
Autoklaav 14, 283, 306—307
Autotroofsed mikroobid 107


## B.


Babes-Ernst'i bipolaarsed terad 29, 332
*Babesia* 79
*Bacillus* 12, 21
*Bacterium* 21
Baktereemia 161
Bakterid 19, 20; eosed 31—33; kest 24, 25, liikumine 26, morfoloogia 20, protoplast 28, tuum 29, sigimine 30

Bakteriofaagid 85—87, 277
Bakteriofluorestseiin 118
Bakteriolüsiinid 210—212
Bakteriolüüs 210
Bakteriotropiinid 222—223
Bakteriotropiinide uurimine 223
Bakterite eritajad 164
Bakterite polüsahhariidid 158
Bakterite proteiinid 158
*Balantidium coli* 79
*Basidiomycetes* 45, 49
Basidiospoorid 47, 98
Bassi 12
Berkefeld'i filter 308
Bioloogiline assotsiatsioon 152
Blastomükoos 58, 60
*Blastomycetes* 58
Blepharoplast 71
Blokeerimine 176
*Borrelia* 38
Brown'i liikumine 26

C.

*Capitulum* (hallitusseentel) 49
*Capsula* 24—25
Castellani katse 203
Chamberland'i filter 308
*Chemotherapia* 293—296
*Chlamidozoa* 83
*Cilia* 73
*Ciliata* 79
*Citromyces* 51
*Claviceps purpurea* 44
*Clostridium* 21
*Coccobacterium* 21
*Coccus* 12, 21
*Colloidoclasia* 262
*Columella* 49
*Contagium animatum* 271;
*Contagium vivum* 8, 84, 271
*Corynebacterium* 21
*Cristospira* 37

D.

Danysz'i fenomen 227
Davaine 12
Degeneratsioon 22—24
Dekstraan 133
Denitrifikatsioon 144—146
Dermatofüüdid 61
*Dermatomycosis* 61
Desensibiliseerimine 261
Desinfektsioon 281; alkohol 287, eeter 287, eeterlikud õlid 290, fenool 288, formaldehüüd 288, happed 284, jooksev 282, kloor 290, klooramiinid 293, kloorlubi 287, kuum kuiv õhk 283, külm 284, leelised 284, lõpp- 282, profülaktiline 281, seebid 291, soolad 285—287, tuli 282, veeaur 283, värvained 290, vääveldioksüüd 289
Desinfitseeriva aine uurimine 296—298
Desulfuratsioon 149
*Dextrinasa* 121, 131
D'Hérelle'i fenomen 85
*Diplobacillus* 21
*Diplococcus* 21
Dispositsioon infektsioonile 169
Dissimilatsioon 105
Dissotsiatsioon 299—301
*Dosis letalis minima* 156
Drigalski kepike 362

E.

Ebajalakesed 72
Ebaoksad 22
Ebasporangium 39
*Ectothrix* 64—65
*Ectozoa* 76
*Ectromelia* 81
Eelkultuurid 364
Ehrlich'i immuunsuse teooria 185
Ehrlich-Pringsheim'i reaktsioon 127
*Eimeria* 80
Eksospoorium 31—32
Ektoplasma, bakteritel 29, algloomadel 67
Ektotoksiinid 155
Elementaarsed kehad 81
Elektrilaeng 81

Emulsiin 121
Endogaamia 57
*Endomyces* 60
Endoplasma, bakteritel 29, algloomadel 69
Endospoor 46
*Endothrix* 64
Endotoksiinid 157
Enhüleem 67
Ensüümid 17, 30, 51, 119—128, 176
*Entamoeba* 79
*Enterovaccinatio* 248
*Entosporium* 32
Entsüsteerumine 70
Eosed 12, 31—32, 43; hallitusseentel 46—48, pärmseentel 54—56
Eosinaadid 333
Eoskand 47
Eoste idanemine 33
Epideemia; eksplosiivne 277, ekstensiivne 275, infektiivsus 275, resistentsus 276, suremus 275, tagajärjed 278, tardiivne 278, tõrje 279—281
Epidemioloogia 270—281; deduktiivne 274, induktiivne 272
Erepsiin 121
*Erythrasma* 67
Esemeklaasid 310; puhastamine 310, 335
*Exoascus* 58

F.

Fagotsütoos 174
Fakultatiivsed aeroobid ja anaeroobid 101
*Favus* 61
Fenooli reaktsioon 127
Fenoolpunase testpaber 358
Fermendid 121
Fermentatsioon 13, 16, 120; alkoholi 132, glükosiidide 134, hapendav 135, lima 133, õlihappe 140, pektiin 134, piimahappe 136, polüsahhariidide 130, süsivesikute 129—135
Fikseerimine 326
Filtreeruvad organismid 80—85
Filtrid 308—310; Berkefeld'i 308, Büchner'i 308, Chamberland'i 308, orgaanilised 309, Seitz'i 303, kontrollimine 309, puhastamine 310
*Flagellata* 77
Fookuse reaktsioon 238
Forssman'i antigeen 182
Fosfori ringimine 150
Fotobakterid 114
Fototaksis 96
Fototropism 96
*Fracastorius* 8, 271
*Fragmentatio* 24
*Fungi imperfecti* 45, 58, 67
Füsioloogia; füüsikalised tegurid 95—99, keemilised tegurid 99—105, liikumine 113, toitumine 105—109, sigimine 109—113

G.

Gameedid 75
*Gelasa* 121
*Gelatinasa* 121
*Generatio spontanea* 9
Generatsiooni vaheldus 75
*Geotrichum* 59
Giemsa lahus 334
Glükosiidide fermentatsioon 134
Glütseriini fermentatsioon 149
Gorodkova sööde 55
Gram'i värvimismeetod 328
Gross-Fulda 229
Güromeeter 313

H.

Hallitusseened 45—51
*Haplobacteria* 22
Hapniku absorbeerimine *acid. pyrogallic.* ja *kal. caustic.* abil 367
Happekindlate mikroobide värvimine 330
Hapteenid 180—181
Hemaglutiniinid; auto- 205, iso- 204, hetero- 204
Hemolüsiin 121, 125, 206—210
Hemolüüs 206
Hemolüütiline süsteem 207

Hemotoksiin 158
*Herpes tonsurans* 62
Heterogaamia 56, 75
Heterotroofsed mikroobid 108
Hiiglapesad 54
Histiotsüüdid 174
Humoraalne immuunsuse teooria 177, 261
Hõbetamine 336, 337
Hüaloplasma 69
Hüdrogenaas 119
*Hyphae* 43
*Hyphomycetes* vt. *Fungi imperfecti*

I.

Idanemine (eoste) 33
Idiosünkraasia 265
Immuniseerimine 183—185
Immuunoprofülaktika 243
Immuunsus 14, 16, 170, 171; depressiooni 230—232, 240, lokaalne 246, loomulik 172, omandatud 178, 249, passiivne 178, 240, mittespetsiifiline 179, 249, aktiivne 230
Immuunsuse ühik (I. Ü.) 226
Inaktiveerimine 218
Indikaator-värvained 353
Indool 126
Infektsioon 7, 160; akuutne 170, akvireeritud 165, essentsiaalne 170, germinatiivne 165, inaktiivne 170, kinnine 170, kongenitaalne 165, krooniline 170, lahtine 170, päritud 165, sekundaarne 170; allikad 164, teed 165, teraapia 255, väravad 167
Infusoorid 9, 79
Inklusioonikehad 82
Inokuleerimine loomadele 364
Intoksikatsioon 160
Inulaas 121
Invertaas 121, 132
Involutsioon vt. Degeneratsioon
Isoaglutiniinid 204
Isogaamia; algloomadel 75, hallitusseentel 47, pärmidel 56
Isogameedid 75
Isoleerimine (mikroobide) 360—366; aeroobide 360, anaeroobide 368—369, eriliste meetodite abil 363

J.

Jogurt 137
Joonkülv 359
Juuremügarad 146
Jõgede enesepuhastus 90

K.

Kahanemisaste (kasvu) 111
Kapsel (kihn) 24
Karbonisatsioon 130
Karüosoom 70
Kataforees 116
Kataksia 254
Katalaas 121, 152
*Kataphylaxia* 168
Kateklaasid 310
Katk 8, 12, 15
Keefiri fermentatsioon 138; terad 138
Kemotaksis 99
Kemoteraapia 294
Kest; algloomadel 69, bakteritel 24, pärmidel 52
Kihn 24, värvimine 332
Kiirikseened vt. *Actinomycetes*
*Kinetonucleus* 71
Kinoplasma 71
Klaasipuhumine 313
Klaasnõud 312—313; gradueeritud 312, katsuklaasid 312, kolvid 312, kultuuripudelid 312, Petri kausid 312, märkimine 313, puhastamine 312—313
Klamidospoorid 46
Kloorlubjapiim 287
Koagulaas 158
Koaguleerimisaparaat 350
Koch 15
Koch'i aparaat 305
Koch'i katekismus 163
Koeimmuunsus 246
Koktsidioos 80
Komasarnased mikroobid 22

Komparaator 357
Komplemendi fikseerimise reakts. 215—220
Komplement 213—215
Kondensor 318
Konglutiniinid 205
Koniidid 46
Konjugatsioon 76
Kontaktinfektsioon 166
Kontraktiilsed vakuoolid 69
Kopulatsioon; protozoadel 75, pärmidel 56
Kromatiin 70; terad 29
Kromidiaalne võrk 29
Kromiidid 71
Kromofoorsed mikr. 117
Kromopaarsed mikr. 117
Kruvisarnased mikr. 22
Kultuurid 15, 31, 358; omadused 371, külvamine 359
Kummiesemed 313
Kumõss 138
Kusiaine lagunemine 123
Käte desinfitseerimine 292
Käärimisprotsessid 7, 57, 129
Küljeahelad 185
Küünlad 308

L.

Laapferment 121
Laboratoorium 303, 305
Lakmustinktuur 352
Laktaas 121
Laktobakterid 136
Leeuwenhoek 8
*Leishmania* 78
*Leptospira* 37
Leukiin 249
Leukotoksiin 158
Liikumine; bakteritel 26, 35, algloomadel 72
Limabakterid 25
Liniin 70
Lipaas 121, 128
Lipobakterid 129
Logaritmiline aste 110
*Lophotricha* 27
Lubjapiima desinfits. toime 285
Lõikude uurimine 338
Lämmastiku sarnastajad mikroobid 146
Lämmastiku sidumine 146—148
Lüsosüüm 173, 249

M.

Maapinna mikrofloora 91
Maia 138
Makrofaagid 174
Makrogameedid 76
Makronukleus 71
Malaaria 79
Maltaas 121, 131
*Mastigophora* 77
Matseratsioon 134
*Membrana undulans* 73
Merozoit 75
Mesofiilsed mikroobid 96
Metaani hapendumine 149
*Metachromasia* 30
Metakromaatilised terad 30
Metallisoolteraapia 255
Metüülalkoholi käärimine 148
*Miasma* 8, 271
Michaelis'e indikaatorite meetod 357
*Micrococcus* 21
*Microsporon* 65—67
Mikrobioloogia 7, 13, 18; ajalugu 7—19
Mikrofaagid 175
Mikrogameedid 75
Mikronukleus 71
Mikroobid 17, 19, 24; keemiline koostis 94—95, liikumine 95, sigimine 109, tundlikkus 93; frigostabiilsed ja -labiilsed 95; lugemine 112; geograafia 88, levimine 87; kehapinnal 92, maapinnas 91—92, taimedel 92, vees 89—91, õhus 89.
Mikroskoop 315—318
Mikrosoomid 45
Mineralisatsioon 122, 128
*Mitigatio* 104
Mitogeneetilised kiired 115
Molekulaarliikumine vt. Brown'i liikumine
*Monilia* 59
Monomorfist 12

*Monotricha* 27
*Mucor* 48
*Mucoraceae* 45, 48—50
Mükoloogia 43
Mükoosid 51, 58
Müoneemid 72
Mütseel 43
*Mycetes* vt. Seened
*Mycobacterium* 21
*Mycoderma* 59
*Mycotorula* 59
*Myxosporidia* 77

N.

Nahapinna mikrofloora 92
Nakkushaigus 167
Negatiivne faas 184
Neitsilik sigimine 55, 76
Neuromotoorne aparaat 73
Niidisarnased bakterid 22
Nitrifikatsioon 16, 142—144
*Nitrobacteria* (nitraadibakterid) 143; kultiveerimine 143
*Nitrosobacteria* (nitritibakterid) 143; kultiveerimine 143
*Nucleus* vt. Tuum
Nugilised mikroobid 160
Nukleaas 121
Nähtamatud mikroobid 80

O.

Obligaatsed aeroobid ja anaeroobid 101
Oblikahapekäärimine 139
*Oidium* 59, 60
Oiidid, *actinomycet.* 39
Oksüdaas 122, 151
Oksüdeerumine 119
Oligodünaamiline toime 103
Oogaamia 47
*Oogonium* 47
Oospoor 47
Opsoniinid 221—222; indeks 222
Optiline tegevus 114
Organellid 69
Osmofiilsed mikroobid 102

P.

Palavikravi 256—257
Panspermiateooria 87
Paradoksaalne reaktsioon 244
Parasitism (mikroob.) 12, 154
Partenogenees *(Parthenogenesis)*, algloomadel 76, pärmidel 55
Partsiaal-antigeenid 180
Pasteur 12
Pastöriseerimine 283
Patergia 269
Patogeensus (mikroob.) 275
Peitsid 323
Pektaas 121, 139
*Pellicula* 69
*Penicillium* 45, 49, 50
Pepsinaas 121
Periplast spirohh. 34
*Peritricha* 27
Peroksüdaas 145
Pesa 31; kuju 371, lugemine 112
Petri kausid 312
Pfeiffer'i fenomen 210—211
*Phycomycetes* 44, 45, 48
Pidurid (regulaatorid) 355
Pigmentide valmistamine 117—119
Piimahapekäärimine 136
Piimaplekid 176
Piiskinfektsioon 166
Pimeväli 318, 321
Pintsetid 311
Piroplasmoos 79
Pistekülv 359
*Pityriasis versicolor* 67
Plaatinanõelad 311
Plakiin 249
Plasmolüüs 24, 98
Plasmosoomid 28
Plastiin 70
Pleomorfist 12
Polükroomid 333
Pretsipitaat 188
Pretsipitatsioonreaktsioon 187
Pretsipitiinid 188
Pretsipitoidid 188
Probiont 17
Prodigiosiin 118

Propioonhapekäärimine 139
Propüülalkoholi käärimine 148
Proteaas 121
Proteiinteraapia 251—255
Proteolüsiinid 212
Protoplast 28
*Protozoa* vt. Algloomad
*Pro-zoon* 197
Pseudokihnud 26
Pseudopoodid vt. Ebajalakesed
*Pseudoramificatio* 22
Psührofiilsed mikroobid 96
Ptomaiinid 123
Puhkavad rakud (pärmidel) 53
Pungumine 44, 51, 53, 74
*Putrefactio* 124
Põhjakäärimine 57
Pärmisarnased organismid 58—61
Pärmseened 51—53; morfoloogia 51—53, sigimine 53—54

R.

Rakutuum vt. Tuum
Ramon'i antitoksilise seerumi titreerimismeetod 227—228
Rasvainete lõhustumine 128
Rauabakterid 151
Raua ringimine 150
Reagiinid 267
Reduktaas 122, 151
Reduktsioon 119
Relatiivne elektiivsus 364
Resistentsuse määramine (mikroob.) 372
Retikulo-endoteliaalne süsteem 175
Retseptorid 185—187
*Rhinocladium* 67
Rippuv tilk 320
Ripsmed *(cilia)* 73
Ristsugutus 76
Rohelised bakterid 118
Roiskumine 122
Roiskumismikroobid 124

S.

*Saccharomycetaceae* vt. Pärmseened
Salkowski reaktsioon 126
Saprofüüdid 76, 160, 161, 304
*Saprospira* 37
*Sarcina* 21
*Schizogonia* 75
*Schizomycetes* 12, 19
Schwartzman'i fenomen 250
Seened 19, 43; hallitus- 45—51, mitmesugused 58—68; klassifikatsioon 44—45, sigimine 46—48
Seerumtõbi 264—265
Segainfektsioon 170
Sensibiliseerimine 254
Serogenees 178
Seroloogia 16, 152
Seroprofülaktika 16
Seroteraapia 16
Serovaktsinatsioon 235
Sidrunhapekäärimine 139
Sipelgahapefermentatsioon 149
Sissejuhatusfaas 184
Skeptofülaksia 254
Soojendatav esemelaud 316
Soojuse tekitamine 115
*Spirillaceae (spirillum)* 11, 12, 22
*Spirochaeta* 11, 20, 22, 33—38; liikumine 35, morfoloogia 33, jagunemine 35, värvimine 333, 334, 335, 337
Sporangium 46
Sporogenees 75
*Sporotrichosis* 67
*Sporozoa* 74, 79
Sporozoit 75
*Staphylococcus* 21
Statsionaarne aste 111
*Sterigma* 48, 49
*Sterilisatio magna* 122
Steriliseerimine 104, 281, 305; filtrimise abil 308—310, fraktsioneeritud 306, 307, keetmisega 100° C t°-s 305, kuiva kuuma õhuga 305, kuuma auruga 306, tündaliseerimine 14
*Streptobacillus* 21
*Streptococcus* 21
Sulfuratsioon 150
Superinfektsioon 170
Sörensen-Michaelis'e indikaator 357
Söötmed 106, 340; koosseis 340—354, 369, reaktsioon 354, vedelad 340—347, tahked 347—352, indikaator- 352; Martin'i puljong 342,

puljong 340, suhkurpulj. 343, glütseriinpulj. 344, seerumpulj. 344, veripulj. 345; Spronck'i pärmpulj. 346; Martin-Petit' sööde 345, linnasevesi 346, želatiinsööde 347; agarsööde 347, suhkuragar 349, glütseriinagar 349, glükoos-veri 369, Sabouraud' s. 347, Grütz'i s. 347, kartulsööde 351, seerums. 350, Loeffler'i seerums. 350, maksapuljong 369, maksapiim 369, ajupuder 369, lakmussöötmed 352, kongo punase agar 352, Endo agars. 353, neutraalpunase agar 353
Sügospoorid 47
Sümbioos 76, 152
Süsivesikute fermentatsioon 129

## T.

Taandamisprotsessid 119
Taandav ferment 121
Taud 163
Teekalja käärimine 136
Termofiilsed mikroobid 96
Termogeensed mikroobid 115
Termopretsipitatsioon 192
Termostaat 314—315; anaeroobide 368
Termotaksis 95
*Tetracoccus* 21
Toitumine, mikr. 105
Toksiin 30, 155
*Torula* 58
Transgressioon 296
*Treponema* 37
*Trichobacteria* 22
*Trichomonas* 77
*Trichophyton* 62
Trofokromiidid 71
Trüptaas 121
Trüptofaani reaktsioon 127
*Trypanosoma* 77
Tsellulaarne immuunsuse teooria 177
Tsellulaas 121
Tselluloosi fermentatsioon 130
Tsentrifuugid 313
Tsentrosoom 71
Tsümaas 121, 132
Tsütaas 176
Tsütolüsiinid 212
Tsütosoom 45
Tuksuvad vakuoolid 69
Tuum; bakteritel 29, pärmidel 53, seentel 45, protozoadel 70
Twort-d'Hérelle'i fenomen 85
Tündaliseerimine 14, 306, 307
Türosinaas 122, 151

## U.

Ultramikroskoop vt. Pimeväli
Ultraviirus vt. Viirus
Universaalsööde 106
Ureaas 121
Urobakterid 123

## V.

*Vaccinatio* 232
Vaktsiinid 14; mikroob. 232—237, tarvitamine 237—238
Vaktsinoprofülaktika 233
Vaktsinoteraapia 233, 239
Vakuoolid; algloomadel 74, bakteritel 28, pärmidel 53
Variatsioonivormid; bakteritel 298—303, pärmidel 57
Veekogude mikrofloora 89
Vegetatiivne jõud 9
Veniv piim 134
Vereseerum söötmete jaoks 350
Vesinikioonide kontsentratsioon 355—358
Vesiniku eksponent (pH) 355—358
*Vibrio* 11, 22
Viburid; bakteritel 27, protozoadel 73, spirohheetidel 34
Viirus 17, 19, 80
Viivitusaste 109
Virulentsus 162, 175
Viruliin 159
Virvendav kile 73
Vitaalne värvimine 337
Vitamiinid 152

Volutiini terad; bakteritel 30, spirohh. 34, värvimine 332
Värvid 322; lihtsad 323, peitsidega 324
Värvide lahused; Giemsa 334, Jenner'i 334, May-Grünwald'i 334, Romanovsky 334
Värvimata mikroobide uurimine 320
Värvimismeetodid 325—338; Babes-Ernst'i 332, Becker'i 333, dermatofüütide 338, eoste 331, Fontana-Tribondeau hõbetamis- 337, Giemsa 334, Gram'i 328, happe-resist. m. 330, Hoffmann'i 335, Johne 332, Jotten-Haarman'i 331, kihnude 332, koelõikude 338, Möller'i 331, Neisser-Gins'i 332, spirohheetide 333, 335, tuši (Burri) 321, 332, viburite 335, viburite hõbetamise 336, vitaalne 337, Ziehl-Neelsen'i 330
Väävelvesiniku valmistamine 126
Väävlibakterid 150

**W.**

Walpole kolorimeetriline meetod 357
Wassermann'i reaktsioon 215—250
Widal'i reaktsioon 193

**Õ.**

Õhu mikrofloora 89
Õlihapekäärimine 140

**Ä.**

Äädikhapekäärimine 135
Äädikhappe bakterid 136, 149

**Ü.**

Üherakukultuur 365, 366
Ülitundlikkus 264

**Ž.**

*Zooglea* 25
*Zygomycetes* 49
Želaas 121
Želatiini vedeldumine 372

## Kasutatud kirjandus.


Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. London, 1939.

Besson, A., Technique Microbiologique et Sérothérapique. Paris, 1924.

Brumpt, E., Précis de Parasitologie. Paris, 1936.

De Kruif, P., Microbe Hunters. Hamburg, Paris and Bologna, 1935.

D'Hérelle, F., Le Bactériophage et son comportement. Paris, 1926.

Gildemeister, E., Haagen, E. u. Waldmann, O., Handbuch der Viruskrankheiten. Jena, 1939.

Gotschlich, E., u. Schürmann, W., Leitfaden der Mikroparasitologie und Serologie. Berlin, 1920.

Gottstein, A., Die Lehre von den Epidemien. Berlin, 1929.

Hauduroy, P., Ehringer, G., Urbain, A., Guillot, G., et Magrou, J., Dictionnaire des bactéries pathogènes. Paris, 1937.

Hartmann, M., u. Schilling, C., Die pathogenen Protozoen und die durch sie verursachten Krankheiten. Berlin, 1917.

Henneberg, W., Handbuch der Gärungsbakteriologie. Berlin, 1926.

Kolle, W., Kraus, R., u. Uhlenhuth, P., Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 3. Aufl. Jena, Berlin u. Wien, 1929—1931.

Kolle, W., u. Hetsch, H., Die Experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. Berlin u. Wien, 1929.

Kraus, R., u. Uhlenhuth, P., Handbuch der mikrobiologischen Technik. Berlin u. Wien, 1924.

Lepik, E., ja Zolk, K., Tegelik taimekaitse aias. Tartu, 1935.

Maurizio, A., Geschichte der gegorenen Getränke. Berlin, 1933.

Park, W., Williams, A. and Krumwiede, Ch., Pathogenic Microorganisms. London, 1925.

Puntoni, V., Manuale di microbiologia medica. Roma, 1929.

Schlossmann, K., Üldine mikrobioloogia ja seroloogia ühes mikrobioloogilise tehnikaga. Tartu, 1925.

Stein, R., Die Fadenpilzerkrankungen des Menschen. München, 1930.

Topley, W., and Wilson, G., The Principles of Bacteriology and Immunity. London, 1936.

Weigman, H., Die Pilzkunde der Milch. Berlin, 1924.
Wenyon, C. M., Protozoology. London, 1926.

Jooksev erikirjandus:

Annales de l'Institut Pasteur. Paris.
Bull. de l'Institut Pasteur. Paris.
C. R. des Séances de la Soc. de Biologie. Paris.
Journal of Bacteriology. Baltimore.
The Journal of Experimental Medicine. New York.
The Journal of Infectious Diseases. Chicago.
The Journal of Pathology and Bacteriology. London.
Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Berlin.
Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Jena.
Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten. Originale u. Referate. Jena.

## Sisukord.


Lk.

Eessõna . . . . . 5

I osa.

**Mikroorganismide morfoloogia ja bioloogilised omadused** . . . 7

I ptk. Mikrobioloogia arenemiskäik . . . . . 7

II ptk. Bakterite morfoloogia ja sigimine . . . . . 19

Bakterid. *Schizomycetes* . . . . . 20

Spirohheedid. *Spirochaetaceae* . . . . . 33

Kiirikseened. *Actinomycetes* . . . . . 38

III ptk. Seened. *Mycetes* . . . . . 43

Hallitusseened. *Eumycetes* . . . . . 45

Pärmseened. *Saccharomycetes* . . . . . 51

Mitmesugused seened. *Fungi imperfecti. Hyphomycetes* . . . . . 58

A. Pärmisarnased mikroorganismid . . . . 58

B. Dermatofüüdid . . . . . 61

IV ptk. Algloomad. *Protozoa*

V ptk. Viirused ja bakteriofaagid . . . . . 80

VI ptk. Mikroobide esinemine ja levimine looduses . . . 87

VII ptk. Mikroorganismide füsioloogia . . . . . 93

Mikroobirakkude keemiline koostis . . . . . 94

Füüsikaliste tegurite toime mikroobidesse . . . . 95

Keemiliste tegurite toime mikroobidesse . . . . 99

Mikroobide toitumine . . . . . 105

Bakterite sigimine kunstlikes söötmeis . . . . . 109

Mikroobide liikumine . . . . . 113

Optiline tegevus . . . . . 114

Soojuse tekkimine . . . . . 115

Mitogeneetilised kiired ja elektrilaeng . . . . . 115

Bakteriaalsed pigmendid . . . . . 117

Mikroobide biokeemiline toime ja ensüümid (fermendid) . . . . . 119

Lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsioon . 122
Rasvainete lõhustumine mikroobide toimel . . . 128
Süsivesikute fermentatsioon . . . . . 129
Hapekäärimised . . . . . 135
Lõhnavate ainete tekkimine mikroobide toimel . . 140
VIII ptk. Ainete ringimisprotsess . . . . . 142
Nitrifikatsioon . . . . . 142
Denitrifikatsioon . . . . . 144
Vaba lämmastiku sidumine . . . . . 146
Käärimisel tekkivate lämmastikuvabade ainete saatus 148
Mikroobide toime väävli-, fosfori- ja rauaühenditesse . . . . . 149
Vähem uuritud ensüümid ja ained . . . . . 151
IX ptk. Mikroobide sümbioos ja parasitism . . . . . 152
X ptk. Mikroobide toksiinid . . . . . 155
XI ptk. Infektsioon . . . . . 160

II osa.

**Immuunsusõpetus** . . . . . 171
XII ptk. Loomulik immuunsus . . . . . 172
XIII ptk. Omandatud immuunsus . . . . . 178
XIV ptk. Antigeenid ja antikehad . . . . . 180
XV ptk. Pretsipitatsioonreaktsioon . . . . . 187
XVI ptk. Aglutinatsioonreaktsioon . . . . . 193
Aglutinatsioonreaktsiooni metoodika . . . . . 201
XVII ptk. Hemolüsiinid ja hemolüüs . . . . . 206
XVIII ptk. Bakteriolüsiinid ja tsütolüsiinid . . . . . 210
XIX ptk. Komplement . . . . . 213
XX ptk. Komplemendi fikseerimise reaktsioon . . . . . 215
XXI ptk. Opsoniinid ja bakteriotropiinid . . . . . 221
XXII ptk. Antitoksiinid ja antifermendid . . . . . 224
Antitoksiinid . . . . . 224
Antifermendid . . . . . 228
XXIII ptk. Aktiivne immuunsus . . . . . 230
XXIV ptk. Passiivne immuunsus . . . . . 240
XXV ptk. Lokaalne immuunsus . . . . . 246
XXVI ptk. Mittespetsiifiline immuunsus . . . . . 249
XXVII ptk. Anafülaksia, ülitundlikkus ja allergia . . . . . 257

XXVIII ptk. Üldise epidemioloogia põhijooni . . . . . 270
XXIX ptk. Desinfektsioon ja sterilisatsioon . . . . . 281
XXX ptk. Bakterite variatsioon ja klassifikatsioon . . . . . 298

III osa.

**Üldine mikrobioloogiline tehnika** . . . . . 303
XXXI ptk. Töötamise kord . . . . . 303
XXXII ptk. Mikrobioloogilise töö vahendid ja materjalid . . . 305
XXXIII ptk. Mikroorganismide mikroskoobiline uurimine . . . 320
Värvimata mikroobide uurimine . . . . . 320
Mikroobide värvimine . . . . . 322
Mikroobide värvimise meetodid . . . . . 325
Happeresistentsete mikroobide värvimine . . . . 330
XXXIV ptk. Mikroobide kunstlikud söötmed . . . . . 340
Vedelad söötmed . . . . . 340
Tahked söötmed . . . . . 347
Indikaatorsöötmed . . . . . 352
Söötmete reaktsioon ja selle määramine . . . . 354
Mikroobide kasvatamine ja puhtate kultuuride isoleerimine . . . . . 358
XXXV ptk. Anaeroobide kultiveerimine . . . . . 366
XXXVI ptk. Mikroobide identifitseerimine . . . . . 370
Mikroorganismide klassifikatsioon . . . . . 374
Register . . . . . 378
Kasutatud kirjandus . . . . . 387

HIND 3 KR. 50 S.

A
32 397
89 337