E. V.
TARTU ÜLIKOOLI
Naiste Kirjak.
№ 763
Inventariraamat № III A.
RAAMATUKOGU.
Liik. № 1
Ese № 371

K. SCHLOSSMANN
Tartu Ülikooli Bakterioloogia-kabineti juhataja

E. V.
TARTU ÜLIKOOLI
Naistekliinik.
Inventariraamat № III A.
RAAMATUKOGU.
Liik. № 1
Ese № 371

ÜLDINE
MIKROBIOLOOGIA JA SEROLOOGIA
ÜHES
MIKROBIOLOOGILISE TEHNIKAGA

2 3181

K./Ü. „LOODUS“, Tartus
1925

2
Tartu Riikliku Ülikooli
Raamatukogu
64520

K./Ü. „Looduse“ keeleline korrektor Tartu Ülikooli eesti keele lektor J. V. Veski.

A-4197

J. Raudsepp'a trükk, Tartus.

Mikrobioloogia arenemiskäik.

Niihästi looma- kui taimeriigis leiab mikroskoobiga varustatud silm bioloogilisteks uurimisteks hulga olevusi, kes on täielikult nägemata varustamata silmale. Nende olevuste hulgas leidub niisuguseid liike, kelle kohta võimatu on otsustada, kas nad looma- või taimeriiki kuuluvad. Uuema aja bioloogilised uurimused on näidanud, et looduses leidub veel sedavõrt väikesi olevusi, keda võimatu on näha ka kõige paremate mikroskoopide abil. Kõikide nende määratu hulga väikeste organismide ehk mikroobide (nimetus, mille SÉDILLOT 1878. a. esimest korda teaduses tarvitusele võttis) uurimine kujunes pika aja jooksul iseseisvaks bioloogiliseks teaduseharuks, mis mikrobioloogia nime kannab.

Juba kaugetel möödunud aegadel oli inimkond tuttav nende nähtustega, mida mikroobid esile kutsuvad. Piiblis kuuleme marjaviina valmistamisest, mis tunnistust annab, et inimesed juba tol ajal tuttavad olid käärimisprotsessiga. Samuti olid tuntud kaugeil hallidel aegadel haputaina valmistamine ja piima hapendamine. Moosese raamatus soovitatakse käte pesemist, korjuste põletamist ja pidalitõbiste eraldamist kui tarvilikku tervishoiulist kommet.

ARISTOTELES ja PLINIUS kirjeldasid põhjalikumalt mõningaid taimede infektsioonilisi haigusi. Rooma teadusemees Marcus Terentius VARRO kirjutab, et soistes kohtades asuvad nägematud väikesed loomakesed, kes õhus liiguvad ja raskeid haigusi esile kutsuvad. HIPPOKRATES arvas, et õhus asub «haigusesekreet», mis katku laiali laotab. GALENOS tõendab, et matmata jäetud korjused õhku mürgistavad ja katku põhjustavad.

Vaatamata selle peale, et mikroobide tegevus ammu tuntud oli, puudus kuni XVII aastasajani võimalus mikroobe näha. Esimest korda nägi ja kirjeldas mikroobe õpetlane Athanasius KIRCHER (1601—1680). Luubi abil, mis kuni 32 korda suurendas, nägi ta väikesi «ussikesi» roiskuvas lihas, piimas, juustus ja veres.

Mikroobide põhjalikuma uurimisega tegi algust Hollandi teadusemees Antonius van LEEUWENHOEK (1632—1723). Tema õppis klaasi ihumist ja valmistas luubid, mis 40—160 korda suurendasid. Roiskuvat ja käärivat leotist (infusum) seesuguste luupide abil uurides leidis Leeuwenhoek, et see leotis sisaldas suurel hulgal väikesi «ussikesi», keda ta infusooridеks nimetas. Sarnased ussikesed leidusid ka roiskuvas lihas, piimas, juustus, vihmavees, mädas

ja väljaheidetes. Tema kirjas 1683. aastast leiame suumikroobide kirjelduse ühes kujutustega, mis meelde tuletavad praegusel ajal tuntud suumikroobe. Leeuwenhoek'i uurimused mikrobioloogia alalt ilmusid raamatuna pealkirja all: «Arcana naturae detecta ab Antonio van Leeuwenhoek (1695)». Leeuwenhoek'i uurimuste tähtsust silmas pidades nimetatakse teda mikrograafia isaks.

Selgus, et mikroobid on morfoloogiliselt väga mitmekesised, kuid nende süstematiseerimine oli seotud suurte raskustega. Linné ei saanud mikroobe süstematiseerida, sest tema ei tarvitanud oma uurimistel mikroskoopi. Tema nimetas kõiki mikroobe üldnimega «chaos» ja pidas neid elusaiks osakesteks.

Esimesena katsus mikroobe süstematiseerida taani teadusemees Otto MÜLLER (1786). Tema kirjeldas ainult kahte liiki: monas ja vibrio.

Põhjalikumaid andmeid mikroobide süstemaatika üle leiame EHRENBERG'i (1838) kirjadest. Tema võttis esimest korda tarvitusele nimetused: spirillum, spirochaeta ja bacterium. Ehrenberg kirjeldas põhjalikumalt üksikuid mikroobe (b. subtilis, spirillum jne.) ja leidis, et punased tähnid, mis tärklist sisaldavate toiduainete peale ilmuvad, ei ole mitte veretähnid, nagu ebausklikud arvasid, vaid mikroobid — bacterium prodigiosum.

PETRI (1852) kirjeldas esimesena paljude mikroobide arenemiskäiku ja pani mikroobide juures tähele eoseid (spoore).

Uus ajajärk mikrobioloogias algas taimeteadlaste COHN'i ja NAEGELI uurimustega. Cohn (1828—1898) pidas mikroobe lihtsamate vetikate sarnasteks ja andis neile nimeks schizophyta. Naegeli (1817—1891) ei leidnud mikroobidest leherohelist (klorofülli), eraldas nad vetikaist ja andis neile üldnimetuse schizomycetes, mis on bioloogias tarvitusel käesoleva ajani. Cohn oli monomorfist ja oletas mikroobide tõu püsivust. Tema arvates on mikroobid mitut tõugu, üks tõug ei muutu teiseks, tõu omadused on päritavad.

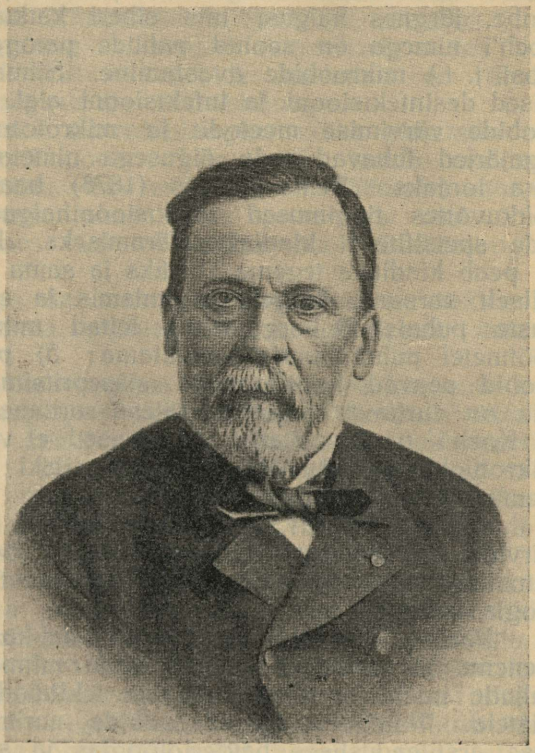
Naegeli oli pleomorfist ja tunnistas, et mikroobide vorm oleneb elutingimustest. Naegeli arvas, et munataoline mikroob (coccus) võib vastavais tingimusis kepisarnaseks mikroobiks (bacillus) muutuda, viimased jälle kruvikujuliseks (spirillum). Ühes kuju muutusega muutuvad mikroobi füsioloogilisedki omadused.

Cohn jagas mikroobid kolme pealiiki: kerapisikud (coccus), pulkpisikud (bacillus) ja keeritspisikud (spirillum). Cohn'i uurimiste saavutused said üldiselt maksvaks mikroobide morfoloogia- ja arenemisõpetuses, kuna pleomorfistide poolehoid kiirelt kahanes.

Kuni XIX aastasaja keskeni jäi mikrobioloogia mikroobide kujuõpetuse (morfoloogia) kitsastesse piiridesse.

PASTEUR (1822—1895) oli esimene, kes näitas, et mikroobide morfoloogia uurimisest ei jätku teaduslikule mikrobioloogiale. Igakülgseks mikroobidega tutvumiseks peab tingimata uurima nende füsioloogiat ja bioloogiat. Pasteur uuris oma teaduslise töö alul keemiat, kuid surnud looduse uurimine ei rahuldanud teda ja ta asus bioloogiliste küsimuste kallale. 1857. aastal ilmus tema teos fermentatsiooni üle, mis vana ümber lükkas ja uuele kindla aluse

pani. Tema avastas esimese fermentatsioonimikroobi — piimahappebakteri. 1860. a. näitas Pasteur oma katsetega, et mikroobid ei teki iseenesest, vaid nende alguseks on tarvilik eluvõimeline idu. 1865. a. õppis Pasteur viina ja õlle haigusi tundma ja soovitas abinõud nende vastu võitlemiseks. 1868. a. leidis Pasteur siidiusside haiguste põhjustena mikroobid ja töötas välja meetodi nende kõrvaldamiseks. 1881. a. näitas Pasteur, et kanade koolera ja siberi katku rohitsemine vaktsiiniga annab häid tagajärgi. 1885. a. tutvustas Pasteur maailma marutõve (lyssa) vastu immuniseerimise viisiga. Pasteur näitas, et infektsioonihaigusi esilekutsuvaid mikroobe võib kasvatada kunstlikult valmistatud söötmeil, ja pani sellega alguse mikroobide isoleerimisele kultuuride teel.



Louis Pasteur, sünd. 1822, surn. 1895.

Silmas pidades Pasteur'i leiduste suurt tähtsust, võime teda mikrobioloogia loojaks nimetada.

Viini arst PLENCIZ oli esimene, kes XVIII aastasaja teisel poolel toonitas, et iga nakkuse- ehk infektsioonihaiguse tekitajaks on spetsiifiline haiguseidu (contagium animatum). Tema tuli otsusele, et haigus algab siis, kui kehas sigima hakkavad ussikeste sarnaste ehk veel väiksemate olevuste idud.

BILLROTH (1874) pidas kõikide haava-infektsioonihaiguste korral leiduvaid mikroobe ühe pleomorfse mikroobi (coccobacteria septica) variatsioonideks. Säherdusi ekslikke arvamisi leiame palju tolle aja kirjandusest, ja nad on arusaadavad, sest mikroobikultuuride kasvatamiseks tarvitati vedelat kunstlikku söödet, kus segi kasvasid üks mikroobiliik teisega. Sigis üks mikroobiliik söötmel kiiremini, siis jäid teised varju ja vaatleja sai mulje, otsekui muutuks üks mikroobiliik teiseks.

B. anthracis oli esimene patogeenseist mikroobidest, mida DAVAINE ja POLLENDER (1850) haige looma verest leidsid. Tolle

aja mikrobioloogia-tehnika puudusi silmas pidades ei olnud võimalik kindlaks teha, kas leitud mikroob on haiguse põhjuseks või esineb ta veres juhuliselt.

Uuele alusele nihkus mikrobioloogia pärast Rob. KOCH'i (1843—1910) põhjapanevaid avastusi. Koch töötas välja mikroobide isoleerimise meetodi, mis mikrobioloogias suure tähtsuse omandas. Tema kasvatas veres asuvat siberi katku (anthrax) batsilli kõval kunstlikul söötmel, mis võimaldas selle mikroobi puhtkultuuri saamist. Kui loomade organismi pritsiti puhtkultuurist võetud mikroobe, järgnes haigus, mis siberi katkuga täielikult sarnane oli. Koch'i nimega on seotud paljude patogeensete (koolera, tuberkuloosi j. t.) mikroobide avastamine. Silmapaistvad on Koch'i uurimised desinfektsiooni ja infektsiooni alal. Märksa etendas ta mikroobide värvimise meetodit ja mikrofotograafiat. Koch'i leiduste tagajärjed lubavad teda õigusega nimetada mikrobioloogilise tehnika loojaks. Tema teoses (1878) haavainfektsiooni üle leiame kokkuvõttes tingimused infektsioonihaigusi esilekutsuvate mikroobide spetsifiteedi kindlaksmääramiseks. Koch'i katekismus nõuab: 1) peab kindlaks tegema, et üks ja sama mikroob alati leidub kliiniliselt sarnaste haigete organismis ja et teda ei leidu teiste haiguste puhul; 2) organismis leitud mikroobi peab kunstlikkudel söötmetel puhtkultuuris kasvatama; 3) puhtkultuurist saadud mikroobid peavad katseloomale sissepritsitult esile kutsuma haiguse, mis on uuritava haigusega täiesti sarnane. Vaatamata selle peale, et Koch'i poolt esitatud tingimused ei vasta täielikult uuema aja mikrobioloogia nõuetele, on nad siiski kindlaks aluseks eksperimentaalsele mikrobioloogiale.

WEIGERT, KOCH ja EHRLICH leidsid, et mikroobe on võimalik värvida mitmekesiste aniliinvärvidega. See leidus oli suureks edusammuks mikrobioloogilises tehnikas ja võimaldas mikroobide morfoloogia uurimist.

Pärast Pasteur'i ja Koch'i hakkas mikrobioloogia kiiresti arenema ja temast kujunesid välja mitmed eriosad. Leitakse üles paljude infektsiooniliste haiguste tekitajad ja uuritakse nende levimisteid. Patogeensete mikroobide uurimine omandab suure tähtsuse arstiteaduslises bakterioloogias ja selgitab mõndagi varemini arusaamatut nähtust patoloogias.

ROUX, YERSIN, BEHRING ja KITASATO leidsid, et patogeensed mikroobid eraldavad toksiini, mis organismi mürgistab. Toksiini sissepritsimise tagajärjel tekib looma vereseerumis antitoksiin, mis toksiini kahjutuks võib teha. Sellest ajast (1889—1891) alates areneb kiiresti seroloogia ühes seroteraapiaga ja seroprofülaktikaga, mis võimaldas sajatuhandete inimeste ja loomade elu päästa.

METŠNIKOV'i ja EHRLICH'i uurimused said kindlaks aluseks immuniteediõpetusele, millega käsikäes vaktsinoteraapia ja vaktsinoprofülaktika kiiresti praktilist tarvitust leidsid.

LAVERAN (1882) avastas malaaria plasmoodiumi ja näitas esimesena, et mikroorganismid algloomade liigist võivad infektsioonihaiguse esile kutsuda.

WINOGRADSKI näitas (1887—1889), et looduses asuvad niisugused mikroobid, mis anorgaanilisest ainest võivad sünteseerida orgaanilist ainet. BEIJERINCK, HANSEN, OMELJANSKI ja teised uurisid põhjalikult käärimisprotsesse ja tõendasid, et mõned mikroobiliigid võivad sõduda õhus leiduvat vaba lämmastikku. Need avastused said aluseks põllumajanduslisele ja tehnoloogilisele mikrobioloogiale, mis uuemal ajal omandab suure praktilise tähtsuse.

Juba PASTEUR ja ROUX oletasid, et looduses esinevad väikesed mikroobid, keda võimatu on näha mikroskoobi abil. Käesoleva aastasaja uurimused (LANDSTEINER, FLEXNER, LEVADITI j. t.) näitasid, et säärased nägemata mikroobid (ultravirus) suurt osa etendavad patoloogias. Nende mikroobide uurimine on üheks huvitavamaks peatükiks praeguse aja mikrobioloogias.

Tähtsamaks saavutuseks mikrobioloogias võiks nimetada ensüümi avastamist BUCHNER'i poolt. Temal läks korda eraldada pärmseente rakkudest ensüümi, mis esile kutsub käärimist suhkruvedelikes, ilma et pärmseente rakud sellest protsessist osa võtaksid. Selle leidusega avanes uus lootusrikas tee mikrobioloogias ja bioloogias.

Mikroobide avastusega sai uut hoogu vaidlus elu tekkimise üle, mis ammu lahendamata probleemina teadusemeeste meeles mõlkus.

Juba XVII aastasaja keskel algas elu tekkimise küsimuse uus revideerimine, kusjuures selgus, et vanad vaated täielikult vääralusele olid rajatud. Pärast LEEUWENHOEK'i kujunesid kaks vaadet mikroobide tekkimise üle: 1) mikroobid tekivad iseenesest vees olevast orgaanilisest ainest (generatio spontanea, abiogenesis, heterogenesis); 2) mikroobide tekkimiseks on tarvilik, et aines leiduksid eluvõimelised idud (omne vivum ex ovo — HARVEY).

NEEDHAM (1745) keetis roiskuvat vedelikku, lootes, et kõik mikroobid ära surevad ja roiskumine ei tohiks uuesti tekkida. Puutus aga keedetud vedelik kokku õhuga, mis tule mõju alla ei saanud, siis algas uuesti mikroobide kasv. Autori arvamine kaldus sinnapoole, et mikroobid tekivad iseenesest orgaanilisest ainest.

SCHULZE (1836) näitas oma katsetega, et mikroobide idud viibivad õhus. Tema laskis õhku läbi väävelhappe ja nägi, et see õhk keedetud vedelikkudes esile ei kutsu orgaanilise aine roiskumist.

SCHWANN (1839) sai samasuguse resultaadi, kui ta laskis õhku läbi kuuma klaastoru. Mikroobid ei kasvanud ka nendes vedelikkudes, millele ta juurde lisas mürgilist ainet.

Schwann ja Schulze asusid kindlale seisukohale, et mikroobid ei teki iseenesest.

SCHRÖDER ja DUSCH (1854 ja 1859) kurnasid õhku läbi puuvilla ja leidsid, et see vaba oli eluvõimelistest mikroobidest.

Eelmised ülitähtsad katsed said kindlaks aluseks aseptika- ja antiseptika-õpetusele.

PASTEUR (1862) näitas, et kõiki orgaanilisi aineid võib vabastada mikroobidest pikalise keetmise teel. Tema eelkäijate

viga seisis selles, et nad kerge keetmisega ei surmanud mikroobide eoseid, mille tagajärjel algas keedetud vedelikus sagedasti uuesti mikroobide sigimine. Pasteur näitas, et verd ja teisi aineid võib kaitsta roiskumise eest ka ilma keetmata, milleks tarvis on neid steriilselt võtta ja alal hoida, nii et mikroobid ümbrusest sisse ei pääseks. Pasteur tarvitas esimesena steriliseerimiseks autoklaavi, kusjuures kuum aur, mille temperatuur üle $+100^0$ C. tõuseb, kõik mikroobid ja nende eosed surmab.

Sellest ajast alates leidis steriliseerimismeetod laialist tarvitust arstiteaduses, eriliselt kirurgiliste operatsioonide puhul (LISTER). Pärast Pasteur'i avastusi pääsis bioloogias võidule arvamine, et mikroobid ei teki iseenesest, vaid eluvõimelistest eostest: «omne vivum ex vivo».

Niihästi Pasteur'i kui ka teiste bioloogide katsed ei suutnud vastust anda küsimusele, kuidas tekkisid esimesed mikroobid maakera pinnal. THOMSON ja RICHTER oletavad, et meteoorid kandsid lihtsamaid elusaid olevusi teistelt planeetidelt maakera pinnale.

ARRHENIUS näitas oma katsetega, et mikroobid võivad edasi liikuda päikese kiirte rõhumise mõjul.

Et mikroobid maakera pinnal viibisid juba selle kujunemise varakuil ajajärkudel, seda näitavad van TIEGHEM'i ja RENAUX' paleontoloogilised uurimused; nad leidsid mikroobide jälgi kivistunud taimede ja loomade jäänustes.

NAEGELI oletas, et elusa ja elutu materia vahel leidusid siduvad lülid, mida ta probiontideks nimetas. Probiondid kujutasid endast Naegeli arvates homogeense protoplasma tilka.

Maakera kujunemise käiku uurides leiame, et alguses tekkisid mitmesugused mineraal-ollused, mis kõlbasid toiduks ainult lihtsaile organismidele. Peab arvama, et elu pioneerid olid niisugused olevused, kes suutsid orgaanilist ainet sünteseerida süsihappest, hapnikust, õhulämmastikust ja anorgaanilistest sooladest. Säärast omadust leiame paljudel mikroobidel, nii kui seda näitas WINOGRADSKI oma uuemate uurimustega.

Keemilise sünteesi abil on juba saadud niisuguseid aineid, mille tekkimist varemini seoti ainult elusa organismi tegevusega: süsivesikuid, ksantiinkehasid, kusihapet, polüpeptiide jne. Koguni valgu (munavalge) süntees laboratoorsel teel paistab olevat ainult ajaküsimus.

Kui meie-aegne laboratoorium ei suuda elusat protoplasmat valmistada, siis ei tähenda see veel, et elu algus on tingimata seotud naturalistile arusaamatu imeteoga — loomisega. Peab oletama, et need tingimused, mida meie oma laboratooriumis lihtsa sisseseade abil loome, põhjalikult lahku lähevad nendest, mis looduse suures laboratooriumis esinesid tol ajal, kui tärkas ürgelu.

Me näeme, et mikrobioloogia ülesanded on laia ulatusega. Tema tähtsus ei ole mitte ainult puht-teoreetiline, vaid ka praktiline. Arstiteaduslise mikrobioloogia ülesandeks on hävitavate taudide põhjuste 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 ära kasutada mikroobide tegevust praktiliseks otstarbeks.

Põllumajandus-teadusele annab mikrobioloogia juhteid, kuidas ära kasutada maapinna viljakuse tõstmiseks mikroobide elutegevuse mitmekesiseid protsesse. Ta õpetab põllupidajat võitlema mitmekesiste taimehaigustega, mis põllumajanduses sagedasti lõpmata kahju sünnitavad.

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

Ülalpool ettetoodud pealiskaudsed andmed näitavad, et mikrobioloogiaga tutvumine on tarvilik mitte ainult arstidele, loomaarstidele, loodusteadlastele ja põllumajandus-teadlastele, vaid iga haritud inimesele. Kahtlemata võib tähendada, et mikrobioloogia kohta on maksev täies ulatuses ütlus: Scientia est potentia — teadus on jõud.

Mikroobide morfoloogia ja süstemaatika.

Mikroobide vorm on, võrreldes kõrgemate loomade ja taimede vormiga, äärmiselt lihtne ning väga muutlik. Mikroobide morfoloogia õpetus kannatab alles puuduse all, mida võib osalt seletada mikrobioloogilise tehnika puudustega. Peale selle oleneb iga organismi vorm enam või vähem füsioloogilistest talitustest; seepärast on võimatu mikroobide morfoloogia uurimist täielikult lahutada tutvumisest nende füsioloogiaga. Mida lihtsam on ühe olevuse organisatsioon, mida lihtsam tema vorm, seda raskem on lahutada vormi sõltumust füsioloogilistest funktsioonidest.

Kasvab mikroob elusas organismis, siis läheb tema vorm tihti märksa lahku vormist, mis on samal mikroobil kasvades kunstlikul söötmel. Muutub kunstliku söötme koosseis või kasvutemperatuur, siis muutub sagedasti mikroobi vorm. Samuti oleneb ka mikroobi sigimisviis paljudel juhtumustel tema elutingimustest.

Vorm ja selle variatsioonid on aluseks, millele ehitatakse loomade ja taimede süstemaatika. Mikrobioloogias puutume aga tihti kokku faktidega, mis näitavad, et mikroobide vormi ei või ilma nende füsioloogiliste funktsioonide uurimisteta küllaldaseks pidada mikroobide süstematiseerimiseks. Ei ole kahtlust, et me lõpmata hulgast looduses asuvaist mikroobidest tunneme praegusel ajal ainult väikest osa. Ajakohase üldise mikrobioloogia ülesandeks oleks tutvuda järgmiste mikroobide morfoloogiaga: 1) bacteria (bakterid), 2) saccharomycetes (pärmseened), 3) fungi (hallitusseened), 4) actinomycetes (kiirikseened), 5) spirochaeta ehk treponema (kruvimikroobid), 6) protozoa (algloomad) ja 7) filtreeruvad mikroobid (ultravirus).

I. Bakterite morfoloogia.

Bakterid on enamalt jaolt üherakulised olevused, kes osalt iseseisvalt liiguvad, pooldumise teel kiiresti paljunevad, peale üksikute erandite ilma klorofülli abita endid elatavad, ümbruse mõjude tagajärjel kiiresti oma vormi muudavad ja uute oludega kodunevad.

Endistel aegadel nimetati bakteriteks kõiki mikroobe, kuna seda nimetust võiks anda ainult pulgasarnastele mikroobidele. Samuti leiame, et uuemais õpperaamatuis bakterite hulka mahutatakse vormi poolest väga mitmekesiseid mikroobe. Vaatamata selle peale, et mitmed autorid on katsunud uuemal ajal baktereid liigitada, ei ole veel korda läinud niisugust süsteemi kokku seada, mis täielikult vastaks mikrobioloogilistele nõuetele. Enam-vähem üldist tarvitust on leidnud LEHMANN-NEUMANN'i süsteem, kuna FISCHER'i ja MIGULA omad on vähem tuntud.

Praktilist otstarbekohasust silmas pidades võiksime bakterid järgmiselt liigitada (Lehmann-Neumann'i süsteem väikeste muudatustega):

I. Coccaceae (kerakujulised):
a) streptococcus, b) staphylococcus, c) sarcina, d) micrococcus, e) diplococcus.

II. Bacteriaceae (pulgasarnased):
a) bacterium, b) bacillus.

III. Spirillaceae (kruvisarnased):
a) vibrio, b) spirillum, c) spirochaeta.

Silmas pidades, et spiroheedid teistest bakteritest märksa erinevad niihästi morfoloogiliselt kui ka bioloogiliselt ja et lõplikult veel kindel ei ole, kas nad taime- või loomariiki kuuluvad, kirjeldame neid esialgu iseseisva rühmana.

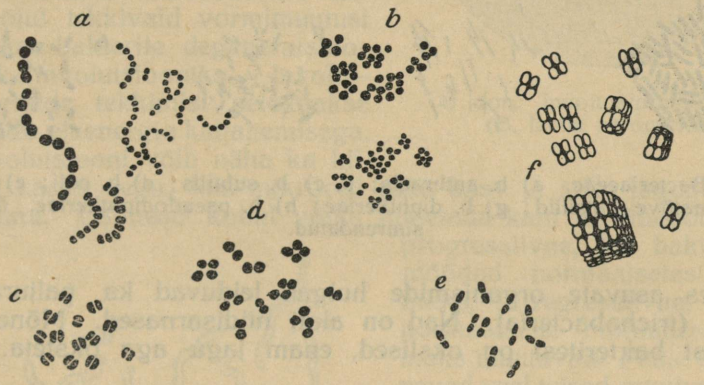
Bakterite suurus kõigub laiades piirides. Peale üksikute erandite võib baktereid näha mikroskoobi abil, mis kuni 1200 korda suurendab. Bakterite läbimõõt kõigub keskmiselt 0,5 ja 1,0 μ[1]) (mikroni) vahel. Kõige väiksem bakter, keda mikroskoobi abil võib näha, on pseudomonas indigofera: läbimõõt 0,06 μ, pikkus 0,18 μ. Bakterite pikkus kõigub 3—6 μ vahel. 10—12 μ pikkusi baktereid nimetatakse lühikesteks niitideks, 20 μ — pikkadeks niitideks. Kõige suurem patogeenseist bakteritest on bac. oedematis maligni: 9 μ pikk, 1 μ paks. Bakterite suurus muutub kiiresti ümbruse mõjude tagajärjel ja ta ei võimalda mikroobide äratundmist.

COHN'i ajast alates (1872) tehakse vahet bakterite kolme põhivormi vahel: kerataolised ehk kerajad (coccus), pulgataolised (bacterium) ja kruvisarnased (spirillum). Nende põhivormide vahel leidub lõpmata palju ülemineku-vorme. Kõige selle juures on aga maksev bakterite üldvormi püsivuse seadus: kerataolisest bakterist saab peale pooldumist ümmarik, pulgasarnasest aga pulgasarnane bakter.

1) 1 μ = 0,001 millimeetrit.

Kui kerataolised mikroobid (coccaceae) lähevad kohe pärast pooldumist üksteisest lahku, siis kannavad nad mikrokoki (micrococcus) nime. Jäävad nad aga pärast pooldumist paaristikku, siis nimetatakse neid kaksikkokkideks (diplococcus). Helmetaolisteks ridadeks koondatud kokkisid nimetatakse helmikkokkideks (streptococcus). Neljakaupa koostuvaid kerajaid mikroobe nimetatakse tetracoccus'eks, kaheksast kokist koostuvat pakki — sarcina'ks. Jäävad kerataolised mikroobid pärast pooldumist kobarasse, siis nimetatakse neid kobarkokkideks (staphylococcus) (1. joon.).

Väga mitmekesist pilti näeme pulgasarnaseid (bacteriaceae) mikroobe vaadeldes. Kui mikroobi raku pikkusmõõt pole mitte palju suurem ristmõõdust, siis nimetatakse seda olevust sõna kitsamas mõttes bakteriks (bacterium); paistab aga nende mõõtude vahe vähe silma, siis antakse mikroobile sagedasti nimeks coccobacterium.

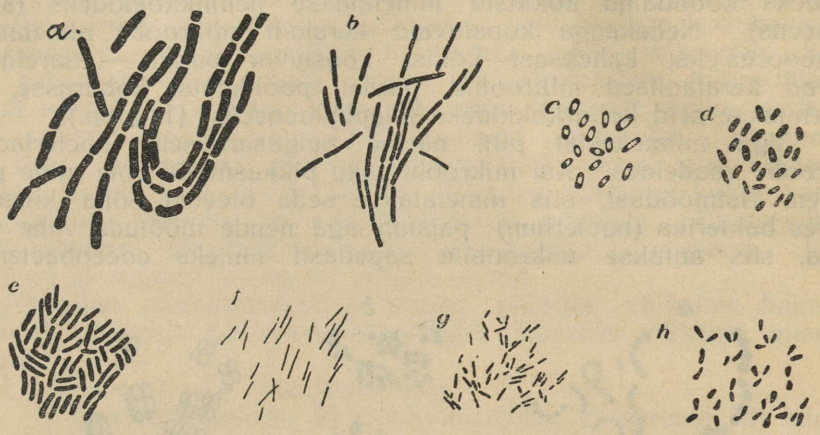


1. joon. Coccaceae. a) streptococcus; b) staphylococcus; c, e) diplococcus; d) tetragenus; f) sarcina. 1000 korda suurend. (Gotschlich-Schürmanni järele.)

On pulga pikkusmõõt 2—3 korda suurem ristmõõdust, siis nimetatakse mikroobi batsilliks (bacillus). Seesugune jaotus on väga subjektiivne; seepärast soovitavad mõned kõiki pulgasarnaseid mikroobe batsillideks (bacillus) nimetada. Batsillide pooldumise järele võib: 1) iga batsill eraldi seista; 2) kahekaupa otsakuti ühenduses olla (diplobacillus) ja 3) mitu batsilli ketisarnasesse ühendusesse jääda (streptobacillus).

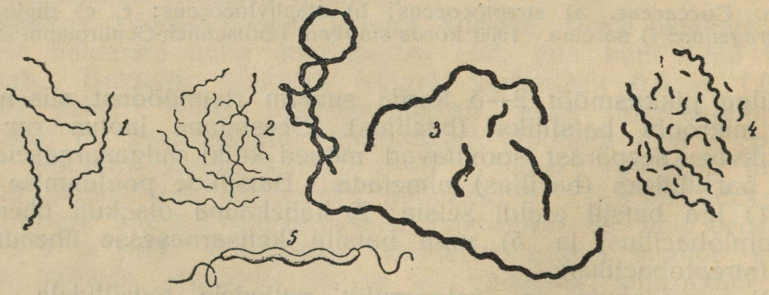
Otsa väliskuju on iseloomulik paljudele batsillidele. Mõnel liigil on otsad järsku lõigatud (bacillus anthracis), teistel batsillidel on nad ümmarikud (bacillus subtilis). Mõnel batsilliliigil on otsad teravad (b. fusiformis), teistel pundunud (bact. diphtheriae) (2. joon.). Kruvitaoliste (spirillaceae) mikroobide keskel näeme suurt mitmekesisust. Siin võiks kolme peavormi nimetada: 1) kommataolised (vibrio), kui pulgake on pisut kõver (vibrio cholerae asiaticae), 2) kruvitaolised (spirillum), kui ta teeb vähemalt ühe keeru kesktelje ümber ja 3) spirochaeta, pikad, mitme keeruga ja loogeldusega peened mikroobid (spirochaeta pallida) (3. joon.).

Üllaltähendatud bakterid (haplobacteria) on üherakulised organismid. Üksikuil juhtumusil leiduvad okslised vormid (bacillus tuberculosis, b. mallei, bacterium tumefaciens).



2. joon. Bacteriaceae. a) b. anthracis; b, c) b. subtilis; d) b. coli; e) b. typhi; f) sea punatõve batsillid; g) b. diphtheriae; h) b. pseudodiphtheriae. 500 korda suurendatud.

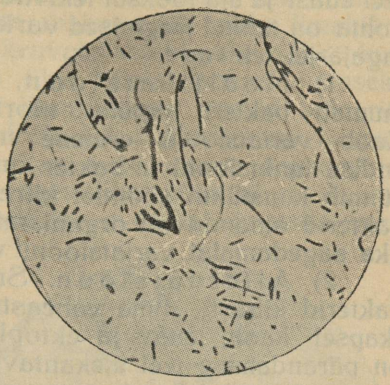
Vees asuvate organismide hulgas leiduvad ka paljurakulised bakterid (trichobacteria). Nad on alati niidisarnased. Mõned niidisarnastest bakteritest on okslised, enam jagu aga oksteta. Õige-



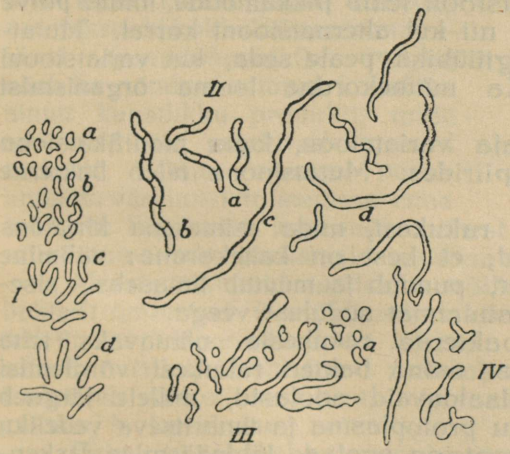
3. joon. Spirillaceae. 1) spirochaeta Obermeieri; 2) spirochaeta dentium; 3) spirochaeta Denecke (roiskuvast juustust); 4) vibrio cholerae asiaticae (mõned involutsioonivormid); 5) spirillum volutans. 1000 korda suurendatud.

mini on siin tegemist ebaokstega, mis tekivad sel teel, et üksikud rakud teiste rakkude rõhumisel kõrvale kasvavad peaharust, ilma et nad jääksid orgaanilisse ühendusse viimasega (pseudodichotomia). Osa trihhobakteritest liigub vabalt vees, teine osa neist on kinnitatud ühte otsa pidi veealuste taimede ja asjade külge.

Kui bakterid kasvavad neile mitte soodsais tingimusis, siis ilmuvad kiiresti atüübilised vormid (4. joon.). Värskes kultuuris näeme proteus vulgaris't lühikese pulgana, kuna nad paar tundi vanemas kultuuris on juba märksa pikemad. Iseäranis silmatorkavad on bakterite vormimuutused vanades kultuurides, kui söötme reaktsioon ei vasta enam mikroobi nõuetele ja kui sööde sisaldab vähe vastavat toitainet. Sama mõju avaldavad söötmes esinevad mürgilised ollused ning mürgid, mida kasvavad bakterid ise võivad valmistada (autointoxicatio) ja ebasoodus kasvutemperatuur. Sääraste ebasoodsate faktorite mõjul tekkivaid vormimuutusi nimetatakse bakterite degeneratsiooniks ehk involutsiooniks. Involutsioonivormide tekkimist seletatakse mikroobide eluenergia kahanemisega, kuid involutsiooni võib näha ka kiirendatud kasvu aegu, kus mikroobi raku kasv ja selle jagunemine ei pea sammu. Esimesel kohal võiks nimetada kaht involutsioonitüüpi: progressiivne, kui bakteri raku mõõdud normaalsetest suuremaks, ja regressiivne, kui nad normaalseist mõõtudest vähemaks muutuvad. Peale selle esinevad veel teised muutused raku vormis. Involutsioonivormide tekkimisega käivad käsikäes mitmesugused bakterite bioloogiliste funktsioonide muutused: bakterite pooldumine jääb seisma, nad ei liigu ega valmista eoseid, patogeensed bakterid kaotavad oma haigustekitava võime jne. (5. joon.).



4. joon. Involutsioonivormid. (B. lactis aerogenes.)



5. joon. Involutsioonivormid. Vibrio cholerae asiaticae. I. loomulikud vormid; II. spiraalikujuline rakkude ühendus; III—IV. oksteta ja okslised vormid. 1000 korda suurendatud.

Kui me külvame degenereerunud baktereid vastavale värskele söötmele ja kasvatame neid soodsais tingimusis, siis omandavad nad kiiresti oma algvormi ning endised bioloogilised funktsioonid. Korduvad aga involutsiooni tekkimise tingimused, siis võib bakter kaotada osa oma funktsioonidest.

Ulatub bakterite degeneratsioon veel kaugemale, siis võib juhtuda, et degenereerunud rakuke laguneb terasarnasteks tükikesteks (fragmentatio).

Bakterite morfoloogiliste omaduste ja füsioloogiliste funktsioonide kiire muutus on peapõhjusteks, mis võimaldavad nende organismide kiirendatud evolutsiooni. Uued omadused lähevad pärandamise teel edasi ja aja jooksul tekivad mitmesugused variatsioonid. Bakterite kohta on tuntud järgmised variatsioonivormid, mis variatsiooni erutuste tagajärjel tekivad:

1) Modifikatsioon. Nõrgema variatsiooni erutuste mõjul muutub bakteri algtüüp morfoloogiliselt (mikroob kaotab kapsli). Kaob variatsiooni erutuse mõju, siis omandab tsütoplasma oma endise funktsiooni ja bakter oma endise vormi. Säärane tagasiminek sünnib kunstlikul söötmel kiiresti või pikkamisi, kuna modifitseerunud bakterid omandavad organismis kiiresti algtüübi. Modifikatsioon on üks sagedamaist variatsiooni vormidest.

2) Alternatsioon. Suurema variatsiooni erutuse mõjul võivad bakterid kiiresti, ilma vaheastmeteta oma morfoloogilist pilti muuta (kapsel kaob, ento- ja ektoplasma vähenevad jne.). Need muutused on pärandamise teel ülekantavad järgnevale põlvele, selle peale vaatamata, et variatsiooni erutus ei ole enam tegev. Kauema aja jooksul kasvades ilma variatsiooni erutuse mõjuta võib osa bakteritest hüppe teel oma algvormi omandada. Mitmekordse passaaži järele läbi looma keha muutuvad alternatiivsed vormid hüppe teel algtüübiks. Alternatsiooni peetakse vormi ja funktsioonide ajutiseks muutuseks.

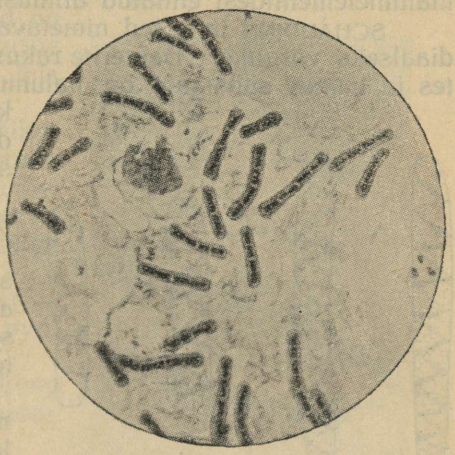
3) Mutatsioon. See muutus tekib suurema ja kestvama variatsiooni erutuse mõjul. Mutatsioon tekib pikkamööda, mitme põlve kestel. Me ei näe siin hüpet, nii kui alternatsiooni korral. Mutatsiooni vorm ei muutu ümber algtüübiks peale seda, kui variatsiooni erutuse mõju on kadunud. Ka mitmekordne looma organismist läbiviimine ei anna algtüüpi.

Mutatsioon on tõuvalmistaja variatsioon, kuna modifikatsioon ja alternatsioon esinevad tõu piirides. Mutatsioone tuleb bakterite juures harva ette.

Bakterite rakku ümbritseb rakukest, mida esimesena kirjeldas COHN. Uurimused on näidanud, et kest on kahekordne: välimine kord imeb enesesse kiiresti vett, pundub ja muutub limaseks; sisemine kord on tihe ja tal ei ole suuremat sugulust veega.

FISCHER'il läks korda bakterite rakukesta nähtavaks teha plasmolüüsi abil. Tema nägi, et mõne bakteri rakukest võrdlemisi kergesti läbi laseb lahuses sisalduvaid soolasid, millele järgneb kiirelt osmootiline tasakaal raku protoplasma ja ümbritseva vedeliku vahel; teiste bakterite rakuseinast on soolade läbipääsmine raskendatud, mille tõttu raske või koguni võimatu on saada osmootilist tasakaalu. Kontsentreeritud soolalahuses kaotab protoplasma osa oma veest, tõmbub kokku ja eraldub kestast (plasmolysis). Kahaneb osmootiline rõhumine rakuprotoplasma ja ümbritseva vedeliku vahel, siis tungib vesi protoplasmasse ja täidab kesta ruumala. Mahutame bakterid soolavaesesse vedelikku, siis katkeb rakukest ja rakuprotoplasma tungib välja (plasmoptysis). Bakterite kest on ehitatud lämmastikku sisaldavaist aineist; ta sisaldab tärklist, sagedasti pektiinollust ja mõningail kordadel rauda.

Kesta välimine kiht muutub bakteri elu kestel kord-korralt limaks, kuna protoplasmast uus kestaosa kujuneb. On bakteri kesta limastumisprotsess kiirendatud, siis võib tekkida tema ümber paksem limakiht, mida seesugusel korral bakterite kapsliks ehk kihnuks (capsula) nimetatakse. Paljude bakterite ümber tekib paks limakihn, kui söötmes leidub palju tärklist. Suhkruvabrikutes võib näha, kuidas puhastamata suhkrusiirup muutub ühe päeva jooksul limaseks seguks, mis muud ei ole kui paksu limakihnuga kaetud bakterite (streptococcus mesenterioides) kogu. Paljudel bakteritel on ilusasti näha limakihnud ainult siis, kui nad kasvavad elusas organismis, kuna kasvades surnud organismis ehk kunstlikul söötmel ei ole neil märgata kihnu tekkimist. Kunstlikest söötmeist võiks nimetada veri-leent, piima ja röga, kus mõnede bakterite ümber tekib limakapsel (6. joon).



6. joon. B. anthracis (kihnud).

Bakterite kihnu võib näha, kui me neid vastava värvimismeetodiga värvime. Seejuures näeme bakteri ümber õrnalt värvitud rõngast. Kihnude uurimine ei ole veel täielik ja mõned (BAUMGARTEN) arvavad, et värvimise tagajärjel paistev kapsel on kunstlik produkt, mis tekib klaasi peale fikseeritud mikroobi kokkukuivamise tagajärjel (*pseudokapslid*). PLASAJ näeb ka nõndanimetatud kapslites ainult kunstlikku produkti, mille tekkimise üle puuduvad ligemad andmed Tema arvates peaks kapslite värvimist toimetama enne bakterite kuivamist, kuid mitte pärast seda. Ainult säärase meetodiga võiks saavutada kindlamaid resultaate.

Mõndi baktereid vaadeldes võib tähele panna, et kaht või mitut bakterit ümbritseb üks üldine limakihn Teistel juhtumustel tekib bakteri ümber iseloomulik kõva kapsel. Kapsli limas võime leida tärklisollust, mutsiini, kitiini jne Arvatakse, et mõnede bakterite rakkusid ümbritseb vahaollusest kest, mis raskelt vastu võtab värvi (b. tuberculosis, b. leprae jne.).

Bakterite rakukeha (protoplasti) peenema struktuuri üle puuduvad alles kindlamad andmed Rakukeha olulisteks osadeks on protoplasma, vakuoolid, tuuma elemendid ja mitmekesised sisaldised Rakukeha protoplasma kujutab endast poolvedelat homogeenset ainet, mis tihti sisaldab väikesi teri (plasmosoome). Värvitud protoplasmas näeme kärjelist struktuuri ühes vähemate või suuremate vakuoolidega (BÜTSCHLI). SCHAUDINN kirjeldas protoplasma liikumist ühe suure bakteri (bacillus Bütschli) rakus. MIGULA ja FISCHER nimetavad rakupinnale ligemal olevat tihedat protoplasmat ektoplasmaks, keskmist vedelamat osa endoplasmaks.

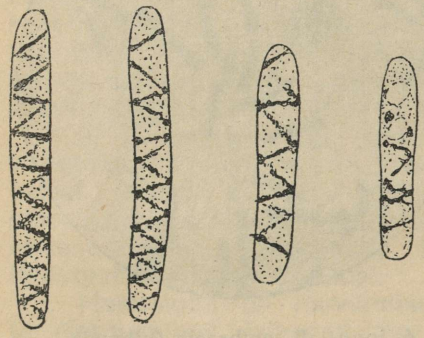
Mõnede bakterite rakkudes koondub tihe protoplasma raku otstesse, mis intensiivse värvumise tõttu paistab bipolaarsete teradena.

Bakterite rakutuuma (nucleus) üle on palju vaieldud, kuid puudub alles lõplik otsus. Siinkohal võiksime tähendada järgmisi arvamisi:

1. Bakterite rakud sisaldavad tuuma. SCHOTTELIUS ja MEYER arvavad, et bakterite rakkudel on mitu (1—5) tuuma. PRLISZ arvab, et tuum jaguneb ja võtab osa eoste tekkimisest.

2. Bakterid sisaldavad differentseerunud tuuma asemel väikesi tuumaterakesi. BÜTSCHLI arvates on endoplasmal alveolaarne struktuur. Alveoolide seintes asuvad terakesed, mida võib värvida tuumavärvidega. Neid teri nimetas ta kromatiiniteradeks. Paljud uuema aja uurijad ühinevad BÜTSCHLI teooriaga ja arvavad, et bakteritel on kromatiinielementidest ehitatud diffuusne tuum.

SCHAUDINN ja teised nimetavad säärast kromatiinisüsteemi kromidiaalseks võrguks. Bakterite rakus puudub tuum morfoloogilises mõttes ja tuuma substants on hajunud kogu rakukehas. Bakteritel on keemiline, kuid mitte morfoloogiline differents raku protoplasma ja tuuma substantsi vahel (7. joon.).



7. joon. Bacillus maximus buccalis. Kromidiaalvõrk mikroobi rakus. (Guillermond'i järele.)

3. Bakterite rakk on tuum ilma plasmata (RUZICKA, AMBROZ jne.).

4. Bakterites ei leidu tuumasubstantsi. FISCHER, MIGULA ja teised arvavad, et kromatiiniterade sarnased moodustised ei ole muud kui toidu-tagavara.

Bakterite rakkudes leiduvad mitmekesised sisaldised. BABES leidis paljudest bakteritest üksikult või hulgaviisi terakesi. MEYER tegi kindlaks, et suurem osa nendest on rasvaterad. Teine osa teradest kujutab volutiiniteri, millede läbimõõt sagedasti suurem võib olla bakteri raku läbimõõdust. HINZE ja MEYER leidsid bakterite rakus terakesi, mis sisaldasid glükogeeni. Peale selle on leitud bakterite rakkudest väävlitilku ja oblikhappe-soolade teri, mida peetakse osalt toidutagavaraks ehk jälle ainetevahetuse produktideks (8. joon.).

Bakterite raku vakuoolide vedelik sisaldab mitmekesiseid anorgaanilisi ja orgaanilisi aineid.

Olulisteks produktideks, mis bakterite rakkudes tekivad, on väga mitmekesised ensüümid ja toksiinid, millede uurimine suuremaks ja raskemaks ülesandeks on mikrobioloogias.

Liikumise suhtes jagunevad bakterid kahte liiki: ühed liiguvad iseseisvalt, teistel puudub iseseisva liikumise võimalus. Osa bakteritest liigub ilma eriliste liikumisorganite kaasabita rütmiliste kontraktsioonide teel. Suurem osa baktereid liigub viburite abil. Vibureid nägi bakteritel esimesena EHBERT (1838). Liikumise kiirus on väga mitmekesine. Ühed liiguvad kiiresti: 20—40 μ sekundis (vibrio chole-

rae), teised pikkamisi: 10—12 μ sekundis (bac. subtilis, bac. tetani). Bakterite liikumise kiirust võivad paljud mõjud kahandada või koguni kaotada. Kuumus (juba 49—55° C.) ja külm takistavad liikumist. Vanades kultuurides võivad mõned bakterid liikumise hoopis kaotada. Iseseisvat bakterite liikumist ei tohi ära segada Browni molekulaarse liikumisega, mis muud ei ole kui mikroobide ehk aineterakeste hõljumine koha peal, ilma et nad oma kohta muudaksid.

Vastava värvimismeetodiga on võimalik vibureid värvida. Ultramikroskoobi tarvituselevõtmine võimaldas viburite uurimist elusate bakterite küljes. Viburid on loogelised peenikesed niidid, millede läbimõõt ulatub ainult 0,02—0,03 μ. Viburid on õrnasti kinnitatud bakteri raku külge ja murduvad kergesti.

Van TIEGHEM arvab, et viburid on bakteri raku ektoplasma osad. ZOPF näeb nendes protoplasmaniidikesi, mis kesta urvetest välja kasvavad.

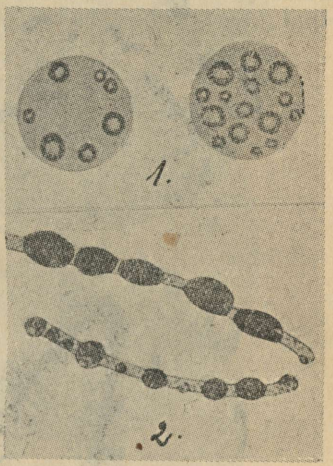
MESSEA nimetas iseseisvalt liikuvaid viburitega bakterеid — trichobacteria, paigalseisvaid ilma viburiteta — gymnotricha. Silmas pidades viburite hulka ja nende kinnituskohta raku külge jagunevad esimesed:

1) Monotricha — ühe viburiga (vibrio cholerae asiaticae, bacterium pyocyaneum).

2) Lophotricha — viburite kimp bakteri ühes otsas (spirillum undula, spirillum serpens).

3) Peritricha — hulk vibureid bakteri raku ümber (proteus vulgaris, b. typhosus, bacillus subtilis).

4) Amphitricha — viburite kimbud raku mõlemis otsis. Viimaste kohta oleks põhjust arvata, et pooldumise eel ilmuvad viburid bakteri mõlemis otsis, enne kui raku jagunemine on lõppenud. Monotricha ja lophotricha liiki bakterid liiguvad, viburid ees (9. joon.).

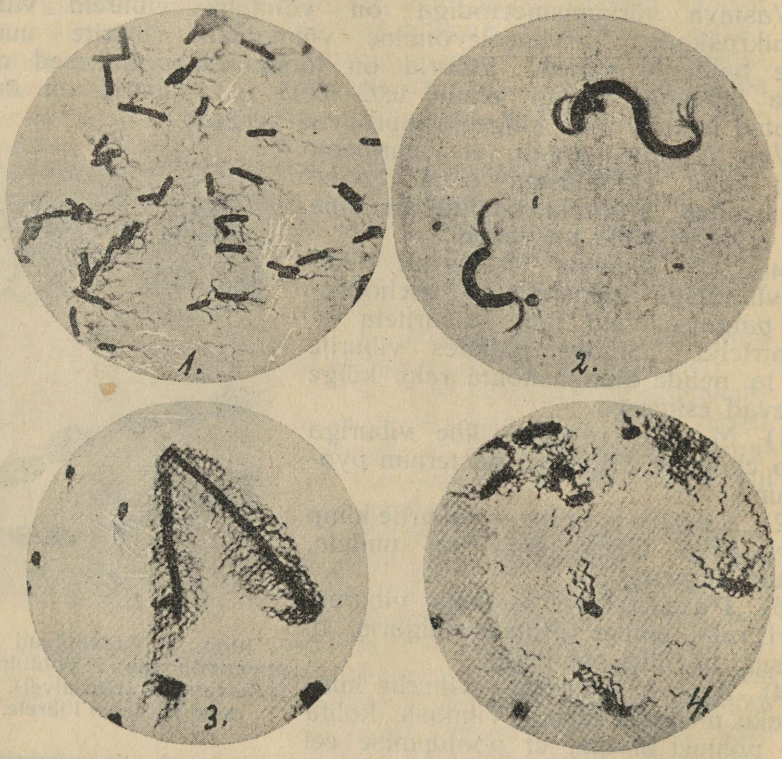


8. joon. 1. Väävlitilgad (thiophysa volutans). 2. Volutiiniterad ja rasvatilgad (bac. alvei). (Nadsoni ja Meyer'i järele.)

Uuemate andmete järele aitavad viburid oma suure pinna tõttu siduda spetsiifilisi agglutiniine. On tähele pandud, et mõnedel bakteritel puuduvad kauema aja jooksul viburid ja liikumine, mis aga teadmata põhjustel korraga ilmuvad.

Bakterite sigimine sünnib pooldumise (divisio) teel ja eoste ehk spooride abil. Pooldumisel jaguneb täiskasvanud emarakk kaheks tütarrakuks, mis teineteisest kas peatselt vabanevad või ühendusse jäävad. Teatavais tingimusis sirguvad bakterite rakud pikkadeks niitideks, mis lagunevad pärast osadeks. Jagunemise kiirusest oleneb sagedasti bakterite suurus. Batsillide pooldumisel näeme, et noored rakud on vanadest lühemad. Vastav soojus kiirendab jagunemist, päikese kiired takistavad seda. Soodsais kas-

vutingimusis muutub bakterite arv 20—40 minuti jooksul kahekordseks. COHN'i andmete järele võib ühest bakterist 48 tunni jooksul 271 biljoni bakterit saada, mis oleks $^1/_2$-liitrilise ruumalaga. 3 päeva jooksul tekiks neid säärasel hulgal, et nad kõik mered ja ookeanid võiksid täita. Tõepoolest ei sigi aga bakterid looduses nii kiiresti. Nende sigimist takistavad toidu- ja veepuudus, mürgilised ollused,



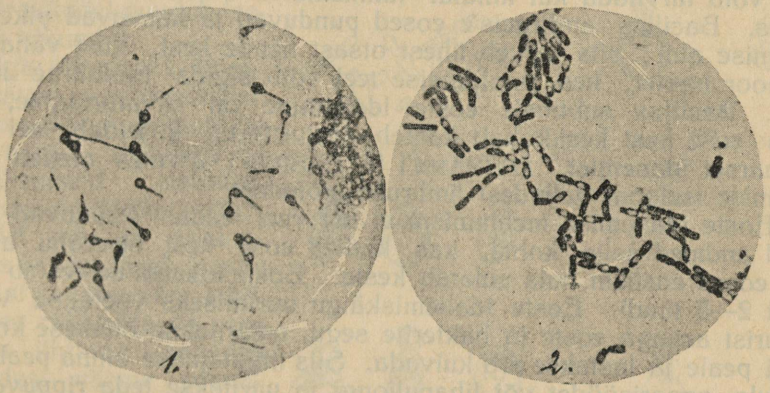
9. joon. Viburid. 1. B. typhi. 2. Spirillum undula. 3. Proteus vulgaris. 4. B. tetani. 1000 korda suurend.

mis tekivad nende ainevahetuse tagajärjel, temperatuuri kõikumine, valguse mõju jne. Kasvades kunstlikul söötmel surevad bakterid kiiresti, nimelt toidu eest võideldes ja toksiinide mõju all, mida nad ise valmistavad. Et bakterite kultuuri kauema aja jooksul elus hoida, peab neid tihti värskele söötmele ümber külvama, kuid selle peale vaatamata surevad mõned liigid kiiresti ära.

Mõnede bakterite rakkudes tekivad mittesoodsail kasvutingimusil eosed. Kõige sagedamini leiame neid batsillidel, kuna kokkidel ja spirillidel neid veel ei ole tähele pandud. Eoste ülesleidja oli PETRI (1852). Nende tekkimisprotsessi õppisid põhjalikult tundma COHN, KOCH ja SCHAUDINN. Bakterite eosed on sugu alalhoidjad;

nad on püsivad eluvormid, mis tekivad siis, kui pahad ümbruse mõjud bakterit surmaga ähvardavad. Eosed ei teki, kui bakter kasvab elusas organismis. Kunstlikul söötmel tekivad nad, kui kultuuris kahanevad toitained ja ilmuvad mürgilised ollused; seepärast võib eoseid rohkem leida vanades kultuurides (10. joon.).

Bakterite eosed on ümmarikud või ovaalsed. Nad tekivad endogeensel teel, ja kui rakk puruneb, siis vabanevad eosed. Eost ümbritseb tihe kest, mille välimist osa nimetatakse eksospooriumiks, sisemist osa entospooriumiks. Kest ei lase vett mitte kergesti läbi; ta sisaldab rasv- ja tõrvollust, mis võib põhjuseks olla, et eoste värvimiseks peab tarvitama isesugust värvimisviisi. Eoste protoplasma ei sisalda vakuoole ja sisaldab vähe vett. Tihti muutub kogu rakuprotoplasma üheks väikeseks eoseks, mille tõttu eose protoplasma on väga tihe. Eosed on väga visad vastu pidama kuivusele, kuu-



10. joon. Eosed. 1. Bac. tetani. 2. Bac. subtilis. 1000 korda suurend.

musele ja keemiliste mürkide mõjule. Eoste suurus on väga mitmekesine, kuid enam-vähem kindel ühele ja samale bakteriliigile.

Igas bakteri rakus tekib üks eos, mis asetseb raku otsas või keskel. Kahe või mitme eose tekkimise kohta ühes bakteris erinevad arvamised.

Eoste tekkimise eel jäävad seisma liikuvad mikroobid, ilma et ära kaoksid nende viburid. Tihti muutub bakteri vorm enne eoste tekkimist. BUNGE arvates algab eoste tekkimisprotsess protoplasma koondumisega raku keskele või otsa. Homogeenses protoplasmas tekivad väikesed terakesed, mis kokku liitudes eose annavad. Lõpuks ilmub eose ümber kest. Eoste tekkimise kohta puuduvad alles lõplikud andmed.

Mõned bakterid kaotavad teatavais kasvamistingimusis eoste valmistamise funktsiooni, millele järgnevad asporogeensed generatsioonid. BEHRING sai asporogeenseid generatsioone söötmetega, milledele ta juurde lisas natr. caustic., safraniini, malahiitrohelist jne. ROUX sai asporogeenseid bakterite generatsioone, kui bakterid kas-

vasid söötmel, mis sisaldas väikesel määral karboolhapet, samuti ka siis, kui kultuurid kasvasid 40—41° C. soojuses. NADSON leidis, et asporogeensed generatsioonid võivad tekkida bakterite eneste valmistatud toksiini mõjul.

Satub asporogeenne generatsioon vastavaisse elutingimusisse, siis tekivad uuesti sporogeensed generatsioonid.

Bakterite suguliste protsesside üle ei ole veel selgusele jõutud. Tuntud on ainult üksikud juhtumused, kus bakterid enne eoste tekkimist poolduvad ja siis ühtivad (copulatio), millele järgneb eoste tekkimine. Seda nähtust peavad SCHAUDINN ja NADSON suguliseks protsessiks ja nimetavad seda autogaamiaks ehk adelfogaamiaks.

Bakterite eosed võivad aastate jooksul puhata ja elu alal hoida. Satuvad nad soodsaisse elutingimusisse, siis algab nende idanemine. Eoste idanemiskäik on mõnedel bakteritel sedavõrt iseloomulik, et seda võib tarvitada kui kindlat tunnismärki bakterite differentseerimiseks. Bacillus anthracis'e eosed punduvad ja kasvavad pikemaks idanemise alul; siis katkeb ühest otsast nende kest, kust välja kasvab noor bakter, kes pooldumise teel võib sigida (polaarne idanemine). Bacillus subtilis'e eoste idanemine on ekvatoriaalne, kusjuures eose kest keskkohalt katkeb. BURCHARD kirjeldab veel eoste bipolaarset idanemist. LEHMANN'i ja CASPAR'i arvates oleneb eoste idanemise iseloom paljudest ümbruse mõjudest.

Eoste idanemise mehhanism ei ole veel teada. Puuduvad kindlamad andmed selle kohta, kas katkeb eose kest siserõhu all või tekib eoses ensüüm, mis sulatab kesta. Eoste idanemine kestab keskmiselt 2—5 tundi. Eoste idanemiskäigu uurimiseks võetakse vanast kultuurist aasaga eoste ja bakterite segu, määritakse õhukese korrana klaasi peale ja lastakse ära kuivada. Siis tilgutatakse sinna peale üks tilk sula agaarisöödet või lihapuljongi ja uuritakse teda rippuvas tilgas soendatava objektilaua peal mikroskoobi all. Veel kergem on seda toimetada termostaadi-mikroskoobi abil, kus mikroskoop viibib alati soovitavas soojuses ja vaatlemine on võimaldatud termostaadist väljaulatuva okulaari läbi.

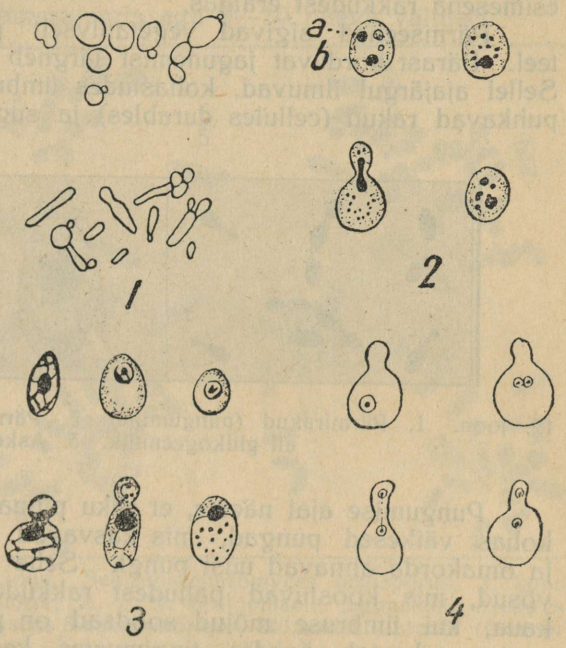
II. Pärmseente morfoloogia (saccharomycetaceae).

SCHWANN leidis (1836), et piirituse käärimist väikesed taimelised organismid esile kutsuvad; ta nägi (1839) esimesena nendes rakkudes eoseid. MEYEN nimetas neid mikroobe suhkruseenteks — saccharomyces — ja vaatas nende kui seente peale. Mõned autorid mahutasid pärmid bakterite liiki (blastomycetes). HANSEN, LINDNER, BARKER, NADSON j. t. tegid kindlaks, et pärmid on isesugused mikroorganismid, mis suguluses on kottseentega (ascomycetes). HANSEN ja BUCHNER uurisid põhjalikult pärmide bioloogilisi omadusi ja selgitasid nende tähtsust käärimisprotsessides.

Pärmseente uurimised on alles puudulikud ja nende klassifikatsioon ei ole veel lõplikult välja kujunenud. Tuntud pärmideuurija GUILLERMOND (1912) jagab oma monograafias need mikroorganismid kahte gruppi: 1) saccharomycetaceae — pärmid. Need

on üherakulised seened, mis sigivad pungumise teel ja mis kopulatsiooni järel annavad askospoore. Igast askospoorist areneb uus vegetatiivne rakk; 2) non-saccharomycetaceae — pärmide sarnased organismid, mis sigivad ilma askospooridetа. Silmas pidades raku vormi, sigimisviisi ja bioloogilisi funktsioone, võib iga ülalnimetatud gruppi jagada mitmesse perekonda, millede arv pea iga aastaga kasvab (11. joon.).

Vormi poolest on pärmirakud: sõõrjad (saccharomyces cerevisiae), ellipsisarnased (s. ellipsoideus), pulgasarnased (mycoderma), ümmarikud (oidium), teravaotsalised-sõõrjad (s. apiculatus), niidi- ja amöö-bisarnased. Üksikute liikide rakud võivad kujuneda seeneniidi sarnaseks. Pärmirakkudel puudub iseseisev liikumine.



11. joon. 1. Saccharomyces-rakkude vorm. 2. Saccharomyces-raku tuum (a), metakromaatilised kehakesed (b). 3. Saccharomyces cerevisiae. 4. Pärmseente pungumine. (Guillermond'i järele.)

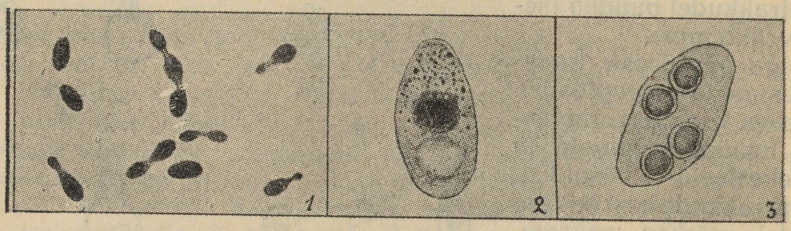
Iga pärmirakk koostub kestast ja protoplastist. Viimases leiame protoplasmat, tuuma, vakuoole ja mitmekesiseid sisaldisi. Noorte rakkude kest on õrn, vanadel märksa paksem. Kestas võime tähele panna välimist ja sisemist kihti. Noortes rakkudes on protoplast ühtlane, vanades rakkudes näeme pinnapoolses osas homogeenset protoplasmat, kuna keskmised osad sisaldavad vakuoole ja väikesi terakesi (granula). Vanadest rakkudest leiame sagedasti rasvatilku. Vahel tekib rakkude kesta peale limakord, mille tõttu rakud ühte kleepuvad ja kääriva vedeliku pinnale nahakese sünnitavad (12. joon.).

Kestast on leitud tselluloosisarnast ollust, tärklisollust, dekstriini, pektiinollust ja mitmekesiseid mineraal-olluseid. Kesta keemiline koosseis oleneb nähtavasti raku vanadusest ja paljudest meile teadmata tingimustest.

Pärmirakkudest leiame morfoloogiliselt enam-vähem differentseerunud tuuma (nucleus), mida võib värvida Giemsa meetodil või Heidenhaini raua-hämatoksiliiniga. Tuum on enamasti ümmarik ja jaguneb karüokineesi teel, mis märksa lihtsam on kui kõrgemate taimede rakkudes. Tuum võib korduvalt jaguneda ühes rakus ja siis esinevad mitme tuumaga rakud.

Raku protoplasma on retikulaarse ehitusega. Ta sisaldab ühe või mitu vakuooli. Mida vanem rakk, seda rohkem vakuoole. Vakuoolides asetseb rakumahl, mis sisaldab glükogeeni, kristalloide ja teisi anorgaanilisi ning orgaanilisi olluseid. Protoplasmas ja vakuoolides näeme teri (granula), millede arv nähtavasti ühenduses seisab raku toitumisega. Enam jagu teri on rasvatilgad, tihti aga glükogeenilademed. Need oleksid toitainete tagavaraks, mida rakud tarvitavad kasvamise ja pungumise ajal. Pärmirakud sisaldavad ensüümi, mis esile kutsub suhkru fermentatsiooni ja mida BUCHNER esimesena rakkudest eraldas.

Pärmseened sigivad vegetatiivselt pungumise ja pooldumise teel. Pärast korduvat jagunemist järgneb rakkude puhkamis-ajajärk. Sellel ajajärgul ilmuvad, kohastudes ümbruse mõjudele, vegetatiivselt puhkavad rakud (cellules durables) ja suguliselt eosed (sügospoorid).



12. joon. 1. Pärmirakud (pungumine). 2. Pärmiraku ehitus: keskel nucleus, all glükogeenitilk. 3. Askospoorid.

Pungumise ajal näeme, et raku pinnal tekivad ühes või mitmes kohas väikesed pungad, mis kasvavad kiiresti emaraku suuruseks ja omakorda annavad uusi pungi. Selle tõttu tekivad tihti okslised võsud, mis koostuvad paljudest rakkudest. Pungumine kestab niikaua, kui ümbruse mõjud soodsad on pärmirakkudele. Pungumisprotsess kestab heades tingimustes keskmiselt 2 tundi. HANSEN ja teised leidsid, et pärmide pungumine on kõige kiirem 22—28° C. soojuses. Kuid pungumise temperatuuri maksimum ja miinimum kõiguvad väga laiades piirides: 5—34° C. Punguvate rakkude vorm on väga muutlik ja oleneb temperatuurist. Kääriva vedeliku pinnale tekib tihti nahake, mis koostub piklikkude rakkude võsudest ja mis meelde tuletab seeneniitide põimikut. Kääriva vedeliku põhjas on sama pärmi rakud hoopis teist vormi.

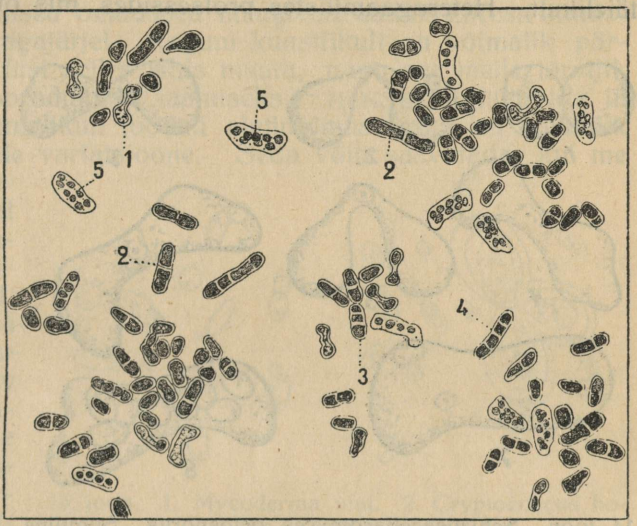
Jagunemine pooldumise teel on iseloomulik schizosaccharomyces'tele. Rakkudes tekivad alguses vaheseinad, mille järele rakk kaheks osaks laguneb. Tihti kasvab pärmirakk pikaks niidiks, kus tekib mitu rist-vaheseina, ja rakk langeb mitmeks tütarrakuks (13. joon.).

Paljudel pärmidel (saccharomyces) tekivad puhkavad rakud. Nad ilmuvad kääriva vedeliku põhja siis, kui käärimisprotsess on lõppenud ja vedelik sisaldab ülemääral viinapiiritust ja orgaanilisi happeid. Puhkavad rakud on püsivad elu alalhoidjad; nad on kaetud kahekordse kestaga ja sisaldavad õli- ning glükogeenitilku. Satuvad seesugused

rakud uuesti soodsaisse elutingimusisse, siis katkeb välimine kest ja pärmirakk algab uuesti pungumist.

Paljudel saccharomycetes'tel tekivad pahadele mõjudele vastupidavad vormid — eosed (askospoorid). Askospoorid viibivad emarakus ja tekivad ainult teatavail tingimusil. Nende tekkimiskäiku võib ligemalt tundma õppida, kui kasvatatakse pärmirakkusid Gorodkova söötmel, mis sisaldab: 1% agaar-agaari, 1% lihaekstrakti, 1% peptooni, ½% NaCl ja ¼% glükoosi. HANSEN nägi, et eoste tekkimiseks on tarvilik hea õhustus ehk aeratsioon, soodus soojus, rõskus ja toitaine raskendatud juurdepääsmine rakkudele. 28° C. soojuses tekivad eosed 3—4 päeva jooksul, toatemperatuuris aga 9—10 päeva vältusel.

Eoste arv ühes rakus on mõnel pärmiliigil ühesugune ja neile iseloomulik, kuna teistel eoste arv kõigub 1 ja 12 vahel. Askospoorid on harilikult ümmarikud ja nende kest on enamasti sile, ainult üksikuil juhtumustel on ta mügarline.



15. joon. Schizosaccharomyces octosporus. 1. kopulatsioon; 2., 3., 4. protoplasma jagunemine ascus'es; 5. ascus 8 askospooriga. 440 korda suurend. (Brumpt'i järele.)

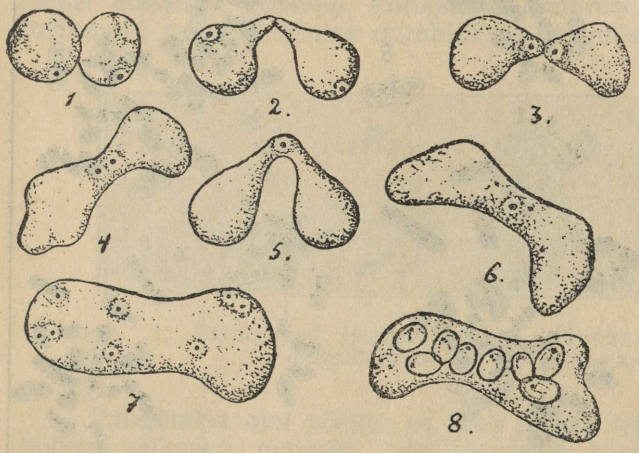
Eosed tekivad suguta ja suguliselt. Suguta eoste tekkimine — partenogenesis ehk neitsissünd — tuleb ilmsiks, GUILLERMOND'i arvates, niisuguseil juhtumusil, kui kaks pärmirakku olid valmis suguliseks liitumiseks, kuid mõnedel teadmata põhjustel jäi sugulise protsessi arenemine seisma ja igas rakus tekkis partenogeneetiliselt üks eos.

Sugulist pärmirakkude ühtimist — kopulatsiooni — nägi esimesena HANSEN. GUILLERMOND'i arvates on kopulatsiooni käik järgmine: kaks ühe tuumaga rakukest liginevad teineteisele ja kummagi pinnal tekib nokasarnane muhk; nokad puutuvad teineteisega kokku, rakutuumad liiguvad raku otstesse, siis katkevad rakkude vaheseinad ja tekib kopulatsioonikanal, mille kaudu ühtivad mõlemad tuumad. Ühtinud tuum jaguneb mitmeks osaks, vastavalt eoste arvule, kopulatsioonikanal laieneb ja lõpuks tekib kott (ascus) endogeensete eostega. Sugulist protsessi, kus ühtivad rakud on sedavõrt sarnased, et võimatu on vahet teha isa- ja emaraku vahel, nimetatakse isogaamiaks.

Teistelt pärmirakkudelt leiame, et kopulatsiooniprotsessi ajal ühe raku sisaldis voolab kanali läbi teise täiesti sarnase raku sisse, kus need mõlemad ühtivad. Ühtinud rakk muutub kotiks, mis sisaldab

eoseid. Sel korral on ühtivad rakud morfoloogiliselt sarnased, kuid me võime juba vahet teha isa- ja emaraku vahel. Seesugune suguline protsess on üleminekuks isogaamiast heterogaamiasse (14. joon.).

Heterogaamilises protsessis, mida pärmirakkudel sagedasti ette tuleb, näeme, et üks ühtivaist rakkudest morfoloogiliselt erineb teisest, ja algusest peale on võimalik vahet teha isa- ja emaraku vahel. Ühtivad kaks mitte ühevanust rakku, siis paistab silma vahe nende suuruses. Vähema, isaraku sisaldis voolab tekkinud kanali kaudu suuremasse emarakku, kus ühtivad nende tuumad ja protoplasma. Emarakk eraldub isarakust vaheseina läbi ja muutub eoste kotiks. Isarakk viibib veel mõnda aega emaraku pinna küljes ja kaob pärast täielikult. Heterogaamilistes protsessides, mis on väga mitmekesised, näeme, et üks rakk on sugutaja, teine sugutatav. Pärmirakkude mõlemad sugulised protsessid, isogaamia ja heterogaamia, kannavad üldist nimetust endogaamia, mis näitab, et kopulatsiooniprodukt ehk ühtimissaadus jääb raku sisse.



14. joon. Schizosaccharomyces octosporus. Suguline sigimisprotsess — isogaamia. 1—7. sugulise liitumise staadiumid; 8. ascus eostega. (Guillermond'i järele.)

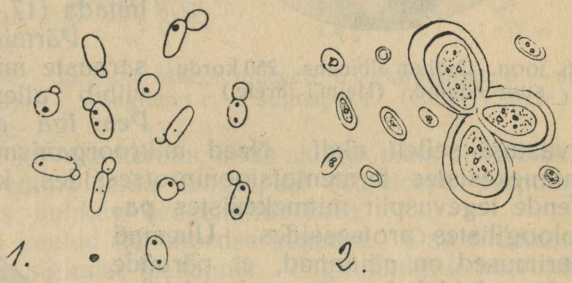
Satuvad eosed soodsaisse elutingimusisse, siis algab nende idanemine, mis on väga mitmekesine. Ühel juhtumusel (saccharomyces cerevisiae) hakkavad eosed punguma kotis (ascus), mille kest hiljemini katkeb; eosed vabanevad ja algavad uuesti pungumist. Teistel juhtumustel näeme, et eosed algavad idanemist juba kotis. Mõne pärmiliigi arenemiskäigus võib märgata eoste idanemisajal niisugust kopulatsiooni, kus kopulatsiooniproduktist ei teki enam uusi eoseid, vaid ta algab sigimist pungumise teel. Seesugune nähtus annab tunnistust pärmide sugulise ja suguta generatsiooni vaheldusest.

Pärmirakkude morfoloogilised ja bioloogilised omadused võivad muutuda mitmekesiste mõjude tagajärjel. Selle tõttu ilmuvad pärmirakkude uued variatsioonid. Juba SCHWANN'i ja MEYEN'i ajast olid tuntud õlle- ehk leivapärmid (saccharomyces cerevisiae) ja viinapärmid (saccharomyces vini). HANSEN ja tema järeltulijad näitasid, et neisse kahte liiki kuulub suur hulk variatsioone, mis üksteisest vähe erinevad. Hansen jagas pärmirakkude variatsioonid kahte liiki: 1) püsimata variatsioonid, mis muutunud ümbruse mõjude tagajärjel ilmunud uusi omadusi püsivalt alal ei hoia, vaid peatselt tagasi pöörduvad endisesse olekusse; 2) püsivad variatsioonid, mis vast-

tekkinud omadusi alal hoiavad kauema aja jooksul, vaatamata selle peale, et muutunud on elutingimused.

Hansen leidis, et käärimisprotsessis on tegevad kahesugused pärmid. Ühed on tegevad pinna, teised põhja käärimisel. Pinna käärimiseks on tarvis rohkem soojust; pärmirakud punguvad kiiresti, kääriva vedeliku pinnale koguneb palju vahtu ja pärmirakud liiguvad põhjast vedeliku pinnale. Põhja käärimine nõuab vähem soojust, käärimisprotsess on rahulikum ja pärmid jäävad kääriva vedeliku põhja. Iga pärmi variatsioon annab suhkru käärimisel isesugused käärimisproduktid. Seda tuleb alati silmas pidada, kui tarvitatakse pärmisid üheks või teiseks tehniliseks otstarbeks.

Pärmide bioloogilised omadused muutuvad kaunis kiiresti mitmekesiste elutingimuste tagajärjel. Koguni kunstlikult on võimalik pärmide bioloogilisi omadusi selles sihis muuta, nagu see meile tarvilik on teatavate käärimisproduktide saamiseks. HANSEN, BEIJERINCK ja LINDNER leidsid, et kunstlikult loodud elutingimuste abil on võimalik saada püsivaid pärmide variatsioone. Seda võib saavutada, kui me kasvatame pärmi kauemat aega näit. kõval söötmel vähemas soojuses. Metsikuiks pärmideks nimetatakse neid, mis asuvad looduses ja ümbrusest (õhust) juhuslikult suhkruvedelikku pääsedes käärimist sünnitavad. Kultiveerimise teel muudetud omadustega ja väärtusega pärmisid nimetatakse kultuurpärmideks.



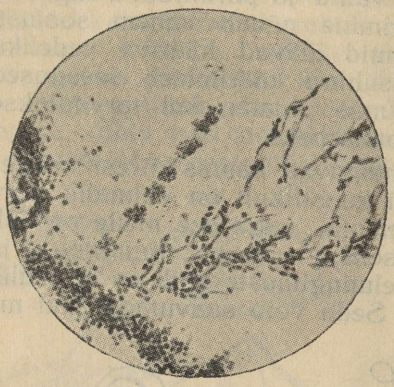
15. joon. 1. Mycoderma vini. 2. Cryptococcus hominis. (Busse järele.)

Metsikud pärmid annavad käärimisel sagedasti hulga mittesoovitavaid aineid, mis muudavad kogu käärimisprodukti alaväärtusliseks. Kultuurpärmisid tarvitades võib saadava produkti väärtust ette näha ja käärimisprotsessi juhtida ühes või teises sihis. Kultuurpärmide valmistamine ja nende uurimine on üks tähtsamaist ülesandeist bioloogias ja tehnoloogilises mikrobioloogias. Viimaste aastate jooksul on sellel alal saavutatud silmapaistvaid resultaate.

Peale pärmide leidub looduses veel hulk taimelisi mikroorganisme, mis on väga pärmide sarnased ja mida kutsutakse pärmisarnasteks organismideks. Nende alla kuuluvad: torulaceae (torula, mycoderma ja cryptococcus) ja pärmide sarnased seened oidium, monilia ja endomyces (15. joon.).

Torula on morfoloogiliselt ja sigimisviisi poolest täielikult sarnane pärmirakkudega, kuid ta ei anna endogeenseid eoseid. Nendest on juba tuntud: torula kephyr — kefiiriterades, torula amara — juustus, torula glutinis — «roosad pärmid». Kõik nad tekitavad piirituse käärimist suhkrulahustes.

Väga sarnane pärmirakkudega on mycoderma. Nendel ei ole leida eoseid, ja seega eralduvad nad pärmidest. Nendest on tuntud: mycoderma cerevisiae, mis annab õllele paha maitse ja on suureks vaenlaseks õllevalmistamisel. Mycoderma vini — hapendab piirituse CO_2-ks ja H_2O-ks ja võib suurt kahju tuua viinavabrikutes.

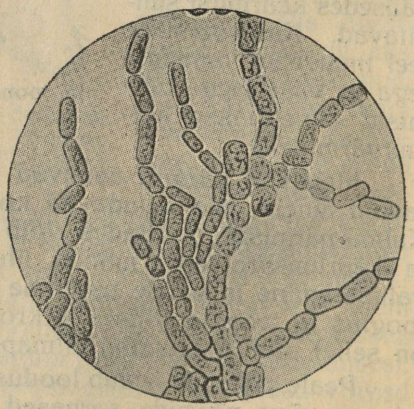


16. joon. Oidium albicans. 250 korda suurendatud. (Heim'i järele.)

Cryptococcus'e rühma kuuluvad paljud pärmide sarnased mikroorganismid, mida võib sagedasti leida patoloogilistes protsessides, niihästi inimese kui ka loomade organismis (16. joon.).

Oidium, endomyces ja monilia on ainult osalt sarnased pärmirakkudega. Nende juures leiame juba iseloomulikke seeneniidikesi, mis jagunevad pooldumise teel. Seesugune nähtus on põhjuseks, et neid «fungi imperfecti» rühma tuleb mahutada (17. joon.).

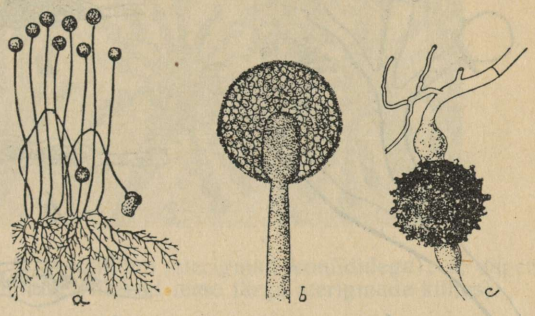
Pärmide, samuti ka pärmide sarnaste mikroorganismide uurimine viibib alles oma arenemisastmel. Pea iga aasta toob kaasa uusi avastusi sellelt alalt. Need mikroorganismid etendavad suurt osa mitmekesistes fermentatsiooniprotsessides, kuid kahtlemata suur on nende tegevuspiir mitmekesistes patoloogilistes protsessides. Uuemad uurimused on näidanud, et pärmide hulgas leidub ka patogeenseid liike. Tuttavad on juba mitmesugused haigusprotsessid, mida esile kutsuvad pärmseened (blastomycosis): abstsessid, kasvajad, põletikud jne. Mõne haiguse puhul (diphtheritis, enteritis jne.) võib tähele panna, et haiguseprotsess on siis palju raskem, kui spetsiifiliste mikroobidega ühes kasvavad pärmseened. Siin puutume kokku sümbiootilise infektsiooniga, millest alles vähe teada. Teisest küljest on suure tähtsusega antagonistlik sümbioos, kus pärmid kas otseteel või nende valmistatud produktidega ühe või teise spetsiifilise mikroobi tegevust takistavad ja sellega terapeutilist mõju avaldavad. Nii on tuttav, et paisete (furunculosis) ravitsemine pärmiga parandavat mõju sagedasti avaldamata ei jäta.



17. joon. Oidium lactis. 500 korda suurendatud. (Heim.)

III. Hallitusseened (fungi).

Hallitusseente oluliseks omaduseks on, et nad võrku (mycelium) punuvad niitidest (hyphen), mille pinnalt üles kasvavad mitmesugused eoste kandjad. Hallitusseente fülogeneetilise arenemise uurimine viib meid ühest küljest kõrgemate seente, teisest küljest pärmseente juurde. Seente (fungi) klass on väga suur. Nende hulka kuuluvad ilma klorofüllita taimelised organismid, mille vegetatiivset keha nimetatakse seeneniidiks. Alamal astmel seisvail seentel (phycomycetes) kujutab niitide võrku üks ainuke haraline rakk, millel puuduvad rist-vaheseinad (mucor mucedo). Kõrgemal astmel seisvad seened (mycomycetes) on ehitatud paljurakulistest, haralistest, peentest niidikestest (penicillium glaucum).



18. joon. Mucor mucedo. a — kultuurist; b — sporangium; c — sügospoor. (Guiart'i järele.)

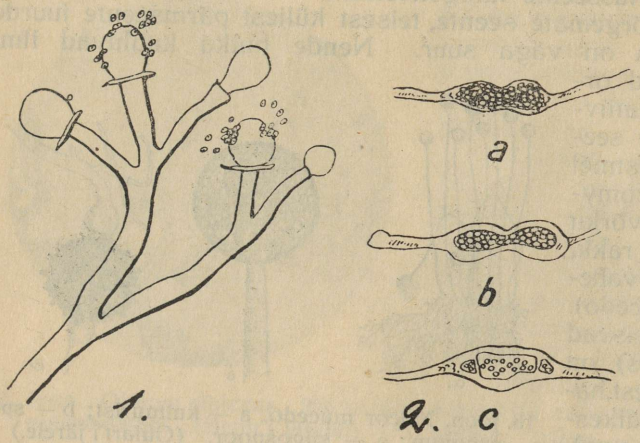
Mõnel liigil on seeneniidid kokku palmitud kõvaks keraks, mida sklerootsiks nimetatakse. Seesugust niitide kera võime leida tungalpeal (claviceps purpurea). Tungalpea on talveunes puhkav seeneniitide kera.

Seeneniidikesed on kaetud kahekordse kestaga. Osa niidikestest täidab toitmise, teine osa sigimise ülesannet. Sigimisniitide korraldus, eoste tekkimise ja nende arenemisviis on iseloomulik igale seeneliigile, mis võimaldab seente äratundmist (18. joon.).

Seente sigimine on suguline ja suguta. Suguta sigimisel tekivad eosed mütseelniidist (endospoor). Seejuures võime tähele panna mitmekesist käiku: 1) Spoorid tekivad ja valmivad sellekohaselt muutunud ümmarikkudes, sõõrjates või pikergustes rakkudes — sporangiumides. Valminud eosed vabanevad sporangiumide seina katkemise või selle sulamise tagajärjel (mucor mucedo). 2) Tihti tekivad eosed seeneniitide oksakeste küljes, mida nimetatakse siis koniidideks ehk eksospoorideks (penicillium crustaceum). Koguni koniidide kandjad võivad ise tükikesteks laguneda, mis siis täidavad eoste osa (oidium). 3) Mütseelniitides tekivad pundunud kohad, kuhu rakuprotoplasma on koondunud. Rakk sureb ja pundunud kohas tekkiv eos vabaneb (klamüdospoorid). Klamüdospoorid on kaetud mitmekordse paksu kestaga ja kujutavad puhkavaid eoseid. Paljudel seentel näeme koniidid sigivat lihtsa pungumise teel (basidiospoorid) (19. joon.).

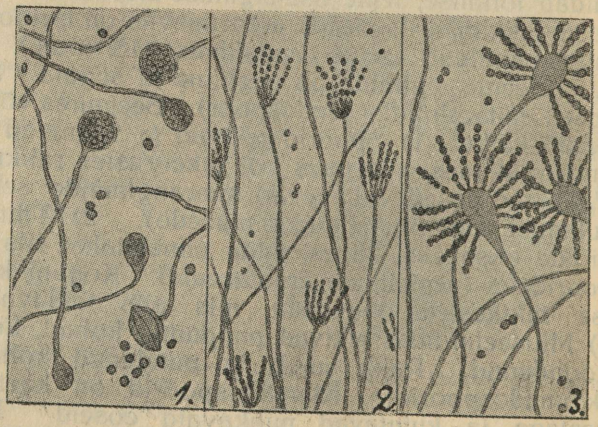
Sugulises sigimisprotsessis näeme kahesugust pilti: 1) isogaamiat, kus kaks suguliselt mitte differentseerunud seeneniidi-osa liituvad, millest tekib eos — sügospoor (mucor mucedo); 2) oogamiat, kus kepisarnane isarakk (antheridium) ümmariku emarakuga (oogonium) ühtides oospoori annab.

Oma ehituse ja bioloogiliste omaduste poolest on seened väga mitmekesised. Laialt tuntud on looduses mucoraceae ehk peadega hallitused, mis pärit on alamate seente (phycomycetes) liigist. Nende seente mütseel on väga haraline ja kujutab üht ainust suurt rakku. Mütseeli pealt kasvavad üles viljakandjad (sporangiumidekandjad), mille otsast leiame üherakulise ümmariku sporangiumi. Sporangiumid on täidetud sõõrjate, kestaga kaetud eostega. Sporangiumikandja ots tungib osalt sporangiumi sisse ja on viimasele aluseks. Seda osa sporangiumikandjast nimetatakse columella'ks, mis oma suuruse ja vormi poolest on iseloomulik igale liigile. Columella pind on pea alati sile, kuid üksikuil juhtumusil on ta kaetud väikeste okastega. Mõnel seeneliigil on sporangiumikandjad okslised, kus iga oks oma otsas kannab sporangiumi.



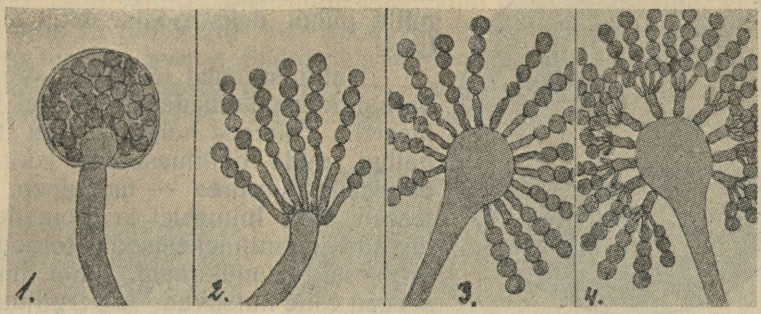
19. joon. 1. Mucor pusillus (ramifikatsioon). 2. Mucor corymbifer — klamüdospooride tekkimine. (Lindt ja Huckel'i järele.)

Pärast eoste valmimist katkeb sporangiumi kest ja vabanevad eosed. Üksikutel liikidel (pilobolus) leiame sporangiumi alt väikese põiekese, mis lõhkedes sporangiumi ühes eostega eemale paiskab. Mucoraceae suguline protsess kujutab tüübilist isogaamiat. Kaks seeneniidi oksakest puutuvad kokku oma otstega; kummastki eraldub väike osake, vahesein nende vahel katkeb ja rakkude sisaldised ühtivad eoseks (sügospoor). Eose küljes viibivad mõne aja jooksul ühtivate rakkude osad, mis pärast ära kaovad. Tekivad eosed ilma sugulise protsessita, siis nimetatakse neid asügospoorideks.



20. joon. 1. Mucor. 2. Penicillium. 3. Aspergillus.

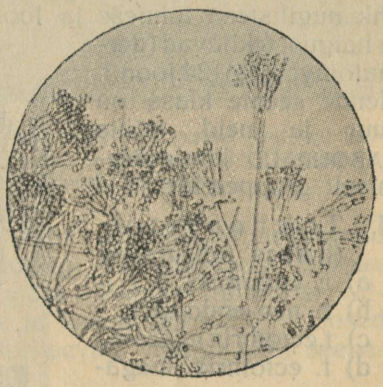
Aspergillaceae perekond kuulub kõrgemate seente (ascomycetes) hulka. Nende seeneniidid on okslised, paljurakulised, mis paksu võrguna kasvavad orgaanilistel ainetel. Nende seente perekonda kuuluvad paljud sugukonnad. Tähtsamad neist on aspergillus ja penicillium (20. joon.).



21. joon. 1. Mucor (sporangium); 2. penicillium (sterigmad koniididega); 3. aspergillus; 4. sterigmatocystis (koniidid viibivad teise järgu sterigmade küljes).

Aspergillus'e seeneniidi küljest kasvab üles üherakuline ilma oksteta koniididekandja, mille otsas on kuulisarnane pea — capitulum. Pea kannab oma pinnal väikesi kasvukesi (sterigma), millede otstes asub ketisarnane eoste rida. Aspergillus'e koniidid on ümmarikud, sileda pinnaga ehk jälle kaetud väikeste okastega. Mütseelid on noorelt valged, muutuvad aga pärast eoste tekkimist kollaseks, pruuniks või mustaks (21. joon.).

Penicillium'i koniididekandjad on paljurakulised, pintslisarnased. Iga haru kannab oma 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 (22.joon.).

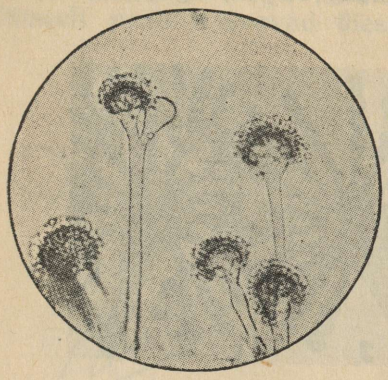


22. joon. Penicillium glaucum. 400 korda suurendatud. (Heim.)

Peale suguta sigimise võib aspergillaceae juures tähele panna sugulist sigimist askospooride abil. Pahades elutingimustes tekivad seeneniitides kuulisarnased punded, mille sees arenevad suguliselt askused. Askus sisaldab 4—8 ümmariku eost.

Hallitusseeni, iseäranis mucoraceae ja aspergillaceae perekonnast, leidub looduses lõpmata hulk. Nad etendavad suurt osa mitmekesistes käärimisprotsessides ja on mõjuvaks teguriks surnud aine lagunemises, võttes sellega osa ainete ringkäigu suurest protsessist. Hallitusseente bioloogilised omadused leiavad uuemal ajal tarvitust tehnoloogiliseks

otstarbeks. Nii on tuttav, et paljud mucoraceae ja aspergillaceae perekonda kuuluvad hallitusseened valmistavad diastaatilist ensüümi, mis tärklist sulatab ja seda suhkruks muudab. Suhkrust saame aga kergesti pärmide abil alkoholi. Citromyces Pfefferianus ja citromyces glabra kutsuvad esile isesugust käärimist, mille puhul dekstroosist tekib sidrunihape.



23. joon. Aspergillus fumigatus. 250 korda suur.

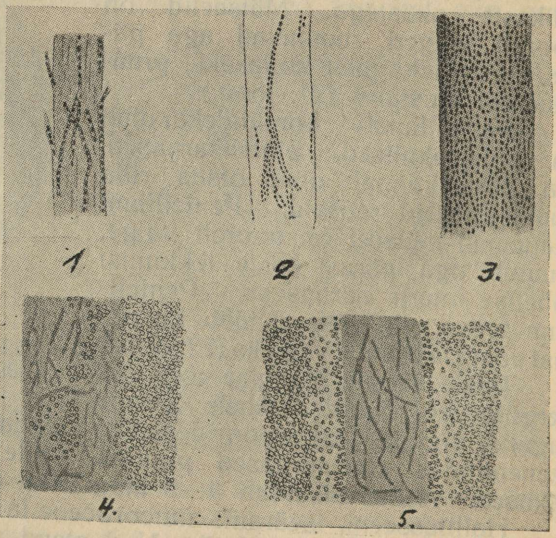
Hallitusseened leiduvad sagedasti parasiitidena taimedel, loomadel ja inimestel. Taimede haigustest on tuntud paljud, mida hallitusseened tekitavad: claviceps purpurea — tungalpea, roosteseen jne. Inimestel ja loomadel leiduvad väga mitmekesised patoloogilised protsessid — mükoosid, mida hallitusseened esile kutsuvad. Aspergillus fumigatus tekitab pseudotuberkuloosi sarnast haigust, aspergilloosi. Mõned seened võivad esile kutsuda üldist infektsiooni (sporotrichosis). Aspergillus pollinis on mesilaste mükoosi tekitajaks. Samuti tuntud on siidiusside mükoosid, mis sagedasti kaasa toovad suurt kahju siiditööstuses (23 joon.).

Peale selle on praegusel ajal tuntud hulk seeni, mis parasiitidena ehk nugilistena inimese ja loomade nahal pesitsevad (dermatofüüdid) ja haigust tekitavad (dermatomycosis) (24.joon.). Nende seente klass on suur ja neid võiks SABOURAUD' järele järgmiselt gruppeerida:

I. Trichophyton (herpes tonsurans).
   a) t. endothrix,
   b) t. neo-endothrix,
   c) t.ectothrix microid.,
   d) t. ectothrix megaspor.

II. Microsporon.
   a) m. Audouini,
   b) m. tardum,
   c) m. lanosum,
   d) m. equinum,
   e) m. fulvum.

III. Achorion (favus).
   a) a. Schoenleini,
   b) a. Quinckeanum,
   c) a. gallinae.



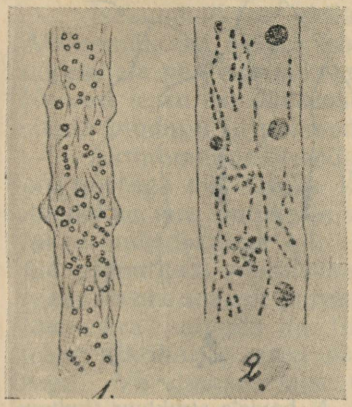
24. joon. 1. Trichophyton endothrix (seeneniidid ja eosed juukses). 2–3. Trich. endothrix (mütseel juukses). 4—5. Trichophyton ectothrix. (Sabouraud' järele.)

IV. Microsporum furfur (pityriasis versicolor).

V. Microsporum minutissimum (erythrasma).

Peale nende on tuntud veel paljud seened, mis mitmekesiseid dermatomükoose esile kutsuvad soojail mail (25. joon.).

Dermatofüüdid sigivad koniidide abil; nende seeneniidikesed ja eosed on väga mitmekesise ehitusega; kuid peab tähendama, et nende morfoloogia ja bioloogia üle puuduvad alles ligemad andmed. Silmas pidades, et dermatofüütide arenemiskäigu üle puuduvad täielikumad andmed, mahutatakse neid esialgu seente gruppi, mis kannab «fungi imperfecti» nime. Fungi imperfecti alla kuulub ka sporotrichum



25. joon. 1—2. AchorionSchoenleini. Juukses õhumullid ja seenemütseel.

26. joon. Sporotrichum Beurmanni (puhtast kultuurist). Koniidid ja seeneniidid. (Monier-Vinard'i järele.)

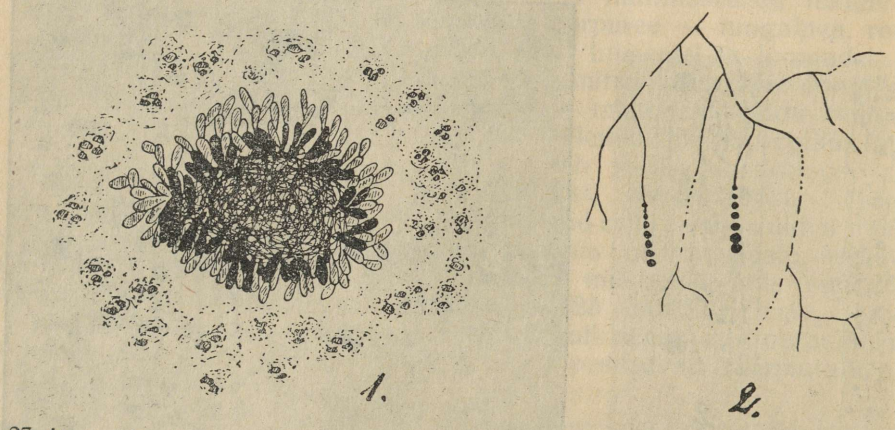
Beurmanni, mis inimeste organismis esile kutsub mitmekesiseid haiguseprotsesse (sporotrichosis). (26. joon.). Haiguspesast eralduv mäda sisaldab harilikult suurel hulgal eoseid. Puhtast kultuurist valmistatud preparaadist leiame mütseelniite ja eoseid (koniidid). Eosed on kerakujulised, pruunikat värvi ja ümbritsevad mantli näol seeneniiti, või nad on koondunud kobaraisse.

IV. Kiirikseened (actinomycetes).

Kiirikseened olid juba ammu tuntud, kuid põhjalikud andmed nende arenemise ja bioloogiliste omaduste üle puuduvad veel tänapäevani. LANGENBECK oli nähtavasti esimene, kes 1845. a. nägi kiirikseeni haige inimese mädas. RIVOLTA, PERRONCITO ja HAHN leidsid 1868.—1875. a. kiirikseeni loomade lõualuu kasvajatest. BOLLINGER kirjeldas neid põhjalikult 1877. a. ja praeguse nime «actinomycetes» andis neile HARZ. PONFICK, ISRAEL, WOLFF ja BOSTROEM tõendasid, et loomade ja inimese patoloogilistes protsessides leitud kiirikseened

on identsed. BERESTNEW tegi kindlaks, et patogeensed kiirikseened leiduvad väljaspool looma ja inimese organismi heintel ja viljakõrtel, mille järele selgusid osalt aktinomükoosi infektsiooni teed.

Kiirikseene keha kujutab ilma vaheseinteta okslist, üherakulist niiti. Niidi läbimõõt kõigub 0,5 ja 1 μ vahel. Niidisarnases raku protoplasmas ei ole leida vaheseinu, kuid mõningail juhtumustel võib näha protoplasma tükeldust ja intervallide tekkimist. Värvime kiirikseene noort niiti tuumavärvidega, siis näeme, et ta värvub ühtlaselt, ainult üksikud terad on intensiivsemalt värvitud. Üldse peab tähendama, et kiirikseente niitide struktuuri kohta puuduvad alles täielikumad andmed. (27. joon.).



27. joon. 1. Actinomyces bovis (tera läbilõik). 2. A. bovis'e struktuur (kultuurist). (Pinoy, Sauvageau ja Radais järele.)

Aktinomütseetide arenemiskäik oleks lühedalt järgmine. Loomade ja taimede koes, kõval ja vedelal kunstlikul söötmel kasvavad seeneniidid, millede külge ilmuvad mõne aja järele õhukoniidid ehk oiidid (NADSON). Värskeis kultuurides segmenteeruvad ehk lõigustuvad niidid ja kujutavad otsekui batsillide ehk koguni kokkide ketikesi. Õhu-oiidid on ketisarnaselt ühenduses ja paistavad varustamata silmale valge kriidipulbri sarnasena. Vormi poolest on nad ümmarikud, sõõrjad või pikergused. Seeneniitide pind, veel sagedamini aga oiidide pind, on limane, mille tõttu oiidid kokku kleepuvad ja niidi otsas mütsisarnane ebasporangium tekib. Seeneniitide ja oiidide kestas leidub üksikuil juhtumustel halli või rohelist värvollust — pigmenti. Oiidide läbimõõt vastab harilikult seeneniidi läbimõõdule, kuid aktinomütseetide involutsioonivormide oiidid võivad olla mitu korda suuremad kui harilikult. Vanades kultuurides ei leidu niite, vaid paistavad silma ainult oiidid. Oiidide idanemiskäiku ei ole veel tundma õpitud.

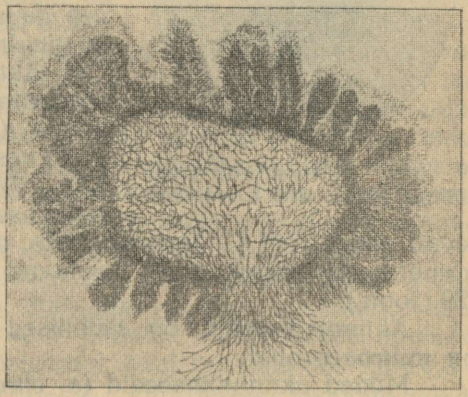
Kõvade söötmete peal kasvavad aktinomütseedid kiirte sarnaselt, mis ka põhjust andis neid kiirikseenteks (actinomycetes) nimetada. Vedelas söötmes kasvavad aktinomütseedid mõnikord söötme pinnal kõva

nahana, mille peal tekib oiididest valge kriidisarnane tolm. Teistel kordadel kasvavad nad jälle kiududena või ebemetena söötme põhjas. Viimasel juhtumusel kasvavad oiididest ainult lühikesed niitide võsud, mis uuesti kiiresti lagunevad ümmarikkudeks ehk sõõrikuiks oiidideks. Säärasel korral näeme sademest valmistatud preparaadis kepi- või munataolisi organisme, mis baktereid meelde tuletavad ja harjumata uurijat kergesti võivad eksiteele viia.

Vedelais söötmeis kasvavas vanas kultuuris tekivad iseloomulised aktinomütseetide terad, mis aja jooksul omandavad ümmariku vormi ja pruuni värvi. Need terad on kas nööpnõela-pea või läätsetera suurused. Teri pooleks lõigates leiame, et nad on ehitatud tihedalt kokkupõimitud seeneniitidest. Kui külvame terad steriilse märja liiva peale, siis kasvab neist uus seeneniitide võrk suure hulga õhuoiididega.

Iseloomulik on aktinomütseetide arenemiskäik organismi kudedes. Aktinomükoosi haiges koes või haiguspesast võetud mädas leiame nööpnõela-pea suurusi valkjat, rohekat või pruunikat värvi terakesi. Noored terad on läbipaistvad, limatükikeste või saagoterade sarnased, sileda pinnaga ja pehmed. Vanad terad on lubjastunud ja kõvad.

Aktinomükoositerade ehituse uurimiseks võetakse traadist aasaga või nõelaga üks terake klaasi peale, kaetakse väikese kateklaasiga, litsutakse tera puruks ja vaadatakse mikroskoobi all. Värvitud preparaadi saamiseks õõrutakse terake klaasil puruks, lastakse ära kuivada ja fikseeritakse alkohol + eeter aa lahusega. Värvitakse siis Grami meetodi järele; pärast absoluutse alkoholiga mõjumist värvitakse järele eosiiniga või safraniiniga.



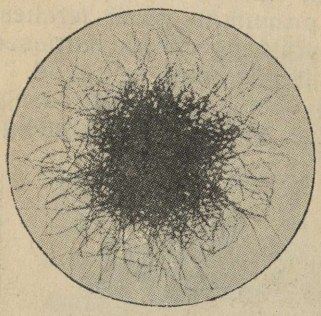
28. joon. Aktinomütseedi tera (keskel mütseel, ümber kolvid).

Igas teras võime tähele panna tsentraalset osa, mis kujutab mütseeli, ja perifeerset osa, mis on ehitatud nuiasarnastest elementidest. Üldtähendatud meetodi järele värvitud preparaadis on mütseeliniidid violetti värvi, nuiasarnased elemendid roosat värvi. Mütseel on ehitatud kokkupõimitud niidikestest, kepikestest ja spooridest. Niitidepõimik on tihedam tera pinnapoolses osas, kust niidikeste otsad tungivad nuiasarnaste elementide sisse või nende vahele. Nuiasarnased elemendid (kolvid) kujutavad nähtavasti niidi transformatsiooni ühte faasi. Võib tähele panna, et kui niidikese ots pundub, siis tekib tema ümber membraan, mis paksemaks kasvab. Paljud autorid tõendavad, et nuiasarnased elemendid on kordlised mütsikesed seeneniitide otstes, kuid lõplikud andmed nende tekkimise üle puuduvad. Nuiakeste pikkus on 5—30 μ, läbimõõt 2—18 μ (28. joon.).

BABES vaatab nuiakeste kui degeneratsiooninähu peale, mis tekivad organismi kudede mõju all ja takistavad seeneniitide edasikasvu. Neid leidub rohkem kroonilistel haigetel ja kui aktinomükoosiprotsess hakkab paranema, siis võib terakesi leida, mis on ehitatud ainult nuiakestest. BOSTROEM ja BERESTNEW arvavad, et nuiakesed pole muud kui limaks muutunud seeneniitide kestad. Aktinomükoosipesast saadud mädas ei leidu iga kord terakesi, vaid ainult niidid ja nende vähemad või suuremad põimikud, mida kergem on üles leida mäda värvimise teel.

Morfoloogiliselt on kõik kiirikseente sugukonnad üksteisega sedavõrt sarnased, et võimatu on seeneniitide ja oiidide vormi põhjal korraldada nende süstematiseerimist. Selleks peab tundma nende bioloogilisi iseärasusi, mille kohta puuduvad täielikumad andmed.

Aktinomütseedid produtseerivad kasvades söötmete peal värvollust-pigmenti, mis on enam-vähem iseloomulik igale sugukonnale. Pigmendid on enamasti amorfsed ja kristalliseeruvad ainult üksikuil (actinomyces violaceus) sugukondadel. Aktinomütseedid värvivad peaasjalikult söödet, kuna nende kehas ei leidu pigmenti. Harva võib pigmenti leida oiidide kestas ja aktinomükoositerades. Pigmendi hulk oleneb hapniku rohkusest söötmes ja toitmistingimustest.



29 joon. Actinomyces (pesa söötme peal). 300 k. suurend.

Aktinomütseetide kasvuks on kõige soodsam 33°—37° C. soojus. Mõne sugukonna (a. chromogenes) oiidid suudavad vastu pidada kõrgele temperatuurile (70°—80° C.), nad surevad ainult 100° C. palavuses. A. invulnerabilis'e oiidid surevad ainult 130° C. temperatuuris, mis lubab oletada, et mõned aktinomütseetide sugukonnad kuuluvad termofiilsete organismide hulka (29. joon.).

Aktinomütseedid on tüübilised aeroobid ja ainult üksikud neist on mikroaeroobid.

Mõned aktinomütseedid (a. chromogenes ja a. albus) valmistavad peptoonisisaldavas söötmes energilist hapendajat kinooni ($C_6H_4O_2$), mis suurt osa etendab maapinnas orgaaniliste ainete oksüdatsioonis. Peale selle on tähele pandud, et aktinomütseedid valmistavad trüpsiini ja diastaasi, mitmekesiseid happeid, väävlisvesinikku, ammoniaaki jne.

Morfoloogiliselt sarnaste aktinomütseetide juures võime tähele panna lahkuminevaid bioloogilisi ja füsioloogilisi omadusi, mida silmas tuleb pidada nende organismide liigitamisel. Vaatamata hulga katsete peale (PETRUSCHKI, LEHMANN, NEUMANN jne.) ei ole veel korda läinud kindlaks määrata aktinomütseetide kohta teiste organismide hulgas. Praegusel ajal peab vaatama aktinomütseetide kui iseseisva mikroorganismide grupi peale, mis osalt sarnased on alama-astmeliste seentega. Nad kujutavad nähtavasti üht gruppi nendest mikroorganismidest, keda peetakse maapealse elu pioneerideks.

Aktinomütseetide liik on suur, tema ülesanded väga mitmekesised. Kui saprofüüdid võtavad nad osa ainete ringimise suurest protsessist. Nad on energilised hapendajad ja edendavad humifikatsiooniprotsessi maapinnas. Ühed aktinomütseedid purustavad valkusid ehk munavalgeolluseid, teised tselluloosi ja tärklisollust, kolmandad toimetavad nitrifikatsiooni. Aktinomütseedid on tüübilised roiskumisprotsesside esilekutsujad korjustes, maapinnas, järvede, merede ja ookeanide põhjas. Peale selle võivad aktinomütseedid esile kutsuda mitmekesiseid patoloogilisi protsesse. Nad on patogeensed taimedele ja tekitavad nendes haigusprotsesse. Samuti võivad aktinomütseedid patogeenset tegevust avaldada inimeste ja loomade organismis, kutsudes esile raskeid kroonilisi protsesse kudedes ja organites.

V. Spiroheedid (spirohaete, treponema).

Spiroheete kirjeldas esimest korda EHRENBERG 1835. a. Praegusel ajal mõistetakse spiroheetide all kruvisarnaselt pikitelje ümber keerdunud või lainetaoliste loogeldustega, niidi- või lindisarnaseid mikroorganisme. Silmas pidades, et siin harilikult tegemist on liiga väikeste olevustega, on nende uurimine seotud mitmekesiste tehniliste raskustega, mille tõttu meil alles puuduvad täielikumad andmed spiroheetide struktuuri üle. Kõige paremini on tundma õpitud suurte spiroheetide (sp. balbiani) ehitust, mida aluseks tuleb võtta nende mikroobide morfoloogia kirjelduses, tähendades selle juures, et meil vähe on teada väiksemate, iseäranis patogeensete spiroheetide struktuuri üle.

Vormi poolest on spiroheedid väga mitmekesised. Neid kirjeldati varemini kui lindisarnaseid organisme, kuid uuemad arvamised kalduvad sinnapoole, et paljud spiroheetidest on silindrikujulised, mille ristlõikepind kujutab sõõri. Mikroskoobis paistev vorm oleneb osalt sellest, kas me spiroheete kuivatatult, värvitult või elusalt uurime. Tehniliste manipulatsioonide mõju all muutub spiroheedi vorm.

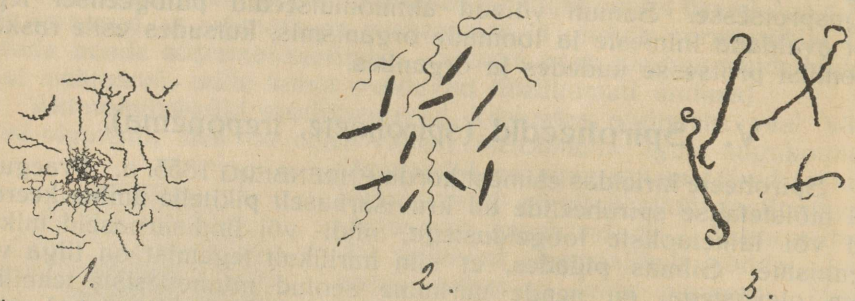
Spiroheetide pikkus ja paksus on väga mitmekesine. Kõige suuremate liikide pikkus ulatub 200—500 μ (sp. plicatilis), kuna 10—50 μ keskmiseks pikkuseks võib pidada. Spiroheetide ristmõõt oleneb osalt nende vanusest. Suuremal osal on ristmõõt 0,3—0,8 μ ja vähemail üksikuil liikidel 1—$1^1/_2$ μ. Spiroheete iseloomustavad nende kehaloogeldused ja keerud. Enamalt jaolt käivad keerud spiraalselt pikitelje ümber. SCHELLACK leidis, et korduva soetõve tekitaja (spir. recurrentis) lainjalt ühes tasapinnas paindub. Loogelduste vorm muutub ühes spiroheedi liikumisega. Loogelduste laius ja sügavus on paljudele spiroheetidest iseloomulik, kuid nad on väga muutlikud ja olenevad paljudest tingimustest (30. joon.).

EHRENBERG kirjeldas spiroheete kui ilma kestata olevusi, teised tõendavad, et neil on kest. Mõnedel suurtel spiroheetidel on leitud membraanisarnane ümbrik, mida peetakse tihedaks vastupidavaks protoplasma välimiseks kihiks (periplast). Väiksematel spiroheetidel ei ole seda nähtud.

SCHAUDINN pani tähele virvendust ja lainjat liikumist paigalseisva spiroheedi keerdudel ja pidas seda virvendava membraani (membrana

undulans) liikumiseks. Teised aga näevad selles protoplasma voolamist spiroheedi kehas. Virvendavat membraani oletavad paljud autorid, kuid peab tähendama, et see pole veel ühegi spiroheedigrupi kohta lõplikult kindlaks tehtud.

Paljud uurijad nägid spiroheetide otstes ja nende pinna küljes niidikesi, mis meelde tuletavad mikroobide vibureid. Ühed (HOFFMANN, v. PROVAZEK, MÜHLENS j. t.) peavad neid väljaveninud periplasti osadeks, teised (KRZYSZTALOWICZ, SIEDLECKI j. t.) kunstlikuks produktiks.



30. joon. 1. Spirochaeta dentium. 2. Spiroheedid ja bact. fusiforme — Vincent. 3. Spirochaeta ictero-haemorrhagica. (Hauduroy järele.)

Lõplikud andmed nende üle puuduvad, kuid on põhjust kahelda, kas meil siin tegemist on tõeliste viburitega.

Mõned uurijad teevad uuemal ajal vahet spiroheetide ja treponeemide vahel. Spiroheetideks nimetavad nad ilma viburiteta, kuid unduleeriva membraaniga kruvisarnaseid mikroorganisme, treponeemideks aga neid, kus puudub unduleeriv membraan ja leiduvad vibud.

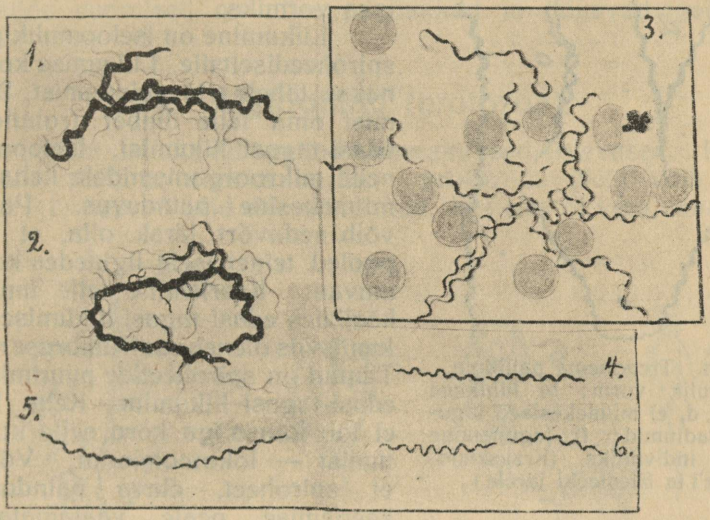
Suurte spiroheetide struktuuri uurimisel selgus, et läbi nende keha jookseb teljeniit, mille ümber asetsevad volutiiniterakesed. Teljeniiti peetakse elastiliseks kujuandjaks spiroheedi keha osaks, kuna volutiiniteradele antakse tuumasarnane tähendus. Spiroheetidel puudub morfoloogiline tuum ja kromatiiniterad on laiali pillatud kogu kehas, nii kui seda bakterite vaatlemisel tähele panime. Ühinedes võivad kromatiiniterad pulgasarnase või ümmariku kogu sünnitada, mis üksikuile uurijaile põhjust andis morfoloogiliselt differentseerunud tuuma oletamiseks.

Väikeste spiroheetide kehas võib näha valgusekiiri murdvaid terakesi, mida tuumolluseks peetakse. Värvitud preparaatides näeme spiroheedi kehas kromatiini ja plasma värviliste kohtade vaheldust, mis põhjust andis arvata, et spiroheedi keha on kärjesarnase ehitusega.

Küsimuse üle, kas spiroheedid on üherakulised või hulgarakulised, on palju vaieldud, kuid lõplik vastus puudub. Uuemad uurijad (MIGULA ja FISCHER) jätavad selle küsimuse esialgu lahtiseks. WECHSELMANN, LOEWENTHAL, NOVY, KNAPP ja teised arvavad, et sp. pallida ja sp. recurrentis'e pikad eksemplarid koostuvad mitmest indiviidist. Seesugust arvamist tõendavad nad sellega, et need spiroheedid on tihti lühikesed ja ainult 2—4 lookega või S-tähe sarnased, mis tekivad

pikast spiroheedist tema jagunemise teel. Mõne spiroheeditõu vorm on enam-vähem püsiv, teistel aga muutlik. Näiteks süüfilisetekitajal spirohaeta pallida'l näeme nii palju vormivariatsioone, et võimatu on neid vormi järele iga kord ära tunda. Koes leiame sagedasti rõngasarnaseid, kepisarnaseid ja pikki teralisi vorme, mis degeneratsiooni- või involutsiooniprotsessi meelde tuletavad (31. joon.).

Kirjanduses leiame tähendusi entsüsteerunud spiroheetide üle, kus spiroheet kokkukeritult peidus on kesta sees. Mõned näevad selles spiroheetide isesugust puhkamisstaadiumi, kus nad kauema aja jooksul



31. joon. Treponema recurrentis. 1 2 viburitega treponeemid; 3 ristijagunemine; 4, 5 ja 6 jagunenud treponeemid. (Koch ja Zettnovi järele.)

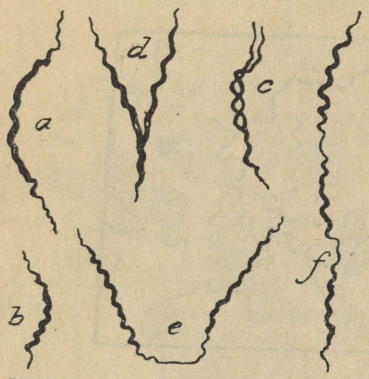
pahades tingimustes elu alal hoiavad, et soodsais tingimusis uuesti sigima hakata.

Spiroheetide jagunemise kohta arvavad ühed, et nad pikuti poolduvad, teised kaitsevad ristipooldumist. Spirochaeta Balbianii kohta tõendatakse, et nende juures ette tulevad mõlemad jagunemisviisid. NORRIS ja tema kaastegelased tõendavad, et mõne spiroheeditõu niidid jagunevad ristipidi korraga mitmeks üksikolevuseks. Spirochaeta pallida'l näeme isesuguse vormi, kus nähtavasti kaks indiviidi ühte otsa pidi ühenduses on ja V-tähe sarnase vormi kujutavad. Säärane pilt annab põhjust oletamiseks, et nad pikuti poolduvad. Teisi eksemplare vaadeldes näeme, et pikaks veninud spiroheet on keskelt peene niidi sarnane ja viibib nõnda-ütelda ristijagunemise lõppstaadiumis (32. joon.).

Spiroheetide pikijagunemise poolehoidjad (SCHAUDINN, HOFFMANN, HERXHEIMER j. t.) asetavad neid mikroorganisme loomariiki, kuna ristijagunemise poolehoidjad (BORELL, ZETTNOW, KOCH, LEVADITI j. t.) neid taimeriiki paigutavad. Nii kui teada, võivad mõned algloomad

pikuti, teised aga risti jaguneda; sellepärast ei ole jagunemisviis küllalt kindlaks aluseks spiroheetide paigutamiseks taime- või loomariiki. Pealegi on mikroskoobilise pildi abil raske otsustada spiroheedi jagunemiskäigu üle. Lahtiseks jääb ka küsimus, kas me kõiki spiroheete võime ühte liiki asetada või on siin tegemist mitmekesiste mikroorganismidega.

Spiroheetide sugulise sigimise üle valitsevad väga mitmesugused arvamised, kuid nad on kõik alles vähe põhjendatud. Leidub arvamisi, et spiroheedid valmistavad spoore, mis on nende püsivaks elu ja tõu alalhoidjaks vormiks.



32. joon. Treponema pallidum. a) loomulik vorm; b) lühikene vorm; c, d, e) mitmekesised jagunemisstaadiumid; f) jagunemine kolmeks indiviidiks. (Krzysztalowicz'i ja Siedlecki järele.)

Liikumine on iseloomulik pea igale spiroheediseltsile. Liikumise korral pannakse tähele: 1) paindumist, 2) keerlemist oma telje ümber (rotatio) ja 3) edasi-tagasi liikumist. Iseloomulik on neile mikroorganismidele keha aktiivne mitmekesine painduvus. Paindumine võib sedavõrt järsk olla, et mõlemad pooled teineteisele liginedes kokku palmuvad. Keerlemine telje ümber käib käsikäes edasi-tagasi liikumisega. Liikumisviis oleneb osalt ümbruse mõjudest. Tuntud on spiroheetide puurimissarnane edasi-tagasi liikumine. Keha liikumine ei too kaasa iga kord selle koha muutumist — lokomotsiooni. Võib näha, et spiroheet, elava paindumise ja keerlemise peale vaatamata, kohta ei muuda. Spiroheedi liikumisfunktsioon võib kaduda, ilma et mikroob sureks. Võtame suhu formamiintableti, siis jäävad suu spiroheedid seisma ja kui meie neid rippuvas tilgas mõne minuti jooksul mikroskoobi all uurime, siis näeme, kuidas nad pikkamööda toibuvad ja uuesti kiiresti liikuma hakkavad. Samuti mõjuvad spiroheetide peale ebasoodus temperatuur, päikesevalgus jne. Igatahes ei tähenda liikumise kadumine iga kord spiroheedi surma.

Elusate spiroheetide morfoloogiat ja liikumist võib uurida ultramikroskoobi abil, kus me näeme pimedal tagaseinal läikivaid mikroobe. Asetades neid ühte või teise vedelikku ja soendades objektilauda, võime osalt uurida spiroheetide vastupidavust ümbruse mõjudele ja teisi eluavaldusi. Suureks spiroheetide uurimise edusammuks tuleb lugeda nende kultuuride saamist kunstlikes söötmeis. Kahjuks on see võimalik ainult üksikute spiroheetidega.

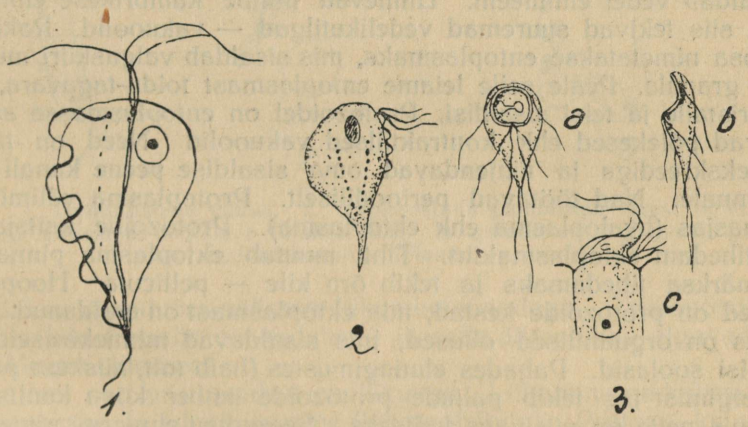
Spiroheetidest on tuntud juba väga mitmed liigid. Ühed nendest asuvad saprofüütidena looduses: vees, mustavee-kogudes, roiskuvas aines jne. (spir. plicatilis, spir. gigantea). Teised viibivad nähtavasti saprofüütidena inimeste ja loomade organismis: suus (spir. dentium, spir. buccalis), väljaheidetes (spir. intestinalis), sekreetides (spir. refringens). Kolmandad kuuluvad parasiitide hulka ja võivad esile

kutsuda mitmekesiseid haiguseprotsesse niihästi inimestes kui loomades: süüfilist (spir. pallida), korduvat soetõbe (spir. Obermeieri), kollatõbe (spir. ictero-haemorrhagica), gangreeni (spir. Castellani), kanade ja hanede spirohetoosi (spir. anserina, spir. gallinarum) ja paljusid teisi haigusi. Nähtavasti võivad mõned spiroheedid, mida me saprofüütidena inimeste ja loomade organismis leiame, soodsais tingimusis patogeenset tegevust alata ja osa võtta mitmekesistest haiguseprotsessidest.

Spiroheedid on osalt energilised orgaanilise aine purustajad ja võtavad sellega osa ainete ringimise bioloogilistest protsessidest. Spiroheetide uurimised on alles puudulikud ja nõuavad igakülgseid täiendusi.

VI. Algloomad (protozoa).

Loomariiki kuuluvad paljud üherakulised olevused, kelledele OWEN juba 1860. a. nimeks andis — protozoa. Neid võib jagada kahte liiki: 1) saprofüüdid ehk mädarikud, kes elavad vees, maapinnas,



33. joon. 1. Trichomonas intestinalis. 2. Trichomonas vaginalis. 3. Lamblia intestinalis: a) otse vaadates; b) profiilis; c) soolte limanaha raku küljes. (Hauduroy järele.)

roiskuvais aineis, ja 2) parasiidid ehk nugilised, kes elavad peaasjalikult inimese ja loomade organismis.

Algloomade uurimine kuulub peaasjalikult zooloogiasse; sellepärast piirdume siin nende organismide kirjeldusega, kellede elutegevusega on seotud patoloogiliste protsesside tekkimine inimestes ning loomades ja osalt taimedes. Siia kuuluksid järgmised: 1) flagellata (trypanosoma, trichomonas, lamblia j. t.); 2) amoebina (amoeba coli, amoeba histolytica jne.); 3) infusoria (balantidium coli) ja 4) sporozoa (coccidia ja haemosporidia) (33. joon.).

Viimaste aastakümnete jooksul selgus, et protozoid on väga mitmekesiste haiguste tekitajad, ja võib oletada, et nendest veel paljud

on tundmatud. Iseäranis silmapaistev on protozoide patogeenne tegevuspiir soojail mail, kuid ka meil on nendega sagedasti tegemist kui tõsiste vaenlastega. See asjaolu sunnib meid peajoontes tutvuma nende loomakeste morfoloogilise ja bioloogilise küljega.

Algloomad on üherakulised organismid. Neil puuduvad koed ja organid, mis töö-eristumiseks väga tarvilikud on metazoidele. Protozoi üks rakk korraldab kõik need toimetused, mis elusat olevust iseloomustavad: ta vastab ärritustele, liigub, võtab toitu, kasvab ja sigib. Nende funktsioonide täitmiseks on protozoi raku protoplasma differentseerunud organellideks, mis on analoogilised metazoide organitega, kuid mitte homoloogilised.

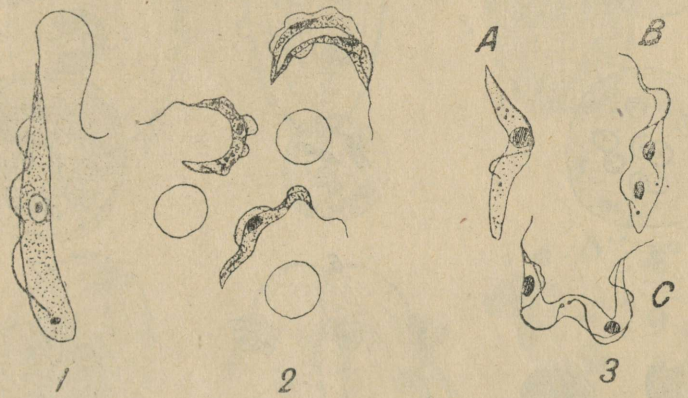
Protozoide suurus on väga mitmekesine. Kõige väiksemad neist on mõni mikron pikad, kuna suuremate läbimõõt võib ulatuda 1—5 millimeetrini, nii et neid võib näha koguni varustamata silmaga. Vormi poolest on nad mitmekesisemad kui bakterid.

Samuti kui kõik rakud, on protozoi rakk protoplasmast ehitatud. Protoplasmal on kärje või võrgu sarnane ehitus. BÜTSCHLI arvates on kärje kambrikeste seinad ehitatud tihedast hüaloplasmast. Kambrikesi täidab vedel enhüleem. Ühinevad mitme kambrikese enhüleemitilgad, siis tekivad suuremad vedelikutilgad — vakuoolid. Raku keskmist osa nimetatakse entoplasmaks, mis sisaldab valguskiiri murdvaid teri — granula. Peale selle leiame entoplasmast toidu-tagavara, eritisteri, kristalle ja teisi sisaldisi. Protozoidel on entoplasmasse asetatud tuksuvad põiekesed ehk kontraktiilsed vakuoolid. Need on täidetud raku ekskreediga ja tühjendavad oma sisaldise peene kanali kaudu rakupinnale. Nad töötavad perioodiliselt. Protoplasma välimine osa on klaasjas (hyaloplasma ehk ektoplasma). Protozoide kaitsjaks on vähe tihedam ektoplasmakiht. Tihti muutub ektoplasma pinnapoolne kiht märksa tihedamaks ja tekib õrn kile — pellicula. Hoopis teissugused on protozoide kestad, mis ektoplasmast on eraldunud. Nende aluseks on orgaanilised ollused, mis sisaldavad mitmekesiseid anorgaanilisi soolasid. Pahades elutingimustes (halb toit, niiskuse puudus), enne sigimist jne. tekib paljude protozoide ümber kõva kuulisarnane kest, mis neile on püsivaks kaitseks. Seesugust eluvormi nimetatakse tsüstiks. Tsüstil on suur tähtsus patogeensete protozoide juures, sest nende üleminek ühest peremees-organismist teise sünnib harilikult tsüstistaadiumis, kus nad on suurel määral kaitstud surmavate mõjude eest. Protoplasmas asetseb raku tuum. Eraldub protozoist osa protoplasmat ilma tuumaosata, siis võib see osa liikuda ja toitu võtta, kuid mitte kasvada ning sigida, ja ta sureb lühikese aja jooksul. Tuumast leiame: akromatiini, millest on ehitatud tuuma võrk, tuuma mahla, kromatiiniteri ja nukleolaar-ollust ehk oksükromatiini. Tuum on sagedasti kestaga kaetud. Tuuma vorm on väga mitmekesine ja võib muutuda raku elu kestusel. Tuumakesi (nucleoli) on kahte selfsi: protoplasma laadi — plasmosoomid ja kromatiinist — karüosoomid. (34. joon.)

Viimsel ajal arvatakse, et protozoidel on kaks isesugust tuuma, mis erinevad teineteisest oma funktsioonide poolest. Üks tüüp — trofonukleus — võtab osa protoplasma metabolismist, teine on kromatiinolluse allikaks, millest tekivad suguliste rakkude tuumad. Tihti

asuvad mõlemad tuumad ühises tuuma kestas ja eralduvad teineteisest ainult sugulise protsessi eel. Suguline tuum võib aga lahus olla trofonukleusest. HAECKEL oli arvamisel, et mõned algloomad on ilma tuumata (monera). Uuemad uurimised on näidanud, et säärastel organismidel on kromatiinollus laialipillatuna kogu tsütoplasmas (diffuusne tuum).

Protozoide rakkudes asetseb WOODCOCK'i, WILSON'i, SCHULTZE, SCHAUDINN'i ja teiste arvates spetsiifiline liikumisollus-kinoplasma. Koondub kinoplasma tuumasarnasteks kehakesteks, siis nimetatakse seda kinetonukleuseks. Võib tähele panna, et protozoide liikumis-



34. joon. 1. Trypanosoma ehitus. 2. Trypanosoma gambiense veres. 3. Tr. gambiense: A. Glossina palpalis'e londis. B.C. Tr. gambiense jagunemine glossina palp. seedimiskanalis. (Hauduroy järele.)

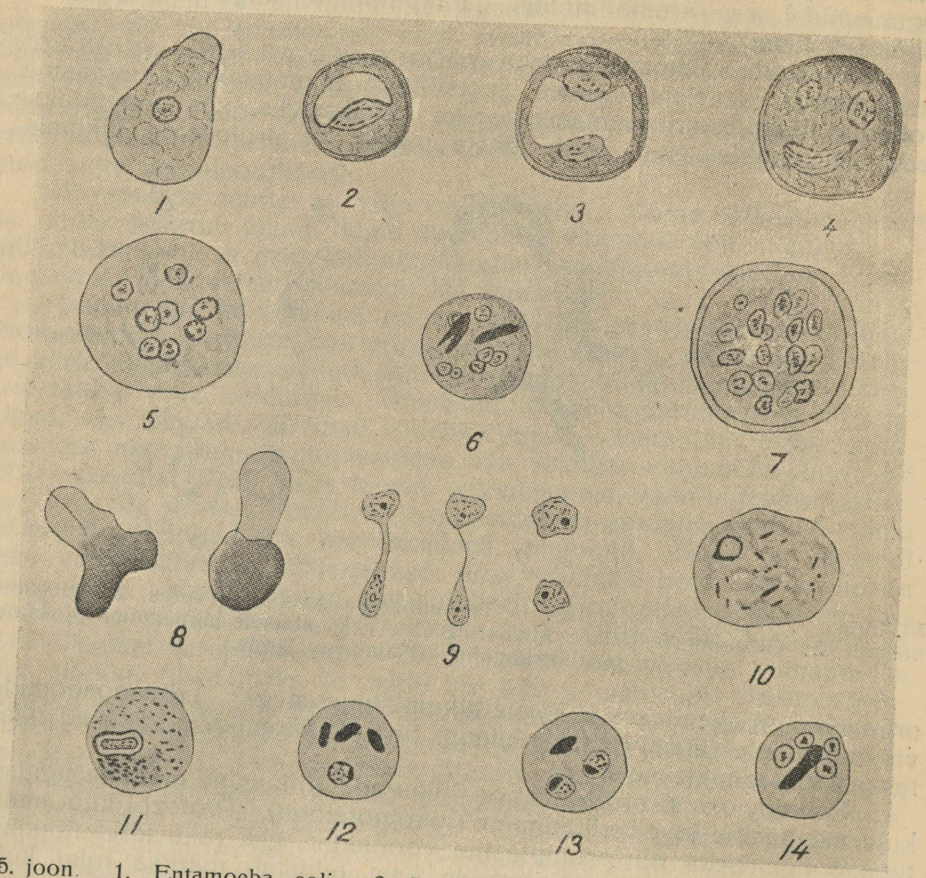
organellid on ühenduses sääraste liikumistuumadega. Trüpanosoomide virvendav kile (membrana undulans) ja selle ääreniidike algavad nähtavasti kinetonukleusest.

Suurem osa protozoidest on liikuvad. Liikumine on kahesugune: kuju muutumine ja edasiliikumine (lokomotsioon), Protozoi kuju muutumise põhjuseks on protoplasma voolamine ehk raku kokkutõmbumine müofibrillide abil. Protozoide kest takistab märksa raku kuju muutumist. Mõned protozoid sisaldavad müofibrille kui differentseerunud liikumisorganelle.

Kõige lihtsamaks edasiliikumis-abinõuks on protozoidel (amoeba) pseudopoodid ehk ebajalakesed, mis tekivad sel teel, et ektoplasma kohati lõhkeb ja entoplasma osalt rakupinnale välja voolab Pseudopood paisub kord-korralt suuremaks ja rakk nihkub ebajalakese sihis edasi. Vormi poolest on ebajalakesed hõlmulised (lobosa), niidilised (filosa) ja haralised (reticulosa). Pseudopoodid on ajutised sünnitised, mis oma vormi ja suurust vahet pidamata muudavad (35. joon.).

Paljudel protozoidel on mitmekesised morfoloogiliselt differentseerunud, püsivad liikumisorganellid: mitmesugused viburid (flagella), mis on ehitatud mitmest telgniidist ja neid ümbritsevast protoplasmast. Trüpanosoomi vibur (tihti kaks) on nähtavasti ühenduses raku kestaga.

Ta jookseb raku pinda pidi, mille tõttu tekib rakul ühel küljel terav serv ja sünnitab virvendava kile (membrana undulans). Vibur algab kinetonukleusest, läheb siis virvendava kile serva pidi kuni raku lõpuni, kus ta lõpeb või veel raku piirkonnast vaba viburina eemale



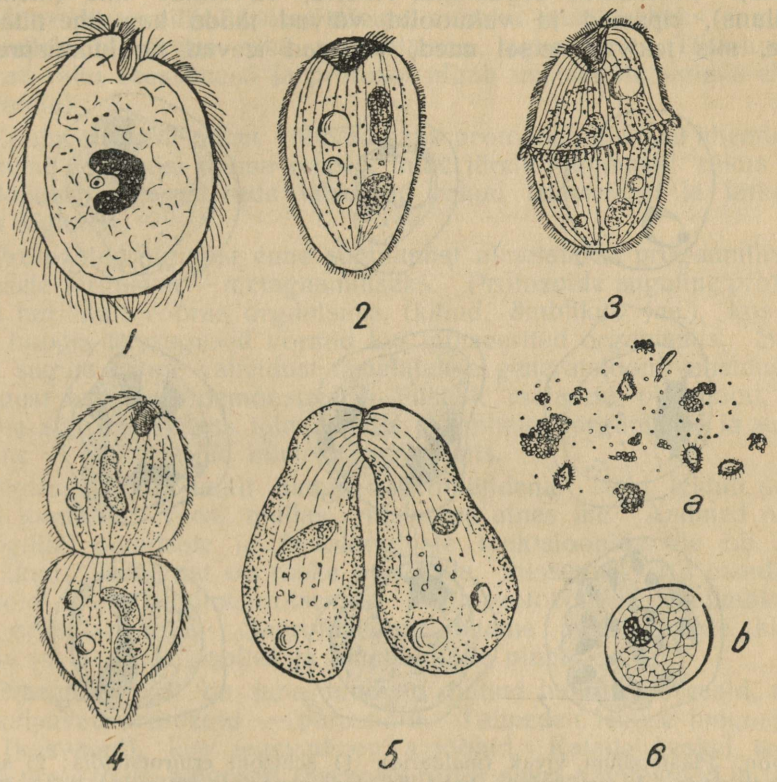
35. joon. 1. Entamoeba coli. 2—7. Entamoeba entsüsteerumine (vakuoolid, protoplasma massid ja kromidiaalkehad tsüstides). 8. Entamoeba dysenteriae. 9. Entamoeba dysenteriae jagunemine. 10—14. Entamoeba dysenteriae tsüstide kujunemine (tsüstid 1, 2 ja 4 tuumaga ja kromidiaalkehadega). (Hauduroy järele.)

ulatub. Protozoidel on 1—2 viburit, nende liikumine avaldub kõikumises (undulatio), mis koostub kõverdumis- ja sirgumisfaasist.

Paljud protozoid liiguvad ripsmete (cilia) abil. Ripsme liikumine oleneb ripsmeniidist, mis välja kasvab kineetilisest terast. Nende liikumine avaldub vehklemises. Mõnedel protozoidel katavad ripsmed ühetaoliselt kogu raku pinda, teistel ainult ühe poole ehk suu ümbruse (vorticella). Peale selle leiame mõnedel protozoidel suu ümber väikesi kilekesi (membranella), mis liikudes voolu suu poole juhivad (36. joon.).

Infusooridel leiame kesta all isesuguste terakeste rea (mikrosoomid), mis ühinedes sünnitavad kokkutõmbuva olluse niidikesi. Need niidikesed (müoneemid) tuletavad meelde lihaste tegevust.

Paljudel protozoidel ei leidu igas arenemisastmes liikumis-abinõusid (sporozoa). Nad liiguvad ühest kohast teise müoneemide või



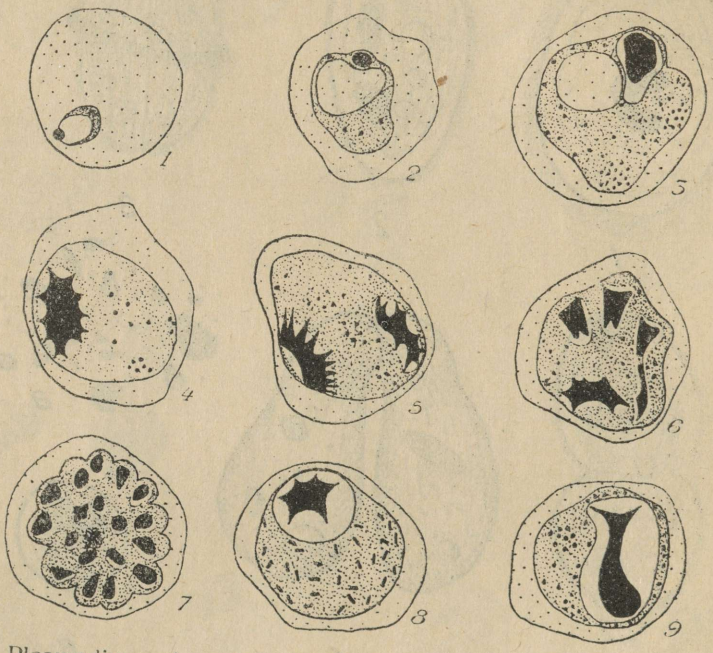
36. joon. 1. Balantidium coli. 2—4. Balantidium coli jagunemise faasid. 5. Konjugatsiooni staadium. 6-a. Haige väljaheited; b. Balantidium coli tsüst. (Hauduroy jär.)

pseudopoodide abil, mis ainult ajutiselt ühel nende eluastmel nähtavale tulevad.

Protozoide sigimisprotsessid on väga mitmekesised. Lihtne sigimine sünnib jagunemise teel, kus rakk kaheks ühesuuruseks tütarrakuks pooldub. Võib aga juhtuda, et üks pooldumisosa on suurem teisest; siis on tegemist pungamise sarnase nähtusega. Harvemini näeme terve indiviidi lagunemist mitmeks väikeseks osaks. Enne protoplasma pooldumist jaguneb raku tuum amitootiliselt kaheks või mitmeks ühesuuruseks osaks ja iga tütar-rakk saab osa emaraku tuumast.

Keerulisem on mitootiline ehk karüokineetiline jagunemine, kus tuuma kromatiin ja akromatiin enne rea muutusi läbi teevad ja pärast

seda kaheks ühesuuruseks osaks poolduvad. Kinetonukleuse ehk blefaroplasti tekkimist seletatakse tuuma heteropolaarse mitoosiga, kus üks pooldunud osa on suurem kui teine. Tuuma jagunemisele järgneb raku protoplasma jagunemine. Protozoid jagunevad kas piki keha — pikipooldumine (flagellata) või ristipidi — ristipooldumine (ciliata). Protozoide organellid, viburid, virvendav kile (membrana undulans), ripsmed ja vakuoolid võivad jääda kas ühe tütar-raku külge, siis tekivad teisel uued, või nad teevad pooldumisprotsessi



37. joon. Plasmodium vivax (malaaria). 1) schizont erutrotsüüdis; 2) schizont 12 tundi vana; 3) amöboidne keha 24 tundi vana; 4) sfääriline keha 36 tundi vana; 5—7) schizogooniline jagunemine; 8) makrogameet: 9) mikrogameetotsüst. (Billet järele.)

kaasa. Tihti kaovad need organellid pooldumise eel ja tekivad uuesti pärast pooldumist. Protozoide suguta jagunemine ei kesta ilmlõpmata. Teatavas ajajärgus katkeb suguta jagunemine ja algab sugutusepõlv. Sugutuse algus oleneb protozoide sisemistest teguritest ja osalt ümbruskonna mõjudest.

Protozoide sugulistes protsessides näeme lihtsugutust — kopulatsiooni — ja ristsugutust — konjugatsiooni. Kopulatsiooni all mõistetakse kahe indiviidi — gameedi — ühtimist. On nad ühesuurused ja vormi poolest sarnased, siis nimetatakse neid isogameetideks ja nende ühtimist isogaamiaks. Ei ole nad morfoloogiliselt sarnased, siis nimetatakse neid anisogameetideks ja nende ühtimist — anisogaamiaks. Suured emagameedid (makrogameta) on paigalpüsivad,

väikesed isagameedid (mikrogameta) on viburiga varustatud. Elava liikumise teel otsib mikrogameet üles makrogameedi ja tungib selle sisse. Elab ja sigib makrogameet ilma sugutamata edasi, siis nimetatakse seda neitsiliseks sigimiseks (parthenogenesis). Niihästi sugulist kui neitsilist gameetide sigimist leiame malaaria plasmoodide juures (37. joon.).

Mõne protozoiliigi juures näeme, et raku tuum kaheks jaguneb, kuid sellele ei järgne raku protoplasma jagunemine. Tütartuumad ühinevad raku sees uuesti ja protozoi algab uut suguta sigimis-eluiga (autogamia).

Konjugatsiooni puhul viibivad kaks protozoidi ajutiselt ühenduses, vahetavad vastamisi tuuma osasid, mille järele kummaski rakus uus tuum kujuneb. Pärast seda lahkuvad rakud teineteisest ja jätkavad suguta sigimist.

Protozoide sigimist enne sugutamist nimetatakse progaamiliseks, sugutusele järgnevat — metagaamiliseks. Protozoide suguline protsess sünnib harilikult võõras organismis (kihud, ämblikud jne.), kus esinevad hoopis teissugused vormid kui infitseeritud organismis. Sugulise ja suguta astme vaheldust nimetatakse generatsiooni vahelduseks. Seesugust vaheldust demonstreerib ilusasti malaaria plasmood, kus suguline sigimisprotsess toimub kihu (anopheles) organismis ja suguta sigimine — infitseeritud inimese organismis.

Protozoid on laialt tuntud saprofüütidena. Neid leidub suurel hulgal looduses: vees, mullas, roiskuvas aines jne. Andmed nende bioloogiliste omaduste ja füsioloogiliste funktsioonide üle on alles puudulikud; seepärast on raske otsustada, missugust osa etendavad protozoid ainete ringimisprotsessis. Palju protozoisid elab sümbioosis teiste organismidega. Saprofüütidena leiame neid taimede küljes, inimese ja loomade sooltes ja limanahkade pinnal.

Praegusel ajal on juba tuttavad paljud haigusprotsessid, mida esile kutsuvad protozoid — parasiidid. Taimedelt leiame haigusprotsesse (kasvajad), kus tegevad on amööbid. Kalade keskel teevad mõned protozoide haigused (myxosporidia) suurt hävitustööd ja takistavad kalakasvatust. Koduloomade juures on tuntud paljude protozoide haigused: coccidiosis (coccidium oviforme), piroplasmosis (piroplasma parvum, p. ovis, p. equi, p. canis) ja paljud teised. Inimeste juures on tuntud paljud endeemilised protozoide haigused, mis on seotud ühe või teise maakohaga. Peale selle on mõned nendest universaalsed. Nimetame siin ainult mõnda nendest protozoide haigustest, mis inimestel ette tulevad: amööbide düsenteeria (entamoeba tetragena ja histolytica), malaaria (plasmodium vivax, malariae ja praecox), leishmaniosis (leishmania infantum, furunculosa jne.), trypanosomiasis (trypanosoma gambiense jne.), abstsessid (amoeba, sarcosporidia), soolte katarrid (balantidium coli, trichomonas intestinalis jne.). Peab tähendama, et me tunneme ainult üht osa nendest haigustest, mida esile kutsuvad protozoid, ja iga aasta rikastab uute leidustega meie teadmisi sellel alal.

VII. Ultramikroskoobilised ja filtreeruvad organismid (ultravirus).

Looduses leidub hulk sedavõrt väikesi organisme, et neid võimatu on näha praeguse aja kõige paremagi mikroskoobi abil. PASTEUR (1881) oli esimene, kes oletas, et marutõve (lyssa) tekitaja on nägematu idu. Eksaktse eksperimentaalse tõestuse leidis PASTEUR'i hüpotees peale seda, kui LÖFFLER ja FROSCH (1897) konstateerisid loomade sõra- ning suuhaiguse ja NOCARD ning ROUX (1898) loomade peripneumonia korral nägemata idusid. Järgnesid uurimised, mis näitasid, et veel paljude teiste haiguste tekitajaks on nägemata idud. Roux (1903) kirjeldas põhjalikult nende organismide liiki ja nimetas neid üldnimega «nägemata mikroobideks» (microbes invisibles).

Pärast seda kui mikrobioloogias tarvitusele võeti infusoorimullast ja portselanist valmistatud mikroobifiltrid, selgus, et nägemata mikroobid võivad tungida läbi filtri urvete. Seda silmas pidades nimetasid mõned bioloogid neid filtreeruvaiks mikroobideks. KRUSE nimetas kõiki mikroobe, kes läbi filtrite pääsevad, aphanozoa. Nägemata ehk ultramikroobide uurimine on alles oma algastmel; sellepärast leiame, et nende nimetused sagedasti ära ei tähenda mõistet täies ulatuses. Nimetusi ultramikroob ja filtreeruv mikroob ei või tarvitada kui sünonüüme. Uuemad uurimised on tõestanud, et mitte kõik ultramikroobid ei lähe läbi filtri urvete; teisest küljest selgus, et mõnd filtreeruvat mikroobi võib nähtavaks teha mikroskoobis. Peab oletama, et nende organismide liiga väikesed mõõdud ei ole ainukeseks põhjuseks, mis takistab nende nägemist mikroobis, vaid selle takistuseks on ka puudulik mikrobioloogiline tehnika, mis ei võimalda nende nähtavakstegemist.

Mikroobide filtreid tarvitades tuleb silmas pidada, et nende urbed ehk poorid on väga mitmekesise laiusega; seepärast võivad nendest läbi tungida väga mitmekesise suurusega mikroobid. Infusoorimullast valmistatud BERKEFELD'i filtrid on võrdlemisi laiade urvetega, kuna portselanist valmistatud CHAMBERLAND'i omad on kitsaste urvetega. Veel kitsamate urvetega on KITASATO filtrid. Varemalt arvati, et filtrist võivad läbi tungida ainult need organismid, kellede läbimõõt on vähem filtri urvete läbimõõdust. LODE, DUCLAUX' ja teiste arvates etendab mikroobide filtreerimisel suurt osa adsorptsioon, mille tõttu filtrist läbi ei lähe need mikroobid, kes oma suuruse poolest võiksid läbi pääseda. Samuti ei ole tähtsuseta mikroobi raku konsistents ja elastilisus. Ühed mikroobid muudavad kergesti oma keha vormi ja tungivad läbi urvete, kuna teistel see omadus puudub.

Peale ülaltähendatud põhjuste oleneb mikroobide filtreerimine paljudest teguritest, mida hoolega tuleb silmas pidada filtreeruvate mikroobide uurimisel: 1) Kurnamist peab toimetama kiirelt, — pikema aja jooksul tungivad läbi urvete ka suuremad bakterid. 2) Kurnama peab väikese, 50—500 mm Hg või veel palju vähema rõhu all. 3) Kurnata võib ainult lahjendatud patoloogilisi vedelikke, — vastasel korral ummistab kurna urbed vedelikus leiduv munavalge. Lahjendama peab füsioloogilise lahusega või veega 1 : 10, 1 : 20 või 1 : 30. 4) Kurnama

peab toatemperatuuris, — soojus (termostaat) kiirendab mikroobide läbipääsmist kurna urbeist. 5) Kurna peab alati kontrollima, kas ta on terve. Kontrolliks lisatakse kurnatavale vedelikule juurde b. fluorescens'i, b. prodigiosum'i ehk b. pyocyaneum'i kultuuri suspensiooni. Leiduvad kurnatud vedelikus need kontrollimikroobid, siis on kurn kõlbmatu. Filtreeruvate mikroobide uurimiste lahkuminevaid resultaate võib seletada osalt sellega, et uurijad ei töötanud alati ühtedes ja samades tingimustes.

Filtreeruvaid mikroobe võib sagedasti nähtavaks teha mikroskoobi all. BORDET ja BORREL kasvatasid peripneumonia tekitajat mikroobi, mida varemini peeti nägematuks mikroobiks, kunstlikel söötmeil. Värvides kultuurist valmistatud preparaate Giemsa ja teiste värvimismeetoditega nägid nad värvitud mikroobe mikroskoobis. Nad tegid kindlaks, et nimetatud mikroob on küll filtreeruv, kuid mitte nägematu ultravirus. Paljude teiste filtreeruvate mikroobide kohta tuldi samale otsusele, ja võib loota, et mikrobioloogilise tehnika arenemine toob kaasa palju võimalusi filtreeruvate mikroobide nähtavakstegemiseks ja nende morfoloogia uurimiseks.

Huvitav on, et ka nende mikroobide juures, keda harilikult filtreeruvaks ei peeta, leidub niisuguseid indiviide, kes pääsevad läbi kurna urvete. VAUDREMER ja VALTIS (1924) võtsid tuberkuloosihaige röga, mis sisaldas Koch'i batsille, lasksid selle autolüseeruda ja kurnasid ta läbi Chamberlandi L_2 kurna. Kurnatud vedelikust kasvasid kunstlikul söötmel mikroobid, kes morfoloogiliselt sarnased olid Koch'i batsillidega. Kurnatud vedelikuga infitseeritud loomad jäid tuberkuloosi haigeks. Samad resultaadid sai Valtis purukshõõrutud ja autolüseerunud tuberkuloosihaige merisea näärmetega. Sellest näeme, et tuberkuloosibatsillidel on niisugused arenemisastmed, kus üksikud indiviidid on sedavõrt väikesed, et nad pääsevad läbi filtri urvete. Võib-olla on siin tegemist püsivate väikeste vormidega, kes osalt spoore meelde tuletavad.

Viimaste aastate uurimused on näidanud, et ultramikroobide tegevus ei piirdu mitte ainult ühe või teise haiguse esilekutsumisega, vaid ta on palju laiema ulatusega. 1917. a. leidis D'HÉRELLE, et ultramikroobid asuvad düsenteeriahaige inimese sooltes. Kui me külvame 2—3 tilka düsenteeriahaige ekskrementidest 20 sm^3 puljongi sisse ja kasvatame 18—24 tundi termostaadis, siis sigivad kultuuris organismid, kes düsenteeriabatsille (Shiga, Flexner'i, Hiss'i tüüpe) surmavad ja ära sulatavad. Kurname säärase kultuuri läbi Chamberlandi L_2 filtri ja lisame värske düsenteeriabatsillide kultuurile filtraadist mõne tilga juurde, siis leiame, et düsenteeriabatsillid seal mõne tunni või mõne päeva jooksul ära sulavad ja emulsioon muutub täiesti läbipaistvaks. D'Hérelle leidis, et säärased ultramikroobid kasvavad sümbioosis düsenteeria batsillidega ja kannatavad ära 65°C. soojust, kuna düsenteeriabatsillid 56°C. soojuses ära surevad. D'Hérelle nimetas neid ultramikroobe «bacteriophagum intestinale».

Bakteriofaage leidub ekskrementides peaasjalikult siis, kui haigus hakkab paranema. Kroonilistel juhtumustel ei ole neid leida; nad ilmuvad siis, kui haigus pöörde võtab paranemise poole. Kui ekskrementidest kaovad düsenteeriabatsillid, siis kaovad ka bakteriofaagid.

Samade omadustega bakteriofaage võib leida typhus abdominalis'e haige sooltest, kui haigus hakkab paranema. Huvitav on nähtus, et kanatüüfuse epizootia siis hakkab kaduma, kui üks kana haigusest paraneb ja tema ekskrementides bakteriofaagid leiduvad. D'Hérelle oletab, et bakteriofaagid võivad üle minna ühelt loomalt teisele ja neid kaitsta infektsiooni vastu.

DUMAS leidis, et bakteriofaage võib kohata sooltes ka siis, kui ei ole soolte infektsiooni. Bakteriofaage võib leida ka mullast ja veest. Bakteriofaagid on nähtavasti mitut seltsi: ühed nendest surmavad ja sulatavad b. dysenteriae't, b typhosus't, b paratyphosus't ja b. coli't, kuid mitte kõiki ühesuguse jõu ja kiirusega, teised mõjuvad ainult ühe mikroobiliigi peale. Bakteriofaagid sulatavad ainult elusaid bakterеid. Lisame neid juurde vanadele kultuuridele, kus elusate mikroobide seas leidub hulk surnuid, siis ei sula kõik bakterid ära. Bakteriofaagide virulents võib kasvada ja kahaneda. Nõrga virulentsiga bakteriofaagid sulatavad ainult noori bakterеid, kuna vanad involutsioonivormid püsivad on nende mõju vastu.

Viimasel ajal on tähele pandud, et bakteriofaage leidub väga mitmekesiste bakterite tarvis (b. pyocyaneus, staphylococcus etc.), kuid kõige demonstratiivsem on nende mõju Shiga düsenteriabatsillide peale. Tõusis küsimus, kas siin on tegemist eluvõimeliste ultramikroobidega või mõne teise faktoriga. KABESHIMA arvates oleneb D'HÉRELLE'i fenomen spetsiifilistest fermentidest. BORDET oletab, et leukotsüütide ekstraktid seesugust lüütilist mõju avaldavad. Paljud uurimised tõestavad, et siin on tegemist faktoriga, mis võib kasvada ja sigida, nii siis eluvõimeliste organismidega ultramikroobide liigist. SALIMBENI'l läks korda bakteriofaage kultiveerida pikema aja jooksul, ja ta tuli otsusele, et nad kuuluvad müksomütseetide hulka.

Siin puutume kokku uue bioloogilise nähtusega, mis tõendab, et ultramikroobid võivad esile kutsuda patoloogilisi protsesse teistes mikroorganismides ja neid täielikult hävitada. Bakteriofaagide tarvitusselevõtmine terapeutiliseks otstarbeks oleks bioloogia tähtsam ülesanne.

Filtreeruvate mikroobide poolt esilekutsutud haiguste arv on suur. Nimetame, siin ainult mõnda: poliomyelitis, encephalitis epidemica, variola, herpes febrilis ja teised inimeste tõved, sarvloomade katk, lindude katk, hobuste anaemia perniciosa, febris aphtosa, lyssa ja paljud teised loomade tõved. Suurem hulk neist filtreeruvaist viirustest kuulub ultramikroskoobiliste organismide sekka, kes on nägematud mikroskoobi abil. Praegusel ajal on filtreeruvate mikroobide uurimine seotud raskustega, sest suuremat osa nendest ei ole võimalik kasvatada kunstlikel söötmeil ja mikroskoop ei võimalda nende morfoloogia uurimist. Suureks abiks nende uurimisel on ultramikroskoop ja eksperimendid loomadega. Viimased võimaldavad tutvumist nende organismide patogeeniliste omadustega ja üksikute füsioloogiliste funktsioonidega.

Filtreeruvatele mikroobidele ei ole võimalik kindlat kohta leida mikroorganismide süsteemis; selleks puuduvad tarvilikud andmed nende morfoloogia ja füsioloogia üle. Ei ole ka võimalik otsustada, kas nad kuuluvad looma- või taimeriiki. Arvamised kalduvad sinnapoole, et mõned nendest kuuluvad kahtlemata loomariiki, teised aga taimeriiki.

Mikroorganismide paik teiste organismide hulgas.

Mikroorganismide morfoloogia ja arenemiskäigu lühida tundmaõppimise kaudu selgub, et nad on otsekui vahelüliks taime- ja loomariigi vahel. Nende hulgas leiame niisuguseid organisme, kes on sarnased osalt lihtsamate taimedega, osalt aga lihtsamate loomadega. Algloomade seas leiame vorme, keda võiks vahelüliks pidada ühelt poolt bakterite ja üherakuliste taimede, teiselt poolt hulgarakuliste organismide vahel. Tänapäevani ei ole korda läinud mikrobioloogias kindlat piirjoont tõmmata üherakuliste loomade ja taimede vahel.

Suuremal osal bakteritest puudub klorofüll ja nad tarvitavad oma toiduks orgaanilist ainet. See oli põhjuseks, et NAEGELI neid sarnastas seentega. Säärane ühekülgne ja üksikute omaduste peale põhjenev arvamine kaotas peatselt aluse. Peagi selgus, et üksikute bakteriliikide rakud sisaldavad värvollust. WINOGRADSKI uurimused tõestavad, et mõned mikroobid võivad valku (munavalget) sünteseerida anorgaanilistest ainetest: mineraalsooladest, veest, CO_2, NH_3 jne. Sellest näeme, et mõned mikroobid on suguluses lihtsate vetikatega.

Bakterid on osalt sarnased protozoidega. Nii kui protozoid, on ka bakterid üherakulised ja liiguvad viburite abil, nende raku tuum on protoplasmas laiali pillatud. Teisest küljest leiame, et protozoidel ja bakteritel on palju erinevaid omadusi. Bakteritel on tüse kest, mida võib plasmolüüsi abil protoplasmast eraldada. Protozoidel ei ole plasmolüüsi näha. Protozoide tuumollus koondub sagedamini eristunud tuumaks, kuna see bakteritel kogu kehas on hajunud. Liikumis-, toitmis- ja sigimis-moodus ei suuda ära määrata, kas bakter kuulub looma- või taimeriiki. On tuntud, et paljud alamal astmel seisvad taimed (vetikad) võivad liikuda, kuna paljudel loomariiki kuuluvail organismidel puudub iseseisev liikumine. Toitmise kohta võib tähendada, et paljud taimed, niisama kui bakterid, peale anorgaanilise toidu ka orgaanilist ainet võivad toiduks tarvitada. Bakteritelt ja pärmseentelt võime leida palju sarnaseid ja veel rohkem lahkuminevaid omadusi.

Kõigest sellest võib oletada, et praegusel ajal tuntavate andmete põhjal ei ole võimalik baktereid geneetiliselt siduda ühegi teise alamate organismide grupiga. Bakterite omadused, mis sarnastuvad seente, vetikate ja protozoide omadega, tulevad ilmsiks ainult üksikuil gruppidel, kuid mitte kõikidel bakteritel. Bakterite väga mitmekesine arenemiskäik ja morfoloogilised omadused sunnivad praegusel ajal oletama, et bakterite hulgas leiduvad geneetiliselt väga mitmekesised organismid.

Pärmseened (saccharomycetes) on taimeriigist pärit. Kuni viimse ajani seoti neid tekkeliselt hallitusseentega ja bakteritega. Ainult pärast seda, kui LINDNER, NADSON ja GUILLERMOND põhjalikult tundma õppisid nende organismide rakuehitust, arenemiskäiku ja sigimisprotsesse, leidis laialist poolehoidu arvamine, et pärmseened esinevad iseseisva seente grupina, mis geneetiliselt on seotud ascomycetes'i seltsi seentega. Pärmseente tekkimise üle arvavad Nadson ja Guillermond, et nende esivanemaiks olid väga mitmesugused kottseened.

Suur hallitusseente (fungi) klass kuulub taimeriiki, kuid nende süstematiseerimine on seotud alles väga mitmekesiste raskustega. Kiirikseened (actinomycetes) ei ole veel kindlat kohta leidnud teiste organismide süsteemis. Nad on osalt sarnased lihtsamate seentega (phycomycetes), kuid oma väga mitmekesiste füsioloogiliste omadustega on nad osalt suguluses bakteritega. Kiirikseened moodustavad grupi neid lihtsamaid organisme, kes maapealse elu pioneeridena tegelikult osa võtsid mitmekesistest bioloogilistest protsessidest.

Lühidalt peatudes spiroheetide (spirochaeta) juures peab tähendama, et raske on neile kohta leida teiste organismide keskel. Vormi poolest oleksid spiroheedid sarnased spirillidega (spirillum), kuid esimeste keha painduvus lahutab neid silmapaistvalt spirillidest. Suuremal osal spiroheetidest puuduvad viburid otstes, kuna spirill oma otstes harilikult mitut viburit kannab. Bakteritel ja enamikul spiroheetidest oleksid järgmised ühised omadused: vähe eristunud rakuehitus, plasmolüüsi nähtus ja pesaline kasv kõvadel söötmetel. Need ühised omadused andsid THESING'ile, SCHWELLENBERG'ile, KRUSE'le, GROSS'ile ja teistele põhjust oletamiseks, et spiroheedid kuuluvad bakterite hulka. Suurtel spiroheetidel leiame tihti unduleeriva kile sarnase sünnituse, mis neid seob protozoidega. Spiroheetide tuuma ekvivalent (diffuusne ehk hajus tuum) sarnaneb rohkem bakterite tuumaga, kuid me teame, et paljudel protozoidel on ka diffuusne tuum. Jaguneksid kõik spiroheedid pikuti, mis veel lõplikult kindel ei ole, siis ei oleks see omadus veel otsustav, sest tuntakse protozoisid, kes risti jagunevad, ja mõnede bakterite kohta arvatakse, et nad pikuti poolduvad. Spiroheete ei olnud alguses võimalik kasvatada kunstlikul söötmel, mis põhjust andis neid siduda protozoidega; kuid nüüd teame, et nad kasvavad söötmeil. Sel omadusel ei ole suurt tähtsust spiroheetide mahutamiseks ühte või teise riiki, sest protozoid (trypanosoma, amoeba) kasvavad ka kunstlikel söötmeil. Mõned panid spiroheetide juures tähele pungumisnähtust, mis põhjust andis neid taimeriiki mahutada. Ka see omadus ei ütle palju, sest pungumist võime leida ka algloomade juures. Andmed spiroheetide morfoloogiliste ja bioloogiliste omaduste üle on alles sedavõrt puudulikud, et võimalik ei ole neile kindlat kohta leida lihtorganismide hulgas. Spiroheetide peale võiks vaadata kui üleminekuvormide peale bakterite ja protozoide vahel.

Nii kui ülalpool kuulsime, leidub looduses hulk ultramikroskoobilisi organisme, kus veel täiesti võimatu on otsustada, missugused nendest kuuluvad looma- ja missugused taimeriiki. Põhjendust leiab uuemal ajal arvamine, et vaevalt on võimalik kindlat piirjoont tõmmata taime- ja loomariiki kuuluvate mikroorganismide vahel, sest põhjalikumad uurimised tutvustavad meid uute vormidega, mis tunnistust annavad järk-järgulisest üleminekust taimeriigist loomariiki.

Üldse kujutavad mikroorganismid oma ehituse ja arenemise poolest väga kirjut olevuste segu, kus üks grupp seisab teisega kauges geneetilises suguluses. Nad moodustavad iseseisva grupi olevusi, kes osa võtavad mitmekesistest protsessidest looduses. Nad ei ole mitte ainult elu hävitajad, vaid ka selle ülesehitajad ja alalhoidjad.

Mikroobide laialilagunemine looduses.

Juba LEEUWENHOEK pani tähele, et mikroobe leidub igal pool, vaatamata selle peale, missugust ainet uurimiseks võtta: vees, mullas, roiskuvas aines jne. PASTEUR tegi kindlaks, et mikroobe on igal pool esinemas; tema oli panspermiateooria looja. Selle teooria järele võib mikroobe leida igavestes jäämägedes, kõige kõrgemail mäetippudel, meresügavustes, kuuma vee allikais, õhus, mullas, inimese ja loomade organismis. Nad esitavad elu seal, kus teised organismid täiesti puuduvad. Kõige selle juures peab vahet tegema kohtade vahel, kus mikroobid ainult viibivad, ilma et nad seal sigiksid, ja nende kohtade vahel, kus nad ka sigivad. Paljude mikroobide elunõuded on sedavõrt erilised, et nad ainult teatava ümbruse mõjudes võivad viibida. Sama nähtus on tuntud taimeriigis, kus esineb vastav floora metsas, soos, liivikul, mägedel jne.

Mikroobide kiiret laialilagunemist võib seletada nende kiire sigimisega, laiaulatuslise kohanemisvõimega ja nende väikese kasvuga. Viimane omadus on, mis neid väga liikuvaks teeb. Tuul kannab ühest kohast teise tolmu ja ühes sellega tolmuosakeste külge kuivanud mikroobe. Sel teel võivad mikroobid ära rännata pikemaid teekondi. Langeb tolm ühes mikroobidega ühe või teise asja peale, siis rändavad nad koos. Näiteks, kaubavahetus ühe või teise riigi ja maakoha vahel on ühtlasi ka mitmekesiste mikroobide vahetus. Euroopa saab Aasiast palju tooresaineid ja võib ühes sellega saada ka koolera ja katku idusid. Pääsevad mikroobid vette, siis kannab neid vool kaugele edasi.

Mikroobe ühest kohast teise kandvate tegurite hulgas seisab inimene esimesel kohal. Tema kannab eneses suurel hulgal mitmekesiseid mikroobe (sooltes, suus, naha pinnal), ja kuhu puutub inimese jalg, sinna jätab ta maha suurel arvul mikroobe. Tuleb inimene taudipesast, siis võib ta kaasa tuua nakkusehaigust esilekutsuvaid mikroobe, kes algavad uues kohas oma hävitavat tööd taudina. Demonstratiivset pilti pakub meile selles suhtes ilmasõda, kus ühe või teise riigi sõdurid lõpmata paljudes maades viibides kokku puutusid nende maade mikroflooraga, kust nad kahtlemata osa kaasa võtsid. Kõigist ilmakaartest koju tulles tõid nad enestega kaasa niisuguste haiguste idud, mida varemini ei tundnud kodumaa. See nähtus on iseäranis silmatorkav Senegalis, kuhu ilmasõjast koju tulnud sõdurid Euroopast tuberkuloosi idud kaasa viisid, mis idud pärismaalastele võivad saada saatuslise taudi põhjuseks.

Silmas pidades praeguse aja kiireid liikimisvõimalusi ja suurt rahvusvahelist läbikäimist, võib tähendada, et inimene on ise peateguriks, mis võimaldab taudi-idude ühest kohast teise rändamist. Kui vaatame ühe või teise taudi levimise kaarti, siis näeme, et taudid liiguvad edasi peaasjalikult suuremate veeteede (jõgede) ja raudteede sihis. Palverändajate kaudu taudide edasikandmine on juba tuttav nähtus.

Tuntud on samuti loomad ja putukad mikroobide edasikandjatena. Rotid kannavad edasi katku, kärbsed siberi katku, düsenteeriat ja koolerat, täid tähnilist ja korduvat soetõbe, kihud (anopheles) malaa-

riat jne. Viibides laevadel ja raudtee-vagunites võivad nad tihti väga pikki reise teha. Suuremalt jaolt aga on nende tegurite mõju seotud ühe või teise maakohaga.

Vähe uuritud mikroobide-geograafia leiab viimasel ajal suurt tähelepanu. Suurem osa mikroobe on kosmopoliidid, kuid mõned liigid on seotud geograafiliste ja kliimaliste tingimustega. Me näeme, et pidalitõve tekitaja (b. leprae) armastab teadmata põhjustel üksikuis maakohtades viibida ja haigust esile kutsuda. Unitõve tekitaja — trypanosoma gambiense — teeb oma hävitustööd peaasjalikult Aafrika neegrite keskel ja ei akklimatiseeru Euroopas. 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 läheb märksa lahku põhjamaade omast. Soe rõske lõunamaa kliima oma rikkaliku fauna ja flooraga on mikroobidele elamiseks ja sigimiseks kohasem kui põhjamaa lumeväljad. Troopiline mikrofloora on ülirikas mitmekesiste mikroobide liikidest, kuna lõuna- ja põhjanaba-maade mikrofloora on võrdlemisi vaene. Seda tõendavad mitmete ekspeditsioonide puhul korraldatud uurimised.

Mõne mikroobiliigi nõuded on väga spetsiifilised ümbruse mõjudele; sellepärast leiamegi kohti spetsiifilise mikroflooraga: kuuma vee allikates leiame termofiilseid ehk soojalembeseid mikroobe, väävliveeallikais väävli- ja rauavee-allikais rauamikroobe.

Õhu mikrofloora on väga muutlik ja oleneb mitmekesistest teguritest. Mida rohkem on õhus tolmu, seda rohkem liigub seal harilikult mikroobe. Kuivamine ja päikesekiired tapavad kiirelt õhus viibivaid mikroobe. Rõske ilm ja vihm puhastavad õhku tolmust ja ühes sellega mikroobidest. Suurem osa õhu mikroobidest ei ole patogeensed: pärmseened, hallitusseente eosed, sarcina, b. prodigiosus, staphylococcus, streptococcus, b. subtilis jne. PASTEUR, FLEMMING, LEVIN, FLÜGGE ja teised tulid oma uurimiste põhjal järgmisele otsusele: 1) Mikroobide arv õhus oleneb aasta-ajast; kõige rohkem on neid õhus suvekuudel, vähem kevadel ja sügisel, kõige vähem talvekuudel; 2) valguse ja päikese küllus, samuti ka kestev põud mõjuvad surmavalt õhu mikroobide peale; 3) kohtades, kus liigub palju rahvast, iseäranis suurtes linnades ja eluruumides, on õhus märksa rohkem mikroobe kui nendes kohtades, kus viibib vähe inimesi. Suurel arvul asub mikroobe suurte tehaste ruumides, koolide klassitubade ja haigemajade õhus. Kui silmas peame, et haigemajade õhus viibivad nakkusehaiguste tekitajad mikroobid ja et õhu kaudu kiiresti sünnib mikroobide edasiliikumine, siis on selge, kui kahjulikuks võib olla elanikkudele linna keskel viibiv haigemaja oma infektsiooniliste haigetega. Peale selle võivad säärastest infektsioonipesadest mikroobe edasi kanda kärbsed, hiired, rotid jne.

Õhu kaudu on infektsiooni edasiandmine võimalik, ehk seda uuemate uurimuste järele küll nii tihti ei sünni, kui seda varemalt arvati. CORNET võttis vaiba, mille külge oli kuivanud tuberkuloosihaige röga, kloppis selle küljest tolmu ruumi, kus viibisid 48 meri-

siga, kelledest said 47 siga tuberkuloosi-infektsiooni. FLÜGGE ja teised näitasid, et köhimise ja aevastamise puhul lendavad õhku lima- ja süljetilgakesed väikeste mullikeste näol, mis tulles haige kopsust või kurgust sisaldavad haigusidusid ja õhus edasi liikudes levitavad infektsiooni. See võimalus esineb iseäranis läkaköha, influentsa, kopsu- ja kurgutiisikuse, katku jne. haiguste puhul.

Õhust leiame pea alati mitmekesiseid saprofüüte, mis esile kutsuvad käärimisprotsesse ja orgaanilise aine roiskumist. Nad võivad suureks takistuseks olla viina- ja õllevabrikuis, kutsudes esile mittesoovitavaid bioloogilisi protsesse. Samuti on nad vaenlased, kes toiduaineid kiirelt kõlbmatuks muudavad ja vahel suurt kahju sünnitavad. Nende vastu võitlemine ei ole iga kord kerge.

Et õhk on üheks teguriks, mis võimaldab nakkusehaiguste edasikandmist, siis peame tööstuse-ettevõtteis, koolides, ühiselumajades, seltskondlikes asutusis ja erakorteritеs õhu puhastamise eest rohkem hoolt kandma, kui seda harilikult tehakse.

Loodust uurides näeme, et ilma veeta on elu võimatu. Liivakõrves avaldub elu ainult veeloikude ja allikate ümber. Mikroobe võime nimetada vee organismideks ja sööde, mille sees nad kasvavad, peab sisaldama rohkesti vett. Kuigi paljud mikroobid (patogeensed bakterid, protozoid, vereparasiidid ja pärmid) ei sigi otse vees, siiski nõuavad nad oma söötmes silmapaistvat veeprotsenti (50—70%).

Kõik loomulikud veekogud (jõed, järved, mered, allikad jne.) kubisevad mikroobest. Ühe või teise veekogu mikrofloora kannab harilikult juhuslikku iseloomu ja oleneb nendest vahenditest, millega vesi kokku puutub. Suurema osa mikroobest saab vesi maapinnast, õhust, mitmekesistest jäänustest, inimeste ning loomade väljaheidetest jne. Mõned mikroobid on alalised vee elanikud ja neid võib nimetada sõna täies mõttes veemikroobideks (bac. aquatilis, bac. fluorescens, micrococcus candicans, bact. cloacae, spirillum volutans, s. rubrum, s. undula, jne.). Mikroobide arv ühes või teises vees on väga muutlik. Destilleeritud vees, mis on kauemat aega seisnud, leidub vähe mikroobe, sest neil puudub seal elamiseks ja sigimiseks tarvilik toidu-tagavara. Vihmavesi on harilikult vaene mikroobidest. Peaaegu puhas mikroobest on allikavesi, mis sügavast maarüpest välja voolab. Lumes võib talvel kõige suurema külma ajal mikroobe leiduda. Jää mikrofloora on väga mitmekesine ja oleneb veest, mis jääks külmunud.

Lahtiste kaevude vesi on rikas mitmekesiseist mikroobest. Kõige rohkem mikroobe sisaldab järvede, jõgede, tiikide ja mere vesi. Mida kaugemal on veekogud elukohtadest, seda vähem pesitseb neis mikroobe. Merevesi sisaldab vähem mikroobe kui jõgede ja järvede oma. Mida kaugemale kaldast, seda vähem on merevees mikroobe. Kalda mõju merevee mikrofloora peale ulatub 5—6 sõlme kauguseni. 3000—4000 meetri sügavuses kaovad mikroobid.

Keetmata ja steriliseerimata vesi, mida me harilikult joogiks tarvitame, sisaldab alati palju mikroobe. Paljudel kordadel on katsutud mikroobide arvuga ära määrata vee väärtust. Praegusel ajal on välja töötatud mitmed normid, kuid ainult mikroobide arv ei võimalda õiget vee hindamist.

Esitame siin ainult MIQUEL'i poolt väljatöötatud normid:

0—10	mikroobi	1	sm^3	vees:	täielikult puhas vesi.
10—100	„	„	„	„	väga puhas vesi.
100 - 1 000	„	„	„	„	puhas vesi.
1 000—10 000	„	„	„	„	rahuloldav vesi.
10 000—100 000	„	„	„	„	kõlbmatu vesi.
100 000 ja rohkem	„	„	„	„	täiesti kõlbmatu vesi.

Saksa ja inglise normide järele võis hea joogivesi sisaldada 100 mikroobi 1 sm^3 kohta. Kui leidub 1 sm^3 vees üle 500 mikroobi, siis ei tohi seda joogiks ilma steriliseerimata tarvitada.

Arusaadavalt ei või ainult mikroobide arvu põhjal vee väärtuse üle otsustada, vaid selleks peab silmas pidama ka mikroobide iseloomu. Kõige õigem oleks kindlaks teha, kas patogeensed mikroobid viibivad vees või mitte, kuid seesugused uurimised on seotud väga suurte raskustega; sellepärast katsuti leida kergemat teed, mis oleks kõlvuline praktiliseks otstarbeks. Et vesi saab patogeensed mikroobid peaasjalikult väljaheidete kaudu, siis hakati veest neid mikroobe otsima, mida sisaldub ekskrementides alati suurel arvul. Leiduvad mõned nendest vees, siis on põhjendatud kahtlus, et seal ka patogeensed mikroobid võivad viibida. Nendest võiksime nimetada: bacterium coli, proteus vulgaris ja bacterium cloacae, mida on kergem avastada kui patogeenseid mikroobe.

Kui loodusejõud ise ei võitleks mikroobidega, siis muutuksid veekogud maapinnal lühikese aja jooksul kõlbmatuks mikroobide seguks. Liigub jõevesi eemale asulatest, kust alati suurel arvul mikroobe vette pääseb, siis väheneb kiiresti mikroobide arv. Säärane jõgede enesepuhastus oleneb kahest peategurist: päikese kiirtest ja vee liikumisest. Peale nende avaldavad surmavat mõju mikroobide peale mitmekesised keemilised ja bioloogilised protsessid, milledest elavalt osa võtavad veeloomad ja taimed. Aastaaegade järele näeme, et talvekuudel leidub vees sagedasti rohkem mikroobe kui kesksuvel. Seletada võiks seesugust nähtust päikese kiirte vähema mõjuga. Iseäranis rikkad mikroobidest on veekogud kevadel, mil kokkuvoolav vesi enesega kaasa toob palju mustust ning sellega ühes mikroobe.

Patogeensete mikroobide elukestvus vees ei ole harilikult pikk; ta oleneb vee koosseisust, keemilistest omadustest ja liikumisest. Kui ümbrusest korduvalt vette ei pääse uusi patogeenseid mikroobe, siis võib loota, et infitseeritud vesi nendest kaunis kiiresti vabaneb. Vee kaudu esilekutsutud taudid on harilikult massilised, kuid kustuvad kiirelt, kui tarvitusele võetakse vastavad abinõud veekogude kaitsmiseks ja joogivee steriliseerimiseks. Tervishoiulisest seisukohast välja minnes on puhas vesi see, mille järele peaks igaüks ihaldama. Veekogude roojastamist peab igapidi katsuma ära hoida.

Maapind, millega me elus sagedasti kokku puutume, on rikas mikroobidest. Mikroobide suurt hulka ja kiiret laialilagunemist maapinnas võib seletada heade elutingimustega, mida mikroobid seal leiavad: orgaaniliste olluste küllus, rõskus ja kaitse päikesekiirte mõju eest. Maapind on algastjaks, kust mikroobid õhku ja vette laiali lagunevad. Maapinna mikrofloora on väga muutlik ja oleneb

mitmekesistest füüsilistest ja keemilistest omadustest, kohast, sügavusest, valgustusest, aasta-ajast, rõskusest jne. Näiteks on küntud ja väetatud maapind alkaalilise reaktsiooniga, mille tõttu seesuguses maapinnas leidub rohkem mikroobe kui happereaktsiooniga söödi- või turbamaas. Suvekuudel on mikroobide arv maapinnas kõige suurem, talvel kõige vähem. Alalistest maapinna mikroobidest võiks nimetada: proteus vulgaris, bacillus mycoides, bac. mesentericus, b. subtilis, actinomycetes, bacterium radicicola, azotobacter ja hallitusseened.

Patogeenseist mikroobidest leiduvad seal: bacillus tetani, bac. oedematis maligni, bacillus anthracis, kuna teised seal harvemini leiduvad ja ainult lühikest aega maapinnas võivad elada. Sõnnikuga väetatud mustamulla-maas on mikrofloora rikkalikum kui savi- või liivamaas. FRENKEL'i uurimuste järele leidub kõige pinnapealsemas maakihis vähem mikroobe kui 1—2 sentimeetri sügavuses. Säärast nähtust võib seletada päikesekiirte mõjuga ja rõskuse puudusega pinnapealses maakihis. Sügavamal maapinnas väheneb mikroobide arv ja 4 meetri sügavuses ei ole neid enam leida. Maapind on heaks kurnaks, mis ei lase mikroobe ja orgaanilisi aineid sügavale läbi. Mikroobe võivad maapinnalt sügavamale kanda ussikesed ja tõugud; samuti võivad nad sügaval viibivaid mikroobe pinnale kanda.

Mikroobide elukestvus maapinnas on väga mitmekesine ja oleneb maapinna keemilistest ja bioloogilistest omadustest. Suurem osa patogeenseid mikroobe sureb maapinnas lühikese aja jooksul: b. typhi, vibrio cholerae asiaticae 3—4 nädala, b. tuberculosis 2—3 kuu jooksul. Vastupidavad on eostega mikroobid, mis aastate jooksul võivad maapinnas oma eluvõimet alal hoida. Kuivanult ja madalas temperatuuris võivad mõned mikroobid maapinnas lõpmata kaua viibida. Nii on leitud elusaid mikroobide eoseid mammuti jäänustest, mis võib-olla kümneid tuhandeid aastaid maa sees on viibinud. BODUAN leidis elusaid mikroobe Rooma haudades, Egiptuse muumiates jne.

Mikroobid muudavad vahet pidamata maapinna keemilist koosseisu, seal esile kutsudes mitmekesiseid biokeemilisi protsesse (humificatio, nitrificatio, oxydatio jne.). Maapinna keemilise koosseisu kiire muutus mikroobide elutegevuse tagajärjel andis bioloogidele põhjust maapinda elusaks nimetada — «quelque chose de vivant».

Maapind võib olla paljude haiguste laialilaotajaks: nimetame siin teetanust, haavade infektsiooni sõja ajal ja mullatöödel, siberi katku, taimede haigusi jne. See näitab, et maapinna puhtuse eest hoolitsemine on üks suuremaist tervishoiulisist ülesandeist.

Mikroobide levimises ja nende kiires sigimises etendavad silmapaistvat osa kõrgemal arenemisastmel seisvad loomad ja taimed. Nende juures võime tähele panna n. n. normaalset mikrofloorat, see tähendab, mitmekesiseid mikroobe, kes on ühe või teise organismi lahutamata kaaslased tervel elukestusel. Teised on juhuslikud mikroobid, kes viibivad saprofüütidena ajutiselt loomade või taimede küljes või parasiitidena esile kutsuvad mitmekesiseid haiguseprotsesse.

Inimeste ja loomade naha, pinn l ja naha pealmistes kihtides leidub alati mitmekesiseid mikroobe, kes ei põhjusta harilikult haiguseprotsesse (b. subtilis, staphylococcus, streptococcus, sarcina jne.).

Pääsevad need mikroobid naha vigastuse järel sügavamale koe sisse, siis võivad mõned neist tekitada raskeid haiguseprotsesse. Peale nende leiame naha pinnalt mikroorganisme, kes algusest peale tekitavad patoloogilisi nähtusi. Siia kuuluvad mitmekesised nahahaigused: dermatomükoosid, nii kui herpes tonsurans (trichophyton tonsurans), favus (achorion Schoenleini), sporotrichosis (sporotrichum Beurmanni), lupus ja paljud teised. Ka kalade naha pinnal võime leida seente mõjul tekkinud haiguseprotsesse.

Taimede välimine pind ja koore pealmised kihid on sagedasti rikkad mitmekesistest mikroobidest. Taimede normaalne mikrofloora oleneb suuremalt jaolt ümbrusest, kuid osalt on see spetsiifiline. Nii võib tähele panna, et ühes või teises maakohas on viinamarjad kaetud pärmseentega, mis esile kutsuvad ühe ja sama iseloomuga käärimisprotsesse. Seda nähtust kasutatakse paljudes kohtades naturaalveinide valmistamiseks. Teistes kohtades leiame, et taimede mikrofloora on enam juhuslik ja väga muutlik. Taimede küljest võime leida haiguseprotsesse, mis on analoogilised loomade nahahaigustele. Nende tekitajateks on mitmekesised organismid seentegrupist (erysiphaceae jne.).

Mitte ainult välimisel pinnal, vaid ka sisemistes loomade ja taimede organites ja kudedes asub mitmekesiseid mikroobe. Kätkist hauani elutsevad inimese sooltes väga mitmesuguste mikroobide liigid, kes muutuvad elu kestusel. Nad eralduvad väljaheidetega ja lagunevad laiali inimese ümbruses. Kõikide limanahkade pind (suus, ninas, silmas jne.) on kaetud mikroobidega, kes sealt võivad laiali laguneda ümbrusesse. Samuti on lugu loomadega, kus tähele võib panna, et ühe loomatõu soolte ja limanahkade normaalne mikrofloora on rikkam, teisel aga märksa vaesem. Peale selle näeme, et elusail olevusil on spetsiifilised mikroobid, kes neis esile kutsuvad nakkusehaigusi. Nimetame siinkohal ainult silmapaistvamaid: tüüfus (b. typhi), süüfilis (spirochaeta pallida), gonorrhoe (gonococcus Neisseri) jne. inimestel; kalade punetustõbi (bacterium cyprinicida); lindude aspergillosis (aspergillus fumigatus); mesilaste sooltehaigused (nosema apis); taimede kasvajad (bacterium tumefaciens) ja paljud teised. Säärased patogeensed mikroobid võivad surmata endi kandjat, kuid ise selle juures mitte hävida, vaid levides laiali ümbrusesse nakatada teisi olevusi. Sagedasti võivad inimesed ja loomad oma organismis kanda patogeenseid mikroobe, ilma et neil oleks märgata haigusenähtusi. Nad liiguvad vabalt ühest kohast teise ja külvavad laiali haiguseidusid, mis teisi infitseerivad. Kui silmas pidada inimeste ja loomade suurt liikumisvõimalust, moodustavad nemad tähtsama teguri mikroorganismide laialilagunemises.

Mikroorganismide üldine füsioloogia.

Mikroobid on olevused ja tarvitavad, samuti kui taimed ja loomad, oma elu alalhoidmiseks ja elutegevuste avaldamiseks teatud füsikaalseid ja keemilisi tingimusi. Samuti kui taimeriigis, näeme ka

mikroobide juures, et mittesoodsad tingimused ei avalda iga kord ühte ja sama mõju: ühed takistavad mikroobide sigimist, kuid ei surma neid, teised kutsuvad esile latentse elu (spoorid), kolmandad surmavad neid lühema või pikema aja jooksul. Silmas pidades mikroorganismide suurt ja väga kirjut kogu, ei ole võimalik kindlaks määrata niisuguseid bioloogilisi seadusi, mis oleksid maksvad kõikide mikroobide kohta. Eksaktsete andmete saamiseks peaks tundma õppima iga üksiku mikroobitõu omadusi. Nii kui teiste bioloogilistel uurimistel, on ka mikrobioloogias tarvilik tutvuda üldiste direktsioonidega, et siis üksikasjaliste uurimiste puhul võimalik oleks hoiduda eksikäikudest.

Mikroobid on tundlikud ja neil on omadus vastata ühel või teisel viisil välisilma muutuste peale. Välisilma muutused mõjuvad nende peale kui ärritused (irritatio), mille füsioloogiliseks tagajärjeks on mikroobide tegevuseavaldus: liikumine, sigimine, mitmesuguste energiavormide vabanemine ja keemiliste ainete valmistamine. Mikroobide reaktsiooni mehaaniline jõud ei vasta impulsi mehaanilisele jõule; harilikult on reaktsiooni energia suurem impulsi energiast. Iga mikroob nõuab oma füsioloogiliste protsesside normaalseks toimumiseks teatava määra erutust välisilmalt. Mikroobile mõnusat erutuse hulka nimetatakse optimumiks. Erutuse vähenemine või kasvamine toob kaasa reaktsiooni energia muutuse. Miinimumiks nimetatakse kõige vähemat ja maksimumiks kõige suuremat erutust, kus veel võimalikud on mikroobide eluprotsessid. Väljaspool miinimumi ja maksimumi piirisid kaovad mikroobide nähtavad eluavaldused ja elu muutub latentseks. Mida kaugemal väljaspool seisab erutus äärmistest piiridest, seda surmavam on tema mõju mikroobile.

Paljud näited tõendavad, et mikroobide reaktsioon välisilma ärrituste peale on rohkesti erinev liitorganismide omast. Näiteks surevad loomad 50° C. soojuses, mõned mikroobid elavad ja sigivad aga säärases soojuses ja nende eosed võivad elu alal hoida 100—130° C. kuumuses. Kultuurinimesed ei tunne maitsmise abil 0,3% keedusoola-lahust, kuna mikroobid 0,001% sama soola lahuse peale juba märksa reageerivad. Mõned mikroobid reageerivad oma söötmes nii väikese hulga aine peale, mida meie kõige peenemate keemiliste reaktsioonide abil ei suuda üles leida. Aspergillus niger'i spoorid ei idane argentum nitric. 1 : 100 000 000 lahuses. Mikroobide erutajaks võivad olla füsikaalsed ja keemilised energiad.

Füsikaalsete tegurite mõju mikroobide peale.

1. Temperatuur.

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 puhul muutub mikroobide elu latentseks. Lõplikult surmavaks saab neile temperatuur, mis seisab maksimumi ja miinimumi piiridest harilikult kaugel väljaspool.

Mikroobide vegetatiivne elu on keskmiselt võimalik 0—74° C. temperatuuris. Temperatuuri maksimum ja miinimum on väga mitmekesised: bac. subtilis: 5° C. miinimum, 57° C. maksimum; gonococcus: 29° C. miinimum, 41° C. maksimum; bac. tuberculosis: 29° C. miinimum, 40° C. maksimum; bac. coli: 10° C. miinimum, 49° C. maksimum. Mikroobide vegetatiivse elu temperatuuri piirisid on võimalik kunstlikult laiendada. DIEUDONNÉ'l läks korda b. anthracis'e kasvu temperatuuri miinimumi ja maksimumi vahet suurendada sel teel, et ta neid kultiveeris pikema aja jooksul äärmistele temperatuuridele kord-korralt liginevas soojuses. Sama nähtust võib tähele panna teistegi mikroobide juures.

Mikroobid on külmale vastupidavamad kui kuumusele. Külm takistab peaasjalikult mikroobide kasvu, aga ei tapa neid. Paljude bakterite eosed jäävad eluvõimeliseks pärast 6-kuulist viibimist vedelas õhus, mille temperatuur ulatub — 182° C. M'KENDICK leidis, et piima ja liha steriliseerimiseks ei jätku nende ainete viibimisest 4 tunni jooksul vedelas õhus — 182° C. temperatuuris. PAUL'i ja PRALL'i uurimused tõendavad, et tüüfusebatsillid ei kaotanud oma vitaalsust 20 tunni jooksul vedelas õhus — 182° C. temperatuuris. Ainult korduv batsillide mahutamine pea vedela õhu madala temperatuuri mõju alla, pea jälle harilikku toatemperatuuri avaldab silmapaistvat mõju batsillide vitaalsuse peale. PETRUSCHKY soovitab mikroobide kultuure alal hoida külmas jääkapis. OTTO leidis külmunud kultuurides 17 kuu jooksul eluvõimelisi düsenteeria batsille. Surmavalt mõjub mikroobide peale korduv külmumine ja sulamine.

Suuremat mõju avaldab mikroobide peale kuumus. Tõuseb kasvu temperatuur 5—10° C. üle optimumi, siis kaotab mikroob ühe või teise enda omadustest ja tekivad degeneratsioonivormid, kuna väljaspool maksimumi olev temperatuur mõjub surmavalt. Kuiv kuumus 150—160° C. tapab 30 minuti jooksul kõik vegetatiivsed mikroobid ja osa mikroobide spoorid. Ainult üksikute mikroobiliikide spoorid suudavad lühema aja jooksul 200—300° C. kuumust välja kannatada. Palju suuremat mõju avaldab mikroobide peale niiske kuumus ja kuum vesi. Enam jagu ilma spoorideta 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 ainult 120—130° C. kuuma vee aurus keskmiselt 15 minuti jooksul.

Temperatuuri optimumi suhtes võib mikroobe mitmesse liiki jagada: a) Psührofiilsed mikroobid (psychrophile), mis oma kasvuks ja sigimiseks armastavad madalat temperatuuri: miinimum 0° C., optimum 15—20° C. ja maksimum 30° C. Nende hulka kuuluvad paljud vee- ja roiskumismikroobid. b) Mesofiilsed mikroobid (mesophile): miinimum 10—15° C., optimum 37° C. ja maksimum 45° C. Siia kuuluvad kõik patogeensed mikroobid, kellede kasvuoptimum kõigub kehatemperatuuri piirides. c) Termofiilsed mikroobid (thermophile), kes kasvavad kiiresti kõrgemas temperatuuris: miinimum 40—49° C., optimum 50—55° C. ja maksimum 60—70° C. Sääraseid mikroobe leidub kaunis palju looduses. Siia kuuluvad mõned veebakterid, kuuma vee allikate, maapinna-, sõnniku-, piima- ja sooltemikroobid. Enam jagu neist on spooridega mikroobid.

Paljud mikroobid valmistavad ise suuremal või vähemal hulgal soojuse-energiat. Seesuguseid nimetatakse termogeenseiks mikroobideks. Nii on tuntud rõskete heinte, sõnniku, rõske tubaka ja teiste ainete kuumaksminek ja koguni põlemaplahvatus, mis saab alguse nähtavasti termogeensete mikroobide tegevusest. Mikroobid, kasvades säärases aines, valmistavad soojust, ja kui soojus tõuseb juba üle 70° C., jääb nende elutegevus seisma. Peale selle algab energiline hapnemisprotsess, mille tõttu temperatuur nii kõrgele võib tõusta, et roiskuv aine põlema plahvatab. Hapnemisprotsessis etendab katalüsaatori osa aines peituv raua-ollus.

2. Päikesevalgus ja kunstlik valgus.

Enam jagu mikroobe ei tarvita oma kasvamiseks ja elutegevuseks valgust. Ainult üksikud eluavaldused kiirenevad valgusekiirte toimel (pigment). Valgus on mikroobidele erutajaks, millele nad vastavad liikumisega: fototaksis. Fototaksis on positiivne, kui mikroobid liiguvad valgusepoole, negatiivne, kui nad sellest eemale taganevad. Positiivse fototaksisega mikroobe nimetatakse fotofiilseteks, negatiivse fototaksisega — fotofobiilseteks. On mikroorganism oma asupaiga aluspinnale kinnitatud, siis ei saa ta enam liikuda; ta sirutab ehk ainult oma liikuva osa valguse poole või valguse poolt ära. Seesugustel kordadel räägitakse positiivsest ja negatiivsest fototropismist.

Dispergeerunud ehk hajus valgus ei toimi takistavalt suurema osa mikroobide kasvu peale, ainult üksikud liigid on väga tundlikud. Otsekohesed päikesekiired on mikroobidele kahjulikud või koguni surmavad. Toimivad päikesekiired lühikest aega, siis takistavad nad mikroobide kasvu. Kauemat aega kestvate päikesekiirte mõjul kaotavad mikroobid tihti osa endi omadustest ja me saame generatsiooni, millel puuduvad ühed või teised endistest funktsioonidest. Kasvatame seesugust generatsiooni pikema aja jooksul pimedas, siis saab ta tagasi endised funktsioonid. Lühema või pikema aja jooksul surmavad päikesekiired kõik mikroobid. Mida soem temperatuur, seda suurem on päikesekiirte surmav toime mikroobide peale. Sellest oleneb osalt, et suvel, soojal ajal päikesekiired suuremat desinfitseerivat toimet avaldavad kui teistel aasta-aegadel. Päikesekiirte ja valguse surmavat toimivust mikroobide peale suurendab õhu hapnik. Hapnikuta ruumis on mikroobide vastupidavus kiirtele palju suurem.

Päikesevalguse desinfitseeriva toime uurimisel peab kõrvaldama soojusekiirte toime. Vastasel korral võime insolatsiooni arvele panna resultaate, mida on saavutatud soojusekiirte mõjuga. Selleks lastakse päikesevalgust enne mikroobidega kokkupuutumist läbi ühe või teise lahuse, mis soojusekiired täielikult absorbeerib. Kõige lihtsam on neid lasta läbi külma vee, mis on mahutatud klaasist seinte vahele. Teisest küljest peab silmas pidama, et päikesevalgus võib muuta keskkonna (miljöö) koosseisu, kus asuvad mikroobid, ja sellega kaudselt pahasti mõjuda mikroobide vitaalsusesse. Et tundma õppida päikesevalguse otsekohest toimet mikroobide peale, selleks peab neid sades-

tama suspensioonist ja valgust laskma toimida elimineeritud mikroobide peale. Nii on teada, et söötmes, mis viibis päikesekiirte mõju all, ei kasva paljud mikroobid. MOORE pani tähele, et päikesekiirte toimel tekib taime rakkudes ja mitmekesistes orgaanilistes segudes (piim, vereseerum, puljong jne.) formaldehüüd, millega osalt seletada võib päikesevalguse desinfitseerivat toimet.

DIEUDONNÉ leidis, et ultravioletsed, violetsed ja sinised kiired surmavalt mõjuvad mikroobidesse, kuna rohelised vähe, punased ja kollased kiired neid sugugi ei vigasta.

Elektri-kaarlambi valguse mõju mikroobide peale on silmapaistev; 900 küünla valgus, mõjudes 12 sentimeetri kauguselt, surmab paljud patogeensed mikroobid mõne (3—5) minuti jooksul.

Raadiumikiired katkestavad kiiresti mikroobide kasvu; toimivad nad aga tundide kestusel, siis surevad mikroobid ja nende eosed. Mida rohkem on raadiumisoola ja mida ligemal ta seisab mikroobide kultuurile, seda suurem selle toime. Raadiumi emanatsiooni toime mikroobide peale on nõrk.

Kõvad Röntgeni kiired takistavad mikroobide kasvu, kuid nende surmava toime suhtes lähevad arvamised lahku.

Finseni valguse kiired toimivad surmavalt mikroobide peale.

TAPPEINER leidis, et päikesevalguse toimivust mikroobide peale võib sel teel suurendada, kui me suspensioonile juurde lisame väikese osa fluorestseeruvat ollust. Need ollused absorbeerivad osa valgusekiirtest, muudavad neid keemiliseks energiaks ja suurendavad seega valguse toimivust. Seesugust fotodünaamilist mõju avaldavad: erütrosiin, eosiin ja fluorestseiin.

Päikesekiirte surmavat toimet mikroobide peale võib BUCHNER'i järele näidata sel teel, et mikroobe tihedalt külvatakse agaarsöötmele (Petri kausis), mille põhja peale kleebitakse valguse poolt küljest mustast paberist rist ja mis siis valgusekiirte kätte pannakse. Et soojuse mõju ära hoida, peab päikesekiired läbi vee kambrikese laskma. Pärast $^1/_2$-, 1-, $1^1/_2$-, 2- jne. tunnilist kiirte toimet mahutatakse kausid termostaati, lastakse mikroobe seal 24—48 tundi kasvada ja otsustatakse, kui kaua peab kausike päikesekiirte käes viibima, et mikroobide kasv ilmuks ainult musta paber-risti kohal.

3. Mehaanilised faktorid ja elekter.

Suur õhu rõhumine (kuni 500 atm.) ei avalda suuremat toimet mikroobide peale. Koguni 3000 atmosf. rõhumine ei surma paljusid mikroobe; ainult üksikud liigid on tundlikud nii suurele rõhule.

Osmootilised voolud toimivad munavalgest vabas söötmes kahjulikult mikroobide peale, kuna munavalget sisaldavas söötmes on see toime märksa vähem.

Mõne autori poolt tähendatud elektrivoolu toimivus mikroobide peale oleneb peaasjalikult soojusest ja elektrolüüsist, mis tekib elektrivoolu mõjul. Katsed (THIELE ja WOLF) näitasid, et niihästi galvaaniline kui ka faraadiline vool ei toimi kahjulikult mikroobide peale, kui seejuures on täielikult kõrvaldatud elektrolüüs.

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

4. Kuivamine.

Mõned mikroobid on vastupidavad kuivamisele, teised surevad selle tagajärjel lühikese aja jooksul. Näiteks surevad kuivamise tagajärjel kiiresti gonococcus, meningococcus, spiroheedid ja protozoid; kooleravibrioonid surevad 1—2 nädala jooksul, kuna difteriabatsillid võivad jääda 3—4-nädalalise kuivamise järel eluvõimeliseks. HEIM leidis, et õrnu baktereid võib kauema aja jooksul elus hoida kuivalt ekssikkaatoris. Mida madalam on temperatuur, seda paremini kannatavad mikroobid kuivamist, kusjuures selgub, et virulentsed kultuurid on vastupidavamad kui avirulentsed kultuurid. Õhu ja rõskuse ligipääsmine kiirendab kuivanud mikroobide surma. Kuivamise surmav mõju mikroobide peale on praktiliselt tarvitusel kalade, liha, aiavilja ja teiste põllumajandusliste produktide konserveerimisel.

Keemiliste faktorite mõju mikroobidesse.

Mikroobid reageeruvad keemilistele erutustele väga mitmekesiselt. PFEFFER leidis, et ühed keemilised ained meelitavad mikroobe oma poole, teised tõukavad neid eemale. Seesugust mikroobide reaktsiooni keemiliste impulsside tagajärjel nimetatakse kemotaksiseks. Kemotaksisenähtuse illustreerimiseks võetakse peenike, 1 sentim. pikkune klaastoru, mille üks ots on kinni, täidetakse see mingi keemilise lahusega ja mahutatakse siis mikroobide suspensiooni. Vaadeldes torukest näeme, et ühel juhtumusel liiguvad mikroobid torus viibivasse lahusesse (positiivne kemotaksis), teisel juhtumusel aga sellest eemale (negatiivne kemotaksis). Mikroobide tundlikkus keemiliste erutuste vastu võib muutuda nende elukestusel. Mikroobide peale avaldavad positiivset kemotaktilist toimet: peptoon, lihaekstrakt, asparagiin; nõrgemalt roosuhkur, glütseriin, K- ja Na-soolad. Negatiivset kemotaktilist toimet avaldavad: happed, leelised, piiritused ja bakterite mürgilised produktid.

Mikroobide erutajaks võivad olla gaasid. Vaba hapnik mõjub oma poole tõmbavalt ühe osa mikroobide (aeroobide) ja eemaletõukavalt teiste mikroobide (anaeroobide) peale (aerotaksis). Positiivse aerotaksise korral tungivad mikroobid vaba hapniku allika poole, negatiivse aerotaksise korral taganevad nad sellest eemale. BEIJERINCK näitas seda lihtsa katse abil. Ta võttis klaasi peale ühe tilga mitmesuguste mikroobide suspensiooni, kattis selle kateklaasiga, mille ühte serva üleval hoidis kõverakspainutatud traadike, mis võimaldas õhu juurdepääsmist. Säärasel korral näeme, et ühed mikroobid koonduvad tilga ääreosasse, kus rohkem hapnikku, kuna teised mikroobid viibivad tilga keskel.

Pea-osa mikroobide elutegevuses ja kasvus etendab vesi; sellepärast võime mikroobe hüdrofiilseiks ehk veelembesteks olevusteks nimetada.

Mikroobide toitumine, toidu sissevõtmine ja ainevahetuse-produktide rakust välja pääsmine toimub peaasjalikult osmoosiseaduste põhjal. Seejuures on elusa raku kestal omadus valida ümbritsevaist lahuseist seda, mis rakule kõige kohasem. Katsete abil on kindlaks tehtud, et mikroobi raku osmootiline rõhumine on vähem kui taimede rakkudel ja ulatub 3—6 atmosfäärini. Substraadi osmootilise rõhumise äkiline muutus avaldab paha mõju mikroobide kasvu ja elutalituste peale. Mahutame näiteks hiilgavaid merebaktereid, kes on harjunud elama 3—4% soolalahuses, nõrka soolalahusesse, siis kaotavad nad oma hiilguse. Mõned mikroobid elavad ja sigivad söötmel, mis sisaldab suurel hulgal soola. Näiteks võib bacillus botulinus kasvada 6% keedusoola-lahuses. Sääraseid mikroorganisme nimetatakse osmofiilseiks.

Metallid ja nende soolad avaldavad väga mitmekesist toimet mikroobide peale. Tuttav on, et söötme arseenisisaldus kiirendab paljude mikroobide kasvu, kuna elavhõbe, vask ja mõned teised metallid mürgiliselt mõjuvad ja kasvu takistavad. Mitmekesised mineraalsoolad on tarvilikud mikroobidele nende elutegevuseks. Nad avaldavad mikroobide peale stimuleerivat mõju ja on tarvilikud orgaanilise aine sünteesiks. Ühed mikroobid armastavad oma söötmes väikesel hulgal mineraalsoola, kuna teised elavad ja sigivad suures kontsentratsioonis (halofiilsed mikroobid). Silmas pidades, et suurema kontsentratsiooniga söögisoola-lahused takistavad roiskumismikroobide kasvu, ei takista aga piimahappe ja mõnede teiste mikroobide kasvu, tarvitatakse soolalahust mitmesuguste toiduainete konserveerimiseks: liha ja kalade soolamiseks, kurkide ja kapsaste hapendamiseks.

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

Mitmesuguste mürkide mõjule on ühed mikroobid vähem, teised rohkem tundlikud. Mürkide mõju oleneb nende keemilistest ja füsikaalseist omadustest. Näiteks raskete metallide — soolade mürgiline mõju oleneb nende ioonideks lagunemisest: mida rohkem on lahuses ioone, seda suurem on mürgi mõju mikroobide peale. Sublimaat on väga mürgiline mikroobidele, sest ta lahused dissotsieeruvad kergelt ja annavad palju vabu elavhõbeda-ioone. Tihti leiame, et aine, mis on ühele mikroobiliigile mürgiline, on teistele väga tarvilik nende elutegevuseks. Näiteks on peptoon ja viinamarja-suhkur väga toitvad enamikule mikroobidest, kuna nad üksikuisse mikroobidesse väga mürgiliselt mõjuvad. Sellest näeme, et ühe või teise keemilise aine mürgiline mõju mikroobidesse oleneb mikroobide loomusest.

Mikroobide ainevahetuse produktid on mürgilised ja nende kogunemine söötmes muudab mikroobi elutegevust. Seesuguse enesemürgitusega (autointoksikatsiooniga) võime seletada mikroobide kasvu takistust ja involutsioonivormide tekkimist vanades kultuurides. Need produktid on mürgilised mitte ainult mikroobidele, kes neid valmistavad, vaid ka teistele mikroobidele. Näiteks on bac. pyocyaneus'e produkt «pyocyanasa» mürgiline difteria- ja paljudele teistele bakteritele.

CHANTEMESSE ja VIDAL nägid, et b. typhosus ei kasva uuesti samas söötmes, kus see mikroob kasvas juba varemalt. Selle nähtuse

uurimiseks külvatakse tüüfusebatsillid agaar- või želatiinsöötme pinnale, lastakse seal kasvada ja kraabitakse mikroobid mõne päeva järel söötme pinnalt ära. Kui külvame uuesti värsked mikroobid selle mürgistatud ehk vaktsineeritud söötme pinnale, siis ei ole märgata nende kasvu. Sama nähtust võib uurida vedela söötme (puljongi) abil, kust mikroobid tsentrifugeerimise teel elimineeritakse ja siis uuesti värsked mikroobid sama puljongi sisse külvatakse. Ka siin leiame, et mikroobid ei leia selles mürgistatud puljongis oma kasvuks enam soodsaid tingimusi. Shiga düsenteeria batsillid ei kasva söötmeil, kus varemalt kasvanud b. typhosus, b. coli või Shiga batsillid, kuna tüüfusebatsillid seesugusel söötmel nõrgalt, b. coli aga hästi kasvavad. Vaktsineeritud söötmete kultuure tarvitatakse uuemal ajal mikroobide differentseerimiseks.

Ühe või teise mürgilise aine toime mikroobide peale oleneb peaasjalikult mürgi kontsentratsioonist. HÜPPE jagab kontsentratsiooni suhtes mürkide mõju mitmesse gruppi: 1) Mitmesuguste nõrkade lahuste mõjul ei jää mikroobide kasv seisma, kuid nõrgenevad või kaovad mikroobide üksikud funktsioonid (mitigatio). 2) Kasvab mürgi kontsentratsioon söötmes, siis ei või mikroobid enam sigida, kuid nad ei sure veel ära (asepsis). 3) Mürgi kontsentratsioon on nii suur, et vegetatiivsed vormid ära surevad, kuna eosed ellu jäävad (antisepsis). 4) Vegetatiivsed vormid ja eosed surevad ära mürgi lahuses (sterilisatio, desinfectio).

Keemiliste mürkide mõju mikroobide peale kahaneb, kui mikroobid ära harjuvad mürgilise ainega. Seda võib näha, kui me kord-korralt suurendame mürgi kontsentratsiooni söötmes. Mürkide õige nõrgad lahused võivad mikroobide kasvu koguni kiirendada ja nende elutegevust stimuleerida (ergutav doos). Väikeseks mürgiliseks doosiks nimetame niisugust mürgi kontsentratsiooni, kus ainult vegetatiivsed vormid ära surevad; suureks mürgiliseks doosiks aga säärast, kus ka eosed ära surevad. Peab tähendama, et ühe või teise mürgi toime mikroobide peale ei kasva proportsionaalselt mürgi kontsentratsiooniga.

Ühe või teise mürgilise aine toimivus oleneb miljööst, kus mikroobid asuvad. Nii võivad munavalge- ja limaollused mürgi surmavust neutraliseerida. Mitu mürgilist ollust koos võivad avaldada palju suuremat toimet mikroobide peale, kui iga üksik samas kontsentratsioonis. Näiteks soolhappe juurdelisamine sublimaadi või karboolhappe lahusele suurendab märksa nende mürkide toimet. Keemiliste ainete surmavus mikroobide peale oleneb märksa temperatuurist. Me teame, et soe soodalahus surmab mikroobid ära, kes puhtas vees samas temperatuuris eluvõimeliseks jäävad. See nähtus leiab praktilist tarvitust nende asjade desinfitseerimiseks, mis ei kannata keetmist.

Mikroobide toitumine.

Iga mikroobirakk on otsekui väike keemiline laboratoorium, kus vahet pidamata toimuvad mitmesugused keerulised protsessid. Mikroobide elu avaldub alatasases ainevahetuses nende raku ja välisilma vahel. Raku sisse tungivad välisilmast mitmekesised ollused,

muutuvad seal teisteks või lagunevad ja eralduvad uuesti rakust mitmekesiste produktide näol. Aine lagunemine ja ülesehitumine on elusa mikroobiraku oluliseks omaduseks. Nende biokeemiliste protsessidega seisab ühenduses mikroobirakkude alatasane soojuse neelamine ja selle eraldamine. Raku sisse tunginud ainet tarvitab mikroob otsekohe elusa protoplasma sünteesiks, ehk see jääb tagavara-lademena mikroobirakku, mida viimane vajaduse korral tarvitab. Ühed mikroobid tarvitavad oma vormeerivaks tööks toidu näol ainult orgaanilist ainet, kuna teised orgaanilist ainet sünteseerivad anorgaanilistest ainetest.

Mikroobide ainevahetuse-protsess seisab koos assimilatsioonist (ülesehitusest) ja dissimilatsioonist (lagunemisest). Mikroobid saavad tarviliku energia protoplasma sünteesiks peaasjalikult keemilisel teel (keemiosüntees), kuna rohelised taimed ja mõned rohelised mikroobid saavad seda päikesevalguse kaudu (fotosüntees). Mikroobid tarvitavad sünteetilise töö loomulikuks toimumiseks organogeenisid C, N, O, H, mineraalsoolasid ja vett.

Orgaanilistest ainetest on mikroobidele kõige tähtsamad need, mis sisaldavad CH, CH_2 gruppi. Mida rohkem kordub aines grupp CH_2, seda kõlblikum on ta mikroobile süsiniku saamiseks (NAEGELI ja LEVY). Süsiniku allikaks võivad olla mikroobidele kõik lämmastikku sisaldavad orgaanilised ühendid. Peale selle saavad paljud mikroobid süsinikku tärklisest, suhkruist, tselluloosist, rasvadest, mitmeaatomilistest piiritustest, glütseriinist, manniidist, orgaanilistest hapetest: sidrunihappest, piima-, äädika-, sipelga- ja viinahappest.

Lämmastiku allikaks on mikroobidele ammoniaak, ammooniumisoolad, lämmastikhappe- ja lämmastikushappe-soolad. Mis puutub lämmastikku sisaldavaisse orgaanilistesse ainetesse, kust mikroobid omale lämmastikku ammutavad, siis jagunevad need kahte peaossa: ühed sisaldavad fosforit, teised ei sisalda seda. Esimeste hulka kuuluvad proteiidid ja nukleoproteiidid, teiste hulka kuuluvad proteiinid, albumiinid, globuliinid, albuminoidid. Viimased on želatiini pea-osaks, mida mikrobioloogias laialiselt tarvitatakse mikroobide söötmeks.

Heaks toiduks mikroobidele on munavalgete lagunemise produktid: albumoosid, peptoonid, polüpeptiidid ja amiinohapped (leutsiin, türosiin, asparagiin jne.). Vähem toitvad on enamikule mikroobidest lämmastikku sisaldavad kusiaine ja hippuurhape, kuna üksikuile liikidele need ained on väga tarvilikuks toiduks.

Vesinikku saavad mikroobid sünteesiks peaasjalikult 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 söötmeile juurde 0,1—0,5% järgmisi soolasid: K_2HPO_4, $(NH_4)_2HPO_4$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, NaCl, $FeSO_4$, $CaCl_2$ jne. Peptoonist ja lihaekstraktist valmistatud söötmed sisaldavad juba tarviliku hulga soolasid, nii et nende juurdelisamine on vahel ilmaaegne. Meresool kiirendab paljude mikroorganismide kasvu. Üldiselt võib tähendada, et mikroobidel ei ole nii suurt tarvidust mineraalolluste kui orgaaniliste ainete järele, ainult üksikud liigid on mineraalsoolade suhtes väga nõudlikud.

Paljudel kordadel on katsutud valmistada anorgaanilistest ja orgaanilistest sooladest kindla koosseisuga üldist «universaalset» mikroobide söödet, kuid kõik need katsed on tänapäevani jäänud ilma suurema tagajärjeta. See on osalt arusaadav, kui arvesse võtame, et igal mikroobitõul on isesugused nõuded kunstliku söötme suhtes. RAULIN, NAEGELI, BECH'i, KNOP'i ja teiste poolt valmistatud kindla koosseisuga kunstlikud söötmed on kasvuks kõlblikud küll paljudele mikroobidele, kuid universaalseiks ei või neid kaugeltki nimetada, sest väga mitmed mikroobitõud ei sigi neis söötmeis.

Mikrobioloogias läks korda valmistada orgaanilistest ainetest ja mineraalsooladest nõndanimetatud harilikke söötmeid, mis kõlblikud suurele osale mikroobidele. Lämmastikku sisaldavaist aineist võetakse hariliku söötme valmistamiseks neid aineid, mis sisaldavad NH_2 gruppi (peptoon, sintoniin, leutsiin, asparagiin, ammooniumisoolad, lämmastikhappe-soolad jne.). Üksikud mikroobitõud tarvitavad õhulämmastikku ja ei tarvita oma sünteetiliseks tööks seotud lämmastikku. Nende hulka kuuluvad: bac. radicicola, bac. Pasteurianus, azotobacter chroococcus ja paljud teised mikroobid. Harilikud mikroobide söötmed sisaldavad orgaaniliste ainete kõrval suurel hulgal vett. Söötme veepuudus takistab märksa mikroobide kasvu. Sööde, mis sisaldab 70—75% vett, on hea mikroobide kasvuks, kuna 40—50%-lises nende kasv on takistatud ja 30%-lises ei ole paljude mikroobide kasvu enam märgata (BREMER, WOLF, JORNS, jne.). Vaba happe esinemine mikroobide kunstlikus söötmes takistab suurema osa mikroobide kasvu või surmab nad aja jooksul. Mikroobe, kes elavad ja sigivad vaba hapet sisaldavas kunstlikus söötmes, hüütakse atsidofiilseiks mikroobideks (bact. tumefaciens, bac. acidophilus). Suurem osa mikroobe armastab kasvuks neutraalse või nõrgalt alkaalilise reaktsiooniga kunstlikku söödet.

Kunstliku söötme reaktsiooni suhtes on paljud mikroobid väga tundlikud, ja sagedasti ei sigi mikroobid söötmes mitte sellepärast, et seal puudub vastav toitaine, vaid sellepärast, et söötme reaktsioon ei vasta mikroobide nõuetele. Seepärast võetakse viimsel ajal tarvitusele meetodid, mis täpsamalt lubavad ära määrata söötme reaktsiooni. Niihästi lakmus kui ka fenoolftaleiin on selleks otstarbeks vähetundlikud indikaatorid. Ameerika bioloogid tarvitavad mikroobide söötme reaktsiooni kindlaksmääramiseks meetodit, kus söötmes ära määratakse vesiniku-ioonide kontsentratsioon (Ph.). Juba need puudulikud andmed, mis meil sellelt alalt teada, näitavad, et pea igal mikroobitõul on oma nõuded Ph kontsentratsiooni suhtes, mis sagedasti ainult kitsais piirides tohib kõikuda, et mitte kasvu takistada. Vesinikuioonide kontsentratsiooni äramääramiseks on tarvitusel mitmed meetodid. Nendest kõige täpsam on elektromeetriline meetod, mis on praktiliseks otstarbeks väga komplitseeritud. Lihtsam on SÖRENSEN-MICHAELIS'e indikaatorite meetod. Selleks valmistatakse alguses lahused, mis vastavad mitmekesiste vesiniku-ioonide kontsentratsioonile. Uuritavale söötmele lisatakse juurde CLARK'i ja LUBS'i poolt kokkuseatud indikaatorid (Thymolblau, Bromphenolblau, Methylrot, Phenolrot jne.), mille järele sööde, vastavalt vesiniku-ioo-

nide kontsentratsioonile, ühe või teise värvi omandab. Siis lisatakse indikaatorid juurde nendele lahustele, kus Ph. juba on teada, ja võrreldakse söötmega. Praktiliseks otstarbeks on kohasem WALPOLE'i kolorimeetriline meetod, kus nitrofenoolidest valmistatakse püsivad värvilised standardlahused, vastavalt mitmekesisele vesiniku-ioonide kontsentratsioonile. Neid võib kauemat aega alal hoida ja nad on koondatud kolorimeetriks, mille tarvitamine on lihtne. Uuritavale söötmele lisatakse juurde vastav indikaator ja võrreldakse kolorimeetri standardlahustega. WALPOLE'i meetodit peetakse mikrobioloogilise tehnika otstarbeks küllalt täpsaks.

Harilikest söötmeist seisavad esimesel kohal: liha-peptooni puljong (98% vett, 1% peptooni ja 1% lihaekstrakti), želatiin, kui puljongile juurde lisatakse 4—12% želatiini, või agaar, kui puljongile juurde lisatakse 1—3% agaar-agaari. Kui harilikele söötmeile juurde lisatakse glütseriini (1—5%), suhkrut (1—15%), vereseerumit või teisi aineid, siis saame spetsiaalsed söötmed, milledes rahuloldavalt kasvab enamik patogeenseid mikroobe. Spetsiaalsete söötmete hulka kuuluvad ka aia- ja puuviljast (kartulid, porgandid, ploomid jne.) valmistatud söötmed. Lisame harilikele söötmeile juurde aineid, mis mikroobide bioloogiliste protsesside mõjul mitmekesiselt muutuvad (aniliinvärvid, natr. formicicum, lakmus jne.), siis saame differentsiaalsöötmed, mis võimaldavad ühe mikroobitõu eraldamist teistest.

Munavalge sünteesi mehhanism mikroobirakus ei ole teada. Arvatakse, et sipelgahappe-aldehüüd CH_2O, mida rohelised taimed süsihappest (CO_2) valmistavad, on algaineks, millest mikroobid orgaanilisi aineid sünteseerivad. Võib oletada, et $CH_2 + NH_3 + H_2S + H_2$ annavad alguse munavalge-ollustele. Seda tõendab osalt nähtus, et ained, mis CH_2 gruppi sisaldavad ja lagunedes CH_2O annavad, kõige soodsamaks toiduks on mikroobidele.

Mikroobide kunstlikus söötmes leiduvad ained võib jagada kahte pealiiki: ühed moodustavad mikroobi toidu; need on substantsid, mida mikroob tarvitab oma moendavaks tööks ja millede kulul ta valmistab tarvilikku energiat elamiseks ning sigimiseks; teised on substantsid, mida mikroobirakk ei assimileeri, kuid mis toimivad ergutavalt mikroobi kasvu ja elutegevuste peale. Need mõlemad liigid on tarvilikud kunstlikus söötmes, mis oleks soodus mikroobi eluprotsessidele. Mikroobide protoplasma keemiline koosseis on ligikaudu sarnane loomade ja taimede protoplasmaga. Söötmest elimineeritud ja kuivatatud mikroobide keemiline analüüs andis järgmised arvud:

munavalget	63,5%
tärklisollust	12,2%,
tuhka	11,2%,
teisi substantse	13,1%.

Sellest näeme, et mikroobid tarvitavad oma toiduks peaasjalikult munavalge-olluseid ja tärklisollust.

Mikroobide dissimilatsiooniprotsesside puhul lagunevad munavalge-ained lihtsamaiks aineiks, kusjuures vabaneb soojuse-energia. Kõik munavalge lagunemise lõpp-produktid ei ole veel teada, aga lühidalt võiks seda protsessi järgmiselt ette kujutada: Mikroobirakus ühineb

munavalge-ollus veega ja laguneb albumoosideks; viimased ühinevad veega ja lagunevad peptoonideks. Peptoonide lagunemise järel tekivad: a) alifaatsed ühendid: leutsiin, asparagiin ja glutamiinhapped; b) alused: lüsiin, arginiin; c) aromaatilised ühendid: fenool, indool, türosiin, fenüülalaniin, skatool jne.; d) anorgaanilised produktid: NH_3 ja H_2S. Peale seda algavad hapnemisprotsessid, mille tagajärjel eelmised ained järk-järgult lagunedes veel lihtsamaid produkte annavad, ja lõpuks saame lihtsad ühendid: CO_2, H_2O, NH_3, H_2S ja mineraalsoolad.

Kui me kasvatame mikroobe kunstlikul söötmel ja uurime kultuuri mitmekesise aja järel, siis võime leida seal mikroobide dissimilatsiooni-produkte ja osalt niisuguses järjekorras, kui ülalpool kuulsime. Seejuures peab silmas pidama, et sääraste biokeemiliste protsesside uurimine kannatab alles tehniliste puuduste all, mis ei võimalda tutvumist paljude vahe- ja lõpp-produktidega. Kahtlemata etendab ainetevahetuse-produktide uurimine mikrobioloogias suuremat osa kui teiste elusolevuste juures. Ühe mikroobitõu eraldamiseks teisest ei suuda mikroobide morfoloogia iga kord palju kaasa avitada. Siin tulevad abiks mikroobide bioloogilised omadused ja elutegevuse tagajärjel tekkinud produktid, millede uurimine kiirelt areneb.

Toitmise suhtes jagab PFEFFER mikroobid kahte liiki: 1) Autotroofilised mikroobid, mis toiduks orgaanilist ainet ei tarvita ja orgaanilist ainet anorgaanilistest ühenditest sünteseerivad. Nende liiki kuuluvad nitrifitseerijad, lämmastikusarnastajad, lämmastikuhapendajad, väävli-, rohelised ja teised mikroobid. 2) Heterotroofilised mikroobid, mis võivad osalt mineraalollustest orgaanilist ainet sünteseerida ja toiduks tarvitavad peaasjalikult valmis munavalgeolluseid. Siia kuulub suurem osa mikroobe, nii kui patogeensed mikroobid, seened, pärmid, aktinomütseedid jne.

FISCHER jagab mikroobid toitmise suhtes kolme liiki: 1) prototroofilised, mis orgaanilist ainet toiduks ei tarvita; 2) metatroofilised, mis valmis orgaanilist ainet tarvitavad ja osalt seda sünteseerivad anorgaanilistest ainetest; 3) paratroofilised, mis ainult elusat munavalget toiduks tarvitavad ja sellepärast elusais organismes võivad sigida, nii kui paljud patogeensed mikroobid. Paratroofiliste mikroobide grupi eraldamine oleks ilma-aegne, sest iga päevaga väheneb nende mikroobitõugude arv, keda võimalik ei oleks kasvatada söötmel. Kui me veel tänapäev ei saa kasvatada kõiki patogeenseid mikroobe kunstlikul söötmel, siis tuleb seda panna puuduliku mikrobioloogia-tehnika arvele.

Paljud bioloogid on katsunud selgusele jõuda, kas vitamiinid on mikroorganismidele nende normaalseks arenemiseks samuti tarvilikud kui loomadele. GOY (1921) uuris vitamiinide toimet saccharomyces cerevisiae, mucor mucedo, aspergillus niger, penicillium glaucum, b. megatherium, streptococcus ja teiste mikroobide kasvu peale ja tuli otsusele, et need ei tarvita oma kasvuks ollust, mis oleks sarnane vitamiinidega. Autor leidis mucor mucedo kultuuris aine, mida võib eraldada puhtate kristallidena ja mis toimis ergutavalt paljude mikroobide kasvu peale. Ergutava toimivuse kaotas see aine 168—170° C. soojuses, kuna $1^1/_2$-tunniline kuumutamine 130° C. temperatuuris ergu-

tavust ei takistanud. GOY arvates ei ole see aine sarnane vitamiinidega. EULER ja PETERSSON panid tähele, et vitamiin B pärmide poolt esilekutsutud käärimist 100% võrra kiirendab, kuna pärmseente kasv ainult 10% võrra kiireneb. Samale otsusele tulid FRÄNKEL ja SCHWARZ. Paljud ameerika bioloogid tõendavad, et vitamiinid kiirendavad pärmseente kasvu. SAMMARTINO (1921) leidis aga, et vitamiinid pärmseente käärimisprotsesse sellepärast kiirendavad, et nad otsekohest toimet avaldavad zymasa peale, kuna pärmseente kasvus silmatorkavat kiirenemist pole märgata. Tema eraldas fermendi (zymasa) pärmrakkudest ja pani tähele, et ferment ühes vitamiiniga esile kutsub kaks korda kiirema käärimise kui ferment üksi. Pepsiini, trüpsiini ja diastaasi peale vitamiinid ei avaldanud sarnast toimet. JIMÉNEZ valmistas 0,9% NaCl-lahusega mitmekesiste organite (vere, maksa, südame, põrna, neeru jne.) ekstraktid ja leidis, et need, mikroobide söötmele väikesel hulgal juurdelisatult, paljude mikroobide (meningococcus, pneumococcus, gonococcus, Pfeifferi batsill jne.) kasvu kiirendavad. Ekstrakti ja vee lahus kaotab ergutavuse osalt 15-minutilise soojendamise järel 90° C. soojuses ja täielikult 110—120° C. temperatuuris. Autor oletab, et siin tegemist on spetsiifilise stimuleeriva ollusega, mis sarnane on vitamiinidega. Vaatamata hulga uurimiste peale ei ole veel lõplikult teada, kas vitamiinid on mikroobidele kasvuks tingimata tarvilikud ja kuidas nad toimivad mikroobide elutegevuse peale.

Mikroobide hingamine.

Hingamisprotsess seisab selles, et organism välisilmast enesesse hapnikku ammutab, mis tekitab orgaaniliste ainete hapnemist. Hapnemisproduktidena eralduvad CO_2, H_2O ja vabaneb tarvilik soojuse-energia. Mikroobidelt leiame peale selle ka teissuguseid hingamistüüpe. Ühed mikroobid ammutavad hapnikku ja eraldavad CO_2, teised ei vii hapnemisprotsessi lõpule ja eraldavad CO_2 asemel mitmesuguseid teisi produkte. Näiteks äädikhappe-bakterid hapendavad alkoholi äädikhappeks, mõned seened hapendavad suhkrut oblika- või sidrunihappeks. Mõned mikroobid hapendavad mineraalollust (väävlit, vesinikku) ja saavad sel teel soojuse-energiat. PASTEUR leidis, et osa mikroobe (anaeroobid) ei saa soojuse-energiat hapnemise, vaid orgaaniliste ainete lagunemise teel.

Mikroobide hingamist võib demonstreerida LIPSCHITZ'i järele järgmiselt: Võimalikult laiale agaarisöötme pinnale (Kolle kausis) külvatakse mikroobid (staphylococcus aureus, albus jne.) ja lastakse seal kasvada 24 tunni jooksul 37° C. soojuses; mikroobid pestakse agaari pinnalt ära 5—6 sm^3 destilleeritud veega; saadud mikroobide suspensioon ehk heljum loksutatakse hoolega segi ja sellest võetakse 2,5 sm^3 kahte katseklaasi. Ühte klaasi lisatakse suspensioonile juurde mõnd desinfitseerivat ainet (sublimaati 1 : 1000) mikroobide surmamiseks. 20—30 minuti pärast lisatakse kumbagi klaasi juurde 0,2 gr puhast m-dinitrobensooli pulbrit ja lastakse seista termostaadis 37° C. soojuses 4—5 tundi, klaasisid korduvalt loksutades. Vees mitte lahustuv dinitrobensool redutseerub eluvõimeliste mikroobide toimel

vees lahustuvaks nitrofenüülhüdroksüülamiiniks ja muudab segu kollakaks. Selle järel mahutatakse klaasid 20—30 minutiks jääkappi ja lastakse segud külmuda. Kumbagi klaasi lisatakse juurde 5 sm^3 puhast eetrit ja loksutatakse segi, kusjuures nitrofenüülhüdroksülamiin veelahusest eetrisse läheb ja viimasele kollaka värvi annab. Selles klaasis, kus asusid surmatud mikroobid, ei muuda eeter pea sugugi oma värvi, mis tunnistust annab, et mikroobide hingamisprotsess on seisma jäänud.

Hapniku tarvitamise suhtes jagasid FLÜGGE ja LIBORIUS mikroobid kolme pealiiki:

1) Obligaatsed aeroobid, mis sigivad ja kasvavad ainult siis, kui neile vaba hapnikku juurde pääseb; vastasel korral on mikroobide kasv ja eoste tekkimine takistatud. Puhtas, 3—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; väliaspool neid piirisid on mikroobide normaalkasv takistatud. Obligaatsete aeroobide liiki kuuluvad kõik seened, protozoid ja paljud bakterid

2) Obligaatsed ehk sunnised anaeroobid, mis siis kasvavad, kui vaba hapnik neile ligi ei pääse. Iseäranis tundlikud vabale hapnikule on noored kultuurid. Nendes surevad hapniku juurdepääsmise järel vegetatiivsed vormid mõne tunni jooksul, kuna eosed on vastupidavad hapniku mõjule. Obligaatsete anaeroobide liiki kuuluvad bac. oedematis maligni, bac. tetani, bac. putrificus ja paljud teised. BEIJERINCK arvab, et obligaatsed anaeroobid võivad ka siis kasvada, kui neile hapnikku ainult väikesel hulgal ligi pääseb, ja ta nimetab neid mikroaerofiilideks.

3) Fakultatiivsed ehk volised anaeroobid ja aeroobid. Enam jagu mikroobe — nende hulgas pea kõik patogeensed — kannatab vaba hapniku juurdepääsmise kitsendamist ära, ilma et nende kasv seejuures liiga kannataks Fakultatiivsed aeroobid võivad kasvada täiesti ilma vaba hapnikuta, kuid seesugusel korral ilmuvad muutused nende funktsioonides: mikroobid ei valmista enam pigmenti, kuid valmistavad suuremal mõõdul mürgilisi ainetevahetuse produkte jne. Uuemad uurimused on tõestanud, et mõnedel obligaatseil anaeroobidel on ka aeroobilised generatsioonid (bac. tetani, bac. putrificus). Tihti leiame, et mikroobide isoleerimise puhul üks või teine mikroob kasvab alguses kõige paremini anaeroobseis tingimusis. Kasvades pikemat aega kunstlikul söötmel omandab sama mikroob kasvuvõimaluse aeroobseis tingimusis. Sellest näeme, et mikroobid võivad hapnikust rikka ja sellest vaese ümbrusega ära harjuda. Fakultatiivsete anaeroobide sekka kuuluvad mõned pärmseened, fakultatiivsete aeroobide hulka — bact. bulgaricum ja teised.

Obligaatsed ja fakultatiivsed anaeroobid kasvavad hästi lämmastikgaasis (N) ja vesinikus (H), kuna süsihapu gaas (CO_2) nende peale väga mitmekesiselt mõjub. Suurem hulk mikroobe ei kasva süsihapus gaasis ja osa neist sureb lühema või pikema aja jooksul (vibrio cholerae asiaticae, b. anthracis, staphylococcus), kuna teiste

kasvu peale ei avalda CO_2 nähtavat paha toimet (b. typhi, b. prodigiosum, b. acidi lactici).

Kui üks või teine mikroob kasvab tingimustes, kus puudub vaba hapnik, siis ei tähenda see veel, et mikroob ei tarvita oma elutegevuseks hapnikku. Nii teame, et vibrio cholerae asiaticae, kes kuulub obligaatsete aeroobide hulka, kasvab kiiresti ja sigib inimese sooltes, kus puudub vaba hapnik. CARLIER uurimiste järele leidub O_2 küllalt soolehattudes (villi intestinales) ringivas lümfis, ja kui mikroobid ründavad soolte limanaha rakke, siis saavad nad küllalt hapnikku. Peale selle võivad mikroobid saada hapnikku oma söötmeist, kus leidub aineid, millede molekulid sisaldavad O_2 aatomit. Seda silmas pidades võivad aeroobsed mikroobid sigida niisuguseis tingimusis, kus vaba O_2 täielikult puudub.

Mikroobide elutegevuse avaldused.

Mikroobide elutegevus sõltub: 1) nende arenemisastmest, tsümogeenseist ja patogeenseist omadusist; 2) söötme koosseisust; 3) õhu juurdepääsust; 4) ümbruse temperatuurist ja 5) valgusest.

Mehaaniline tegevus.

Mikroobide liikumise kohta kuulsime ülalpool, et paljud neist võivad iseseisvalt liikuda, milleks nad on varustatud liikumisorganellidega (viburid, ripsmed jne.). Sagedasti on raske otsustada, kas mikroob liigub aktiivselt või avaldab ta nõndanimetatud Browni molekulaarliikumist, mis ilmsiks tuleb mikroobi ühe koha peal värisemise ja hõljumise näol. Seesugusel korral peab värvimise abil mikroobi vibureid otsima, mis liikumisvõimalust lubab oletada, või mikroobide suspensioonile 5% acid. carbol. või 1% sol. sublimati juurde lisama ja neid rippuvas tilgas mikroskoobi all uurima. Kestab endine liikumine neis lahustes edasi, siis on tegemist Browni liikumisega, sest surnud mikroobidel ei ole aktiivset liikumist. FISCHER'i arvamise järele võivad mõned mikroobid varustatud olla viburitega, kuid selle peale vaatamata puudub neil iseseisev liikumine. Säärane nähtus oleneb peaasjalikult mikroobide söötmest. Mikroobide liikumisest rääkides võime veel tähendada termotaksist, kui mikroobid liiguvad soojuseallika poole või temast eemale. Mikroobide liikumise kiirus on väga mitmekesine ja oleneb paljudest teguritest.

Optiline tegevus.

Juba möödunud aegadel oli inimkonnale tuntud mere, mäda puu, kala ja liha hiilgamine. Igaühele on tuntud jaaniussikeste (lampyris noctiluca) hiilgamine. Sääraste hiilguste põhjuseks on fotogeensete ainete happestumine, mida tekitavad mitmekesised mikroobid-fotobakterid. PFLÜGER oli esimene, kes hiilgavate merekalade küljest 1875. a. fotobaktereid (bacterium phosphoreum) leidis. Peale selle leiti veel palju teisi hiilgavaid baktereid. BEIJERINCK soovitas esimesena

kõiki hiilgavaid baktereid fotobakteriteks nimetada, ja nende hulgast leiame kokkisid, kepikesi ja vibrioone. Fotobakterid elavad suuremalt jaolt merevees, kus kontsentreerunud merisoola-lahused nende eluprotsesse kiirendavad. Nad on enamalt jaolt psührofiilid, s. o. armastavad kasvuks madalat temperatuuri. Fotobakterid hiilgavad madalas temperatuuris (5—30° C.); soojendame neid üle 45° C., siis kaotavad nad lõplikult oma hiilgavuse. Kõik ümbruskonna toimed, mis harilikult bakterite kasvu takistavad (happed, kloroform jne.), katkestavad silmapilkselt nende hiilgamise.

Fotobakterid võivad elada ja mitte hiilgada, kuna ümberpöördud nähtus on võimatu. Et fotobakterite hiilgavust püsivalt alal hoida, tarvitatakse nende söötmeks kalaleeme želatiini, mis mereveega valmistatakse ja millele 1% peptooni, 1% glütseriini ja $^1/_2$% asparagiini juurde lisatakse. Merevee asemel võib tarvitada 3% merisoola-lahust. Kuid ka seesuguses söötmes kaotavad fotobakterid lõpuks oma hiilgavuse. Hiilgavate bakterite saamiseks kallatakse värske kala või liha 3% keedusoola-lahusega üle, lastakse seista — ja sagedasti juba 3. päeval võib näha hiilgamist. Fotobakterid tarvitavad vaba hapnikku, ilma milleta kustub nende hiilgamine. Seepärast hiilgab merevesi kõige rohkem laeva järel, kus vahutavas vees palju hapnikku mikroobidele juurde pääseb. FISCHER'il läks korda hiilgavat heeringat fotografeerida. LODE leidis, et ühe küünlavalguse saamiseks on tarvis 2000 m^3 fotobakterite läikivat pinda. Kõikide fotobakterite hiilgamise toimel avaldavad taimed positiivset fototropismi.

Hiilgavaist merebakteritest võib nimetada: ph. Fischeri, ph. luminosum, ph. phosphorescens, ph. balticum (Euroopa meredes) ja ph. indicum (India meredes). Hiilgavaid seenekesi tuntakse kaunis palju. Mädas puus leiduvad seened, millede niidikesed hiilgavad.

Hiilgamine on mikroobi üks elu sümptomitest, see on rakusisene protsess ja annab tunnistust protoplasma tegevusest (BEIJERINCK ja LEHMANN).

NADSON'i arvates tekib mikroobi rakus isesugune fotogeenne ollus, mis happestudes annab hiilgamise. Toiduainete hiilgamine on laialt tuntud nähtus. Tervishoiuliselt on hiilgavad produktid kahjutud, sest kahjuliku roiskumisprotsessi algusega kustub nende hiilgavus.

Soojuse valmistamine.

Mikroobide ainevahetuse-protsesside tagajärjel tekib nende kultuuris soojus, mille hulga kohta RUBNER selgusele jõudis selle tarvis valmistatud kalorimeetri abil Ta leidis, et soojust valmistavad kõige energilisemalt pärmseened piirituse käärimise ajal. Kõige kõrgemale tõuseb soojus 8 tundi pärast käärimise algust ja alaneb 2 päeva hiljemini uuesti. Bac. coli ja proteus'e kultuure uurides leidis RUBNER, et temperatuur seisab 3. esimesel kasvupäeval kultuuris kõige kõrgemal ja alaneb siis pikkamisi, jäädes vähe kõrgemale algtemperatuuris. Temperatuuri tõus oli bac. coli kultuurides 0,2—0,3° C, proteuse kultuurides 0,4—0,8° C.

Mikroobide keemiline tegevus.

Vaatamata hulga uurimiste peale on mikroobide keemiline tegevus tuttav ainult üldjoontes. Me tunneme ainult üksikuid produkte, mis mikroobide tegevusel tekivad, ilma et teada oleks nende tekkimise mehhanism. Kui me võrdleme mikroobide ja keemiliste reaktiivide tegevust, siis leiame nende vahel suurt sarnasust. Mikroobide tegevuses paistavad silma kolm pea-asjaolu, mida me ei näe keemiliste reaktiivide toimes: 1) Mikroobide suur tundlikkus, millest juba ülalpool kuulsime; 2) nende spetsiifilisus, kus mikroobid toimivad ainult teatud aine peale, teisi aga puutumata jätavad. Näiteks happestavad väävlibakterid ainult H_2S väävelhappeks ja ei happesta teisi mineraal-olluseid; 3) mikroobide astmeline (etapiline) tegevus. Näiteks ammoniaagi (NH_3) happestumine lämmastikhappeks (HNO_3) läheb keemiliste happestajate toimel algusest lõpuni, kuna mikroobide toimel sama protsess laheneb kahes faasis: alguses happestavad nitroosobakterid NH_3 lämmastikushappeks (HNO_2) ja pärast happestavad nitrobakterid HNO_2 lämmastikhappeks (HNO_3).

Pigmentide valmistamine.

Paljud mikroobid valmistavad värvollust pigmenti, mis iseloomustab sagedasti üht või teist tõugu. Mikroobide pigmendid on väga mitmekesised oma värvi, keemilise ehituse ja füsioloogiliste omaduste poolest. Keemiliselt on pigmente vähe uuritud ja nende füsioloogiline tähendus suuremalt osalt tundmata. Pigmendi suhtes soovitas BEIJERINCK mikroobe järgmiselt gruppeerida: 1) Kromopaarsed mikroobid, kes pigmenti ümbrusesse eritavad ja ise seejuures pigmendist vabaks jäävad; 2) kromofoorsed mikroobid, kel pigment raku sisse püsima jääb ja nähtavasti olulist füsioloogilist osa etendab mikroobi elus; 3) parakromofoorsed mikroobid, kus pigment raku sisse jääb ja aktiivset osa ei etenda mikroobi elutegevuses. Et aga paljudel kordadel võimatu on otsustada, kas pigment etendab mingisugust osa mikroobi elus või ei, siis on viimase grupi eraldamine üleliigne.

Üks ja sama mikroobitõug võib kahesugust pigmenti produtseerida, mis oleneb mikroobi toitmistingimustest. Näiteks bacterium syncyaneum (sinise piima bakter) valmistab sinist pigmenti söötmes, mis sisaldab ammonium citricum'i ja rohekaskollast asparagiiniga söötmes, kuna mõlemad pigmendid tekivad ammonium lacticum'i sisaldavas söötmes.

Mikroobide kromogeensed funktsioonid olenevad väga paljudest faktoritest. Bac. pyocyaneus ja bac. prodigiosum valmistavad rikkalikult pigmenti, kui nende söötmes leidub magneesiumi ja väävlit ($MgSO_4$ 0,2%) ja sööde on nõrgalt hapu reaktsiooniga. Glütseriin takistab harilikult pigmendi tekkimist (GAZZETTI). Kõik toimed, mis takistavad mikroobide kasvu, avaldavad takistavat toimet ka pigmendi valmistamise peale. Pigmendi tekkimiseks on tarvilik vaba hapniku juurdepääsmine mikroobidele ja ainult üksikud tõud toodavad pig-

menti anaeroobses tingimuses. Bact. prodigiosum, sarcina flava, actinomyces violaceus jne. tarvitavad 20—25°C. soojust ja bact. pyocyaneum 37°C. soojust kõige kiiremaks pigmendi valmistamiseks. Kõrgemas temperatuuris kaotavad paljud mikroobid (bact. prodigiosum) pigmendi produtseerimise funktsiooni mitmeks põlveks. Võib tähele panna, et mõned pigmendita mikroobid võivad anda pigmenti valmistava generatsiooni (JAWITZKY, KRUSE, PASQUALE). Nii on leitud, et streptococcus pyogenes, bac. pseudomallei ja teised võivad pigmenti valmistada.

Pigmentide elimineerimine kultuurist on raske. Selleks otstarbeks võib katsuda sulatada pigmenti soojas või külmas vees, alkoholis, amüül-alkoholis, 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 pigment (bacteriofluorescin), kollakas amorfne ollus, mida produtseerivad bact. fluorescens ja teised. Sinine pigment (pyocyanin ja syncyanin); esimest valmistab bac. pyocyaneum, teist bact. syncyaneum. Pyocyanin on kristalliline ollus, mida võib veelahusest eraldada kloroformiga. Happed muudavad teda punaseks, alkaalid siniseks. Syncyanin muutub hapete toimel mustjassiniseks, alkaalide toimel pruunikasmustaks.

2) Pigmendid, mis alkoholis lahustuvad. Siia kuuluvad: punane pigment (prodigiosin), mida valmistavad bact. prodigiosum ja mõned teised mikroobid. Peale alkoholi lahustub ta eetris, kloroformis, väävelsüsinikus ja bensoolis. Alkaalid muudavad teda kollaseks, mõned happed violettpunaseks. Tsink ja soolhape võtavad värvi ära. See pigment tekib kõige rikkalikumalt kartulil ja leival. Kollane pigment, mida valmistavad sarcina lutea ja aurantiaca, staphylococcus aureus ja teised. Kontsentreeritud väävelhape muudab teda sinikasroheliseks, alkaalid kollakaspunaseks või punaseks. Siia kuuluvad taimede (porgandi) ja rasvapigmendid (carotin, lipochrom.). Violetne pigment, mida valmistab bact. violaceum. H_2SO_4 muudab teda kollaseks, alkaalid roheliseks, tsink võtab värvi ära.

3) Pigmendid, mis ei lahustu vees ja alkoholis. Neid valmistavad azotobacter chroococcum ja mitmekesised seened.

Tihti näeme, et mikroobide kultuur muudab söötme mustjaspruuniks või koguni mustaks. Säärastel kordadel on enamalt jaolt tegemist türosiini happestumisproduktidega või väävlisraua-terakestega, mida eritavad mikroobirakud.

Fülogeneetiliselt pakuvad suurt huvi «rohelised bakterid». Paljud bioloogid (EWART, NADSON, LAUTERBORN jne.) kirjeldavad mikroobe, kellede rakuprotoplasma on homogeenselt roheline, ja spektraal-analüüs tõendab, et see roheline pigment on sarnane taimede klorofülliga. Et aga rohelised bakterid valguse toimel süsinikku ei sarnasta, siis arvas Nadson, et siin on tegemist inaktiivse klorofülliga. Selle põhjal tekib arvamine, et rohelised mikroobid seisavad ligidas suguluses roheliste

vetikatega (chlorophyceae). Väga võimalik, et siin ilmsiks tuleb üleminek keemiosünteesist fotosünteesi ja et roheliste bakterite inaktiivne klorofüll on prototüübiks taimede klorofüllile.

Tuttavad on veel mitmesugused bakterid, kellede rakuprotoplasma on ühetaoliselt punaseks värvitud. Seesugune punane pigment seisab koos mitmest pigmendist, milledest ühed (rohelised — bacteriochlorin) lahustuvad piirituses, teised kloroformis (punased — bacteriopurpurin). Need bakterid avaldavad positiivset fototaksist, kuid kauemat aega toimiv valgus takistab nende kasvu. Nende mikroobide hulka kuuluvad peaasjalikult väävlibakterid (rhodobacteriaceae).

Mikroobide fermendid-ensüümid.

Mikroobide keemiline tegevus oleneb peaasjalikult nende rakkude produtseeritud ainest, mis kannab fermendi või kitsamas mõttes ensüümi (enzyma) nime. Ensüümi all tuleb mõista substantsi, mille minimaalne hulk võib ära lõhustada suure hulga liitorgaanilist ainet, ilma et tema enese hulk seejuures kahaneks. Ensüüm on elusa raku tegevuseprodukt, kuid ei kao ühes raku surmaga. Meil on võimalus ensüümi elimineerida surnud rakkudest ja sellega esile kutsuda käärimist. TRAUBE oli esimene, kes 1858. a. tõendas, et käärimist kutsuvad esile mikroobide elutegevuse produktid-fermendid ehk ensüümid. 1897. a. kinnitas BUCHNER katsetega Traube teooriat ja näitas, et käärimist sünnitab spetsiifiline ensüüm, mida võib rakust eraldada.

Mikroobide ensüümide tekkimine ja nende keemiline iseloom on alles selgitamata. Ei ole veel korda läinud neid puhtal kujul saada. Ensüümide olulised omadused on: nad lahustuvad vees ja glütseriinis, sadestuvad veelahusest alkoholi toimel, dialüseeruvad raskelt, nad on amorfsed ollused, calcium phosphoricum ja mõned teised soolad viivad neid lahusest kaasa sademesse, neil on suur vastupidavus mürkidele, 50—60° C. soojus lõpetab nende tegevuse, kuivalt võivad nad 100° C. kuumusele vastu pidada, valgus on neile kahjulik. Suurem osa tuntud ensüümidest on kolloidsed kehad proteiinide klassist. Oma tegevuse-iseloomu poolest on nad sarnased keemiliste katalüsaatoritega, mis reaktsioonist otsekohe osa ei võta, kuid ainult ergutavad ja kiirendavad reaktsiooni. Üks ja sama mikroob võib valmistada mitmesugust ensüümi. Ühed ensüümid on tegevad hapu, teised alkaalilise reaktsiooni puhul. Ühed ensüümid eralduvad rakust kergesti, teised on püsivalt seotud raku protoplasmaga.

Tegevuse-iseloomu suhtes võib mikroobide ensüüme kolme liiki jagada:

1) Ensüümid, mis tekitavad munavalgete, rasvade ja süsivesikute lagunemist. Proteolüütilised fermendid, mis sulatavad munavalgeolluseid ehk valkusid. Neid leiame väga sagedasti mikroobide juurest. Želatiini sulatab mikroobide ferment — gelatinasa, ja et see oma tegevuseks alkaalilist reaktsiooni tarvitab, siis on ta sarnane trüpsiiniga. Nõrgemalt kui želatiini peale toimivad mikroobide proteolüütilised fermendid fibriini peale. Bakteriotrüpsiini toimel tekivad valgust protoalbumoosid, deuteroalbumoosid ja peptoonid.

Proteolüütiliste fermentide kindlaksmääramiseks võetakse harilikku želatiinsöödet, koaguleerunud ehk hüübinud vereseerumit, hüübinud kanamunavalget või fibriini, külvatakse uuritavaid mikroobe nende peale või pistega nende sisse ja lastakse kasvada: želatiinikultuuri 20—22° C. temperatuuris, teisi 37° C. soojuses. Sulab võetud aine lühema või pikema aja jooksul mikroobide pesade ümber ära, siis on tegemist mikroobiga, kes trüpsiini valmistab. Proteolüütilise ensüümi valmistamise funktsioon on mikroobidel väga muutlik. Nii on teada, et mõned tõud kasvades kunstlikul söötmel omandavad kord-korralt suurema želatiinisulatavuse, kuna teistel mikroobidel samades tingimustes see võime kahaneb. Huvitav on tähele panna, et ühe ja sama mikroobitõu üksikute pesade ümber võib želatiin ära 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 eritlemises.

LEHMANN leidis, et kõik faktorid, mis takistavad mikroobide kasvu kunstlikul söötmel, takistavad ühes sellega nende trüpsiinivalmistamise funktsiooni: karboolhape, glütseriin jne. AUERBACH leidis, et ka viinamarja-suhkru juurdelisamine kunstlikule söötmele, mis iseenesest mikroobi kasvu edendab, takistab märksa mikroobi trüpsiinivalmistust. Proteolüütilist fermenti valmistavad väga paljud mikroobid: bac. anthracis, b. subtilis, b. mesentericus, b. tetani, staphylococcus pyog. aureus ja teised.

Nucleasa't — ensüümi, mis sulatab nukleiinhapet, leidub mitmekesistel mikroobidel (bac. typhi, b. coli jne.). LEVADITI, DA FANO ja teised panid tähele, et ultraviiruse poolt esilekutsutud haiguste puhul (encephalitis lethargica, herpes febrilis) tekivad närvi- ja mädarakkudes vakuoolid, mis näitab, et rakus esinev virus produtseerib fermenti, mis sulatab protoplasmat ja ka rakutuuma.

Hemolüsiini — erütrotsüüte sulatavat fermenti — on leitud paljudelt mikroobidelt. Selle fermendi uurimiseks lisatakse 2 sm^3 0,85% söögisoola lahusele juurde 1 tilk pestud punaseid vereliblesid ja siis kord-korralt suurenev hulk (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 sm^3 jne.) mikroobidekultuuri filtraati. Kultuurid peab võtma mitmesuguse kasvuaja (1, 2, 3, 4 päeva jne.) järele. Segu lastakse seista 2 tundi 37° C. soojuses ja siis 20 tundi jääkapis. Sulamata erütrotsüüdid langevad katseklaasi põhja, ja mida rohkem ainet nendes on sulanud, seda punasem on pealmine vedelik. EIJCKMAN soovitab sulale agaarsöötmele (45° C.) juurde lisada pestud punaseid vereliblesid, hästi segi segada, segu Petri kausile laiali valada ja kõvaks läinud pinna peale uuritavaid mikroobe külvata. Valmistavad mikroobid hemolüsiini, siis tekib mikroobide pesade ümber läbipaistev rõngas. Hemolüsiinide uurimiseks võib sulale (45° C.) agaarsöötmele korraga juurde lisada erütrotsüüdid ja uuritavad mikroobid ning siis Petri kausile laiali kallata. Siin võib aga juhtuda, et tundlikud mikroobid 45° C. soojuses ära surevad. Ei ole veel lõplikult teada, kas hemolüsiin kuulub fermentide hulka või sulavad erütrotsüüdid mõnede teiste keemiliste olluste mõjul.

Laabiferment — sünnitab piima kalgendumist neutraalsel reaktsioonil. Eksituse ärahoidmiseks peab silmas pidama, et paljud mikroobid piimasuhkrust hapet valmistavad, mis ka piima kalgendumist sünnitab ja seega fermenti simuleerib. Laabifermenti võib leida vanadest bact. prodigiosum'i kultuuridest.

Lipasa — lõhustab rasva glütseriiniks ja vabadeks rasvahapeteks. Selle ensüümi uurimiseks soovitab EIJCKMAN Petri kausile valada sula loomarasva ja kauss siis uuesti tühendada, kusjuures klaasi külge õhuke kord rasva jääb. Siis valatakse kaussi võimalikult jahedat sula agaarsöödet ja külvatakse mikroobid peale. Nende mikroobipesade all, kus tekib lipasa, seebistub rasv ja läheb tuhmiks. Lipasat valmistavad: b. prodigiosum, b. fluorescens, b. pyocyaneum, b. typhi jne.

Invertasa — ferment, mis lõhustab roosuhkru (saccharosa) viinamarja- ja puuvilja-suhkruks. Invertasa uurimiseks võetakse 2% roosuhkru-lahust, lisatakse uuritavad mikroobid juurde ja lastakse kasvada 37°C. soojuses termostaadis. Siis tehakse reaktsioon viinamarja-suhkru peale Fehlingi lahusega või teiste reaktsioonidega. Invertasat valmistavad b. megatherium, b. fluorescens, b. vulgare, vibrio cholerae jne.

Lactasa — lahutab piimasuhkru viinamarja-suhkruks ja galaktoosiks. Lactasat leidub piimahappe mikroobides.

Diastasa (amylasa) — lõhustab tärklist dekstriiniks ja maltoosiks. Katseks lisatakse 1% tümooli sisaldavat tärkliskliistrit uuritavale mikroobidekultuurile juurde, mis ka 1—2% tümooli sisaldab, ja lastakse seista 6—8 tundi termostaadis 37°C. soojuses. Siis tehakse Fehlingi reaktsioon suhkru peale. EIJCKMAN lisab agaarsöötmele tärklist juurde, valab selle Petri kausile, külvab mikroobid peale ja laseb termostaadis kasvada. Valmistavad mikroobid fermenti, siis tekivad mikroobide pesade ümber läbipaistvad rõngad. Diastaasi produtseerivad: b. anthracis, b. megatherium, micrococcus tetragenes, b. mallei, paljud vibrioonid jne.

Cellulasa sulatab tselluloosi ja teda on leitud paljudelt seentelt ning üksikuilt bakteritelt. Taimtoiduliste loomade sooltes leiduvad mikroobid, mis sulatavad tselluloosi. Peaasjalikult valmistavad cellulasa't need mikroobid, mis tekitavad mitmekesiseid taimehaigusi (proteus Nadsoni jne.).

Pektasa sulatab taimelima — pektiini. Pektasat leidub mikroobidel, kes tarvilikku osa etendavad kiutaimede (linad, kanep jne.) vees leotamisel.

Gelasa, mis agaar-agaari sulatab ja seda suhkruks muudab. Seda valmistavad ainult üksikud mikroobitõud (b. gelaticus).

Glükosiide lõhustavad paljud mikroobid typhus coli grupist, kuid see ferment on vähe tuntud.

Ureasa — kusiaine purustaja ferment — esineb paljudes aktinomüütseetides, seentes ja mõningais bakterites.

2) Ensüümid, mis toimetavad happestamis- ja taandamis- (reduktsiooni-) protsesse.

Oxydasa — ferment, mis seob kergelt happestuvaid orgaanilisi aineid vaba hapnikuga (tyrosin, chinon etc.). Laiemalt on tuntud taimede juures tyrosinasa. Oxydasat leidub mõningate seente ja actinomyces chromogenes'i kultuurides.

Reductasa — taandav ferment — on alles vähe tuntud.

Katalasa, mis lahutab H_2O_2 veeks ja hapnikuks ($H_2O_2 = H_2O + O$). Teda leidub pea igas mikroobikultuuris suuremal või vähemal hulgal. JORNS leidis, et noortes kultuurides on katalasat vähe, vanades rohkem. Katalasa on vähe püsiv ja kaotab oma toime 60° C. soojuses. KNORR soovitab järgmist meetodit katalasa uurimiseks: kahe kapillaarse klaasist torukese sisse (4 sm pikad, 2 mm läbi mõõta) mahutatakse peenikese klaaspipetiga 2 — 3% hydrogen. superoxydat., kuni pooleni. Siis võetakse peenikese klaaspulgakesega (mitte plaatina ega raud) väike osa kultuuri ja lisatakse juurde ühes torukeses olevale perhüdroolile, kuna teise torukesse lisatakse juurde kultuuri, kus esineb kindlalt katalasa (b. pyocyaneus). Viibib kultuuris katalasa, siis eralduvad minuti jooksul gaasimullikesed. See reaktsioon on sagedasti väga kasulik mikroobide eritlemiseks. Lihtsamalt võib katalasa uurimist järgmiselt toimetada: täielikult puhta esemeklaasi peale võetakse klaaspulgakesega väike osa uuritavat kultuuri, lastakse ära kuivada ja lisatakse juurde klaaspipetiga 1 tilk 3% hydrogen. superoxyd. Viibib kultuuris katalasat, siis eralduvad kiiresti gaasimullikesed.

3) Iseseisvasse gruppi võiks eraldada ensüüme, mis tekitavad põhjalikku aine lagunemist ja on oma tegevuse-iseloomu poolest väga mitmekesised. Neid fermente leidub väga paljudel mikroobidel. Nende rühma kuuluks ka ensüüm zymasa (BUCHNER), mis põhjustab alkoholi käärimist.

DUCLAUX jagab mikroobide fermendid ehk diastaasid järgmistesse klassidesse:

1) Koaguleerijad ja dekoaguleerijad diastaasid.
   a) Laabiferment — kalgendab piima.
   b) Caseasa — sulatab kaseiini.
   c) Trüpsiin — sulatab želatiini ja hüübinud vereseerumi.
2) Hüdrolüseerijad ja deshüdrolüseerijad diastaasid.
   a) Ureasa — tekitab kusiaine fermentatsiooni.
   b) Amylasa, dextrinasa, saccharasa, maltasa, inulasa etc. — tekitavad tärklisolluste ja suhkrute käärimist.
3) Oksüdeerijad ja redutseerijad diastaasid.
   a) Oxydasa — tekitab oksüdatsiooni.
   b) Philothion (reductasa) — valmistab väävlist väävlisvesinikku (H_2S).
4) Dekompositsiooni tekitav diastaas.
   a) Zymasa — tekitab alkoholi käärimist.

Ensüümide õpetust ei või praegusel ajal kaugeltki täielikuks nimetada, nende ligem uurimine on üks suuremaist ja tähtsamaist bioloogia ülesandeist. FISCHER ütles: «Kes saab esimesena kunstlikult ensüümi, see avab uue ajajärgu orgaanilises ja bioloogilises keemias.»

Paljude haiguseprotsesside peale tuleb vaadata kui patogeensete mikroobide ensüümide tegevuse peale, kuid praegusel ajal on võimatu neid protsesse analüseerida elusas organismis.

Ensüümide eraldamiseks mikroobidest on järgmised võimalused: 1) Kultuuri kurnamine läbi mikroobide filtrite, kusjuures ensüümid filtraati lähevad (ektoensüümid); 2) BUCHNER'i poolt tarvitusele võetud ensüümide väljapressimine vesipressi abil; 3) mikroobide jääkskülmetamine vedela õhuga ja sellele järgnev nende purukshõõrumine; 4) mikroobide autolüüs 0,85% söögisoola-lahuses; 5) mikroobide sulatamine mitmesugustes keemilistes ainetes (entoensüümid). Nende meetoditega on suudetud paljusid ensüüme lahutada mikroobidest, mis võimaldab nende uurimist. Peab oletama, et praegusel ajal tuntud mikroobide ensüümid moodustavad ainult väikese osa nendest, mida mikroobid valmistavad.

Fermentatsiooniprotsessid.

Fermentatsiooniks nimetati varemalt aine dekompositsiooni, mille puhul vabanesid gaasid, s. o. käärisid vedelikud. Kuid ei tohi unustada, et fermentatsiooniprotsessi puhul ei vabane iga kord gaas (äädikhappe fermentatsioon).

NICOLLE'i järele on fermentatsioon elu fenomen, kus valitseb hiigladisproportsioon aktiivse organismi ja transformeerunud aine kaalu vahel. Nii võib väike hulk mikroobe ümber töötada lõpmata hulga orgaanilist ainet. Säärast suurt disproportsiooni ei ole märgata keemiliste reaktsioonide puhul.

Mikroobide poolt esilekutsutud fermentatsiooniprotsessid on looduses laialt tuntud. Nad ületavad niihästi elusaid kui elutuid orgaanilisi liitaineid ja kõige lihtsamaid mineraal-olluseid. Fermentatsiooniks tarvitavad ühed mikroobid hapnikku (fermentatsioon oksüdatsiooni teel), teised mikroobid toimetavad seda ilma hapnikuta või nõuavad koguni hapniku puudumist (fermentatsioon reduktsiooni teel). Mikroobilise fermentatsiooni iseloom oleneb substraadi koosseisust, milles teotsemas mikroobid. Fermentatsiooniprotsessides on peafaktoriteks mitmekesised ekto- ja entoensüümid.

Lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsioon.

Roiskumine (putrefactio). Valkude ja teiste lämmastikku sisaldavate ainete lagunemist, mille juures tekivad paha lõhnaga produktid, nimetatakse igapäevases elus roiskumiseks. Mikrobioloogias mõistetakse roiskumisprotsessi all ainete põhjalikku lagunemist mikroobide toimel, millele järgneb aine mineralisatsioon.

Orgaanilise aine roiskumine toimub kahes faasis: esimene on tingitud aeroobseist mikroobidest, teine anaeroobidest. Roiskub vedel aine, siis tungivad selle sisse alguses aeroobid, kes sealt toitu ning hapnikku leiavad elamiseks ja sigimiseks. Need sigivad aines, assimileerivad toitu ja eraldavad produkte, mis on harilikult ilma lõhnata. Peale seda kui hapniku hulk aines väheneb, kogunevad aeroobid pinnale, et absorbeerida õhu hapnikku. On kõik hapnik ainest ära tarvitatud, siis hakkavad seal takistamata sigima anaeroobid, keda kaitseb õhu hapniku eest aeroobide kiht. Sellest silmapilgust alates

esineb aine spetsiaalne transformatsioon, kust eralduvad vastiku lõhnaga lenduvad produktid.

Sama käiku leiame, kui roiskub liha. Alguses ründavad aeroobid söehüdraate ja osalt albuminoide oma proteolüütiliste ja peptolüütiliste fermentidega. Kolme, nelja päeva järel ilmuvad anaeroobid. Umbes nädala järel kaovad lihast suhkur-ollused ning glütseriin, rasvad aga seebistuvad. Anaeroobide proteolüütiliste fermentide toimel lagunevad kiiresti valk-ained ja eralduvad haisvad produktid. Protsess kestab lühemat või pikemat aega ja lõpeb sellega, et orgaanilised ained täielikult kaovad ja roiskuv aine mineraliseerub.

Valkude lagunemine on laialt tuntud õhus, maapinnas, vees ja organismides. Meile ei ole veel tuttavad kõik mikroobide ensüümid, mis põhjalikku valgu lagunemist esile kutsuvad, kuid lagunemise tagajärjel tekkivaist produktidest on paljud tuntud. Proteolüütiline ferment lahutab valgu hüdrolüüsi teel järkjärgult albumoosideks ja edasi peptoonideks. Peptolüütiliste fermentide toimel lagunevad peptoonid kuni mitmekesiste lõpp-produktideni.

Valgu lagunemise lõpp-produktid ei ole veel kõik teada, kuid üks osa nendest on juba põhjalikumalt uuritud. SOMMARUGA leidis, et mikroobid, kasvades söötmes, mis täiesti vaba oli suhkrust, valmistavad valgust ammoniaaki (NH_3), mis annab söötmele alkaalilise reaktsiooni. Esineb söötmes suhkurollust, siis valmistavad paljud mikroobid sellest happe, mis söötmele esialgu hapu reaktsiooni annab, ja kui suhkur on otsas, siis muudab NH_3 reaktsiooni leeliseks. Ammoniaaki valmistavad mikroobid peale valgu ka teistest N sisaldavaist aineist. Tuntud on nähtus, et mikroobid kusiainet $CO(NH_2)_2$ lahutades valmistavad ammoniaaki. Kusiaine lagunemist peeti alguses keemiliseks protsessiks; alles 1862. a. leidis PASTEUR, et siin on tegemist biokeemilise protsessiga, mida põhjustab micrococcus ureae. Pärastised uurimused tõestasid, et kusiainet lahutavad väga mitmekesised mikroobid. Neid leidub alatasa õhus, mustas vees, sõnnikus ja mullas (proteus vulgaris, bact. prodigiosum ja paljud teised). MIQUEL nimetas mikroobe, kes kusiainet iseäranis energiliselt lahutavad, urobakteriteks, jagades neid kolme liiki: urobacillus, urococcus ja urosarcina. Nende mikroobide eraldamiseks soovitab BEIJERINCK söötmeks lihapuljongi, mis sisaldab 2—5% kusiainet, kus urobakterid kiiresti kasvavad. Lõplikuks isoleerimiseks külvatakse neid sellest algkultuurist järgmisele kõvale söötmele: keedetakse 20 gr presspärmi 100 gr veega, lisatakse juurde 2—3% kusiainet ja 10% želatiini. Juba mõne päeva järel tekib urobakterite pesade ümber valge rõngas $CaCO_3$ ja $CaHPO_4$ sademest.

Urobakterid valmistavad ensüümi (ureasa ehk urasa), mis on LEUBE ja BEIJERINCK'i arvates endoensüüm, MIQUEL'i arvates aga ektoensüüm. Ureasa toimel laguneb kusiaine:

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

Ureasa tegevus on kõige suurem 30—33°C. soojuses. Saccharosa, glütseriin ja valgus kiirendavad tema tegevust, sublimaat, cupr. sulfur.,

acid. boricum, natr. causticum, mineraalhapped ja kloroform lõpetavad kiirelt tema tegevuse.

Kusihape ja hipuurhape, mis sisaldavad N, lagunevad mitmesuguste mikroobide toimel järk-järgult ja lõpuks tekivad NH_3, CO_2 ja H_2O. Sellest näeme, et mikroobid lõhustavad neid orgaanilisi aineid, millega inimesed ja loomad, neid igapäev miljonid puudad kusega välja heites, ümbrust roojastavad.

Ammoniaagi (NH_3) tekkimist N sisaldavaist aineist mikroobide tegevusel võib järgmiselt näidata: prooviklaasi, kus kasvab mikroobidekultuur, riputatakse topise vahelt Nessleri reaktiivis märjaks tehtud kurnamispaberi riba. Muutub paber kollaseks või pruuniks, siis eraldub kultuurist NH_3.

Väävel-vesinik (H_2S) on tuntud produkt, mis tekib valgu lagunemisel. H_2S valmistavad paljud mikroobid. Selle uurimiseks riputatakse kontsentreeritud plumbum aceticum'is märjaks tehtud filtreerimispaberi riba kummikorgi vahelt kultuuri klaasi, nii et see söötmega kokku ei puutuks. Tekib kultuuris H_2S, siis muutub paber pruunikaks või koguni mustaks. Katset peab tihti kontrollima, sest mustaks muutunud paber võib värvi uuesti kaotada happestumise mõjul.

ERNST soovitab H_2S tekkimise tõendamiseks želatiinsöötmele juurde lisada 3% järgmist lahust: ferri tartar. oxydat. 0,5 + aq. dest. 50,0 + Na_2CO_3 kuni leelise reaktsioonini. H_2S värvib söötme mustaks (mustad rõngad mikroobide pesade ümber).

Peale NH_3 ja H_2S tekib valgu lagunemisel veel palju teisi gaase: CO_2, N, H, CH_4, PH_3 (mineralisatio).

Mikroobide toimel tekivad roiskuvast valgust mitmesugused lämmastikku sisaldavad mürgilised produktid: roiskumisalkaloidid ehk ptomaiinid. Enam tuntud on neist: 1) amiinid: methylamin, di- ja trimethylamin, putrescin, cadaverin ja väga paljud teised; 2) ammooniumalused: cholin, muscarin, neurin, neuridin ja teised; 3) peptoonid ja toksalbumiinid, millede loomu kohta on alles vähe teada.

Verde pääsedes võivad ptomaiinid põhjustada surmavat mürgistust. Peab tähendama, et säärastel kordadel sagedasti roiskuvas aines viibivad mikroobid infektsiooni tekitavad, mida ptomaiinide mürgistustega ära võib segada. Ptomaiinide eraldamine ja nende puhtalt saamine on võimalik BRIEGER'i meetodi järele, mis üldisest patoloogiast tuttav.

Valgu põhjalikuma lagunemise järel ilmuvad amiinohapped: glükokoll, leutsiin, türosiin, lüsiin, arginiin jne., mis edasi lagunedes NH_3 kujul lämmastiku kaotavad ja annavad: sipelgahappe, äädikhappe, propioonhappe, õlihappe, piimahappe jne. Happed lagunevad lihtsaiks ühenditeks CO_2, H_2O, millega lõpeb valgu täielik mineralisatsioon.

Suuremat tähelepanu leiavad mikrobioloogias amiinohappeist tekkivad aromaatilised ühendid: indool, skatool, fenool, kresool, trüptofaan jne.

Indooli valmistamise funktsioon on iseloomulik paljudele mikroobidele (bac. coli, prot. vulgaris, vibrio cholerae asiaticae jne.).

ŻDANSKY uurimused näitavad, et paljud mikroobid valmistavad indooli kiiresti kasvades söötmes, mis sisaldab vaba trüptofaani. Teistes söötmeis peavad mikroobid alguses ensüümide abil valkaineist trüptofaani valmistama. FRIEBERG'i uurimiste järele toimub indooli tekkimine trüptofaanist kahes etapis: 1) trüptofaanist eraldub $CH.NH_2$ grupp ja tekib indool-äädikhape; 2) indool-äädikhappest tekib lõpuks vaba indool.

Esimese etapi lõpp-produkte võivad valmistada niihästi indool-negatiivsed kui ka indoolpositiivsed mikroobid, kuna teise etapi lõpp-produkti (indooli) võivad tekitada ainult indoolpositiivsed mikroobid. Indooli tekkimise uurimiseks soovitatakse järgmisi söötmeid:

1) FRIEBERG'i trüpsiinipuljong: 1 l harilikule puljongile, mis sisaldab 10 gr peptooni, 5 gr lihaekstrakti, 5 gr söögisoola ja mis on alkaliseeritud lakmuse neutraalpunktist üle — 7 sm^3 N. soodalahusega liitri kohta, lisatakse juurde 0,2 gr trüpsiini, 10 sm^3 kloroformi ja 5 sm^3 toluooli; loksutatakse hästi segi ja hoitakse siis klaasist korgi all 24—48 tundi 37° C. soojuses termostaadis; kurnatakse läbi paberi. Sellest alglahusest võetakse üks osa, millele juurde lisatakse kolm osa füsioloogilist lahust, ja steriliseeritakse.

2) ZIPFEL'i trüptofaanilahus: trüptofaani 0,3 gr + ammonium lacticum 5,0 gr + kalium phosphoricum 5,0 gr + magnes. phosphoricum 0,3 gr + + aq. destill. 1000,0 sm^3; sööde neutraliseeritakse ja steriliseeritakse.

Indooli võrdleva uurimise puhuks peab võetama ühevanused kultuurid (1—21 p.), üks ja sama söötme hulk, mille sisse külvatud on üks ja sama mikroobide hulk (1 aasatäis).

Indooli reaktsioone on palju; nendest võiks tarvitada järgmisi:

1. SALKOWSKI reaktsioon: 10 sm^3 kultuurile lisatakse juurde $^1/_3$ osa 50% väävelhapet (acid. sulfuric. concent. + aq. destill. āā), loksutatakse hästi segi ja lisatakse juurde tilkade viisi naatriumnitriidi-lahust (natr. nitrosi 0,02 gr + aq. destill. 100 sm^3). On kultuuris indooli, siis tekib punane värv, mille intensiivsus sõltub indooli hulgast. Kahtlase reaktsiooni puhul võib punast värvollust nähtavamaks teha, kui seda segust ekstraheerime amüülalkoholi või kloroformi abil.

Seda reaktsiooni tarvitatakse sagedasti mikrobioloogias, kuid peab tähendama, et teda ei või pidada spetsiifiliseks indooli reaktsiooniks. Sama reaktsiooni annavad produktid, mis tekivad indooli tekkimise esimese etapi aegu (indool-äädikhape), sellepärast ei anna Salkowski reaktsioon täpsaid resultaate.

2) EHRLICH-PRINGSHEIM'i reaktsioon: 5 sm^3 kultuurile lisatakse juurde 5—10 tilka järgmist reagenssi: 5 gr p-dimethylamidobenzaldehyd'i, 50 sm^3 metüülalkoholi (96%), 50 sm^3 acid. hydrochloric. erikaalult 1,19 ja loksutatakse segi. On kultuuris indooli, siis ilmub punane värv. Naatriumnitriidi-lahuse juurdelisamine kõvendab reaktsiooni. Amüülalkohol ja kloroform ekstraheerivad punase värvolluse.

Seda reaktsiooni peetakse spetsiifiliseks indoolile, mida võiks tarvitada indooli uurimisel.

3) BERTHELO reaktsioon: kultuurile lisatakse juurde sama palju eetrit, segatakse kergelt, lastakse seista, eraldatakse eeter pipetiga. Eetriekstraktile lisatakse juurde umbes $^1/_4$ osa p-dimethylamidobenzal-

dehyd'i-lahust 4:100. Klaasi põhja, kus viibib eelmine segu, lastakse pipetiga 1—2 sm^3 acid. hydrochlorici. On ekstraktis indooli, siis tekib happe ja eetri kokkupuute-kohal punakasvioletne rõngas. Reaktsioon on sama väärtusega kui Ehrlich-Pringsheim'i oma.

Indooli valmistavad peaasjalikult gramnegatiivsed mikroobid; ei ole veel tuntud grampositiivsed mikroobid, mis valmistaksid indooli ja mida oleks võimalik avastada praegusel ajal tuntud spetsiifiliste reaktsioonide abil.

Fenooli äramääramiseks lisatakse suhkruvabas lihapuljongis kasvavale kultuurile $^1/_5$ acid. hydrochlorici juurde ja destilleeritakse kindlas aparaadis. Destillaadile lisatakse juurde aq. bromi, mille järele ilmuvad segus helbed, kui kultuuris leidus fenooli. Ettevaatlikult calcium carbon. abil neutraliseeritud destillaat muutub nõrga neutraalse rauakloriidi-lahuse juurdelisamise järel violetseks.

Märksa lihtsam on MARQUIS' reaktsioon fenooli suhtes. Selleks võetakse katseklaasi 1—2 sm^3 acid. sulfurici, lisatakse juurde 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 kokkupuute-kohal roosakaspunane või pruunikaspunane rõngas. See reaktsioon on ülitundlik.

Fenooli võib leiduda ainult mõningate mikroobitõugude (bact. coli, proteus vulgaris) vanades kultuurides.

Trüptofaani valmistavad valgust väga paljud mikroobid (bac. typhi, b. paratyphi, vibrio cholerae, streptococcus pyogenes). Trüptofaani uurimiseks lisatakse 5% peptoonliha-puljongis kasvavale kultuurile juurde väikesel mõõdul äädikhapet ja tilkade viisi värsket kontsentreeritud kloori- või broomivett. On kultuuris trüptofaani, siis omandab segu punakasvioletse värvi.

Tundlikum kui eelmine on trüptofaani suhtes MONCEAUX' reaktsioon. Selleks lisatakse lihapuljongis kasvavale mikroobidekultuurile juurde 5—6 tilka 1% glüoksüülhappe-veelahust ja lisatakse siis juurde acid. sulfuric. concentr. Leidub kultuuris trüptofaani, siis ilmub happe ja eelmise segu kokkupuute-kohal violetne rõngas.

Indooli, fenooli, trüptofaani ja türosiini viibimine aines, kus kasvavad mikroobid, annab tunnistust valgu sügavast molekulaarsest desintegratsioonist.

Väävel, mis viibib valgumolekulis, vabaneb valgu roiskumisel osalt väävlisvesiniku (H_2S), osalt metüülmerkaptaani ($CH_3.SH$) näol.

Fosfori saatuse üle valgu roiskumise puhul ei ole veel palju teada. Võib-olla vabaneb fosfor osalt PH_3 näol ehk jälle fosforhappe-soolade näol.

Roiskumist, mis toimub vaba õhu juurdepääsmise puhul, nimetatakse sagedasti kõdumiseks.

Loomade ja inimeste korjused satuvad mikroobide toime alla, mis lõhustab valk-aine järk-järgult lihtsamaiks aineiks, mille ühe lõpp-produktina tekib lihtne lämmastikku sisaldav NH_3. Seesugust fermentatsiooniprotsessi nimetatakse valgu ammonisatsiooniks. Seejuures tekib palju teisi lihtsamaid aineid: CO_2, H_2O, H, CH_4 jne. Nii siis

lõpeb korjuste roiskumine mikroobide toimel lõpuks orgaanilise aine täieliku mineralisatsiooniga.

Korjuste roiskumine ei alga mitte ainult pinnapealseist, vaid ka sisemistest osadest. Sooltes viibivad roiskumismikroobid tungivad peale surma kiiresti kudedesse ja vallutavad mõne ainsa päeva jooksul kogu organismi, kus nad jõudsasti sigivad ja oma fermentatiivset tööd toimetavad. Juba surmaheitluse ajal võivad mikroobid sooltest verde pääseda ja kogu organismis laiali laguneda, iseäranis kui surmaheitlus on kestev. Harilikult võib juba mõni tund pärast surma leida roiskumismikroobe südames ja nendes osades, mis viibivad soolte ligikonnas. Korjuste roiskumise kiirus sõltub paljudest tingimustest. Mida soodsamad on roiskumismikroobide kasvu- ja sigimistingimused, seda kiiremini edenevad korjuse dekompositsiooniprotsessid.

Tüübilistest roiskumismikroobidest võiks nimetada:

1) Proteus vulgaris — leidub suurel arvul maapinnas, vees, õhus, sõnnikus, väljaheiteis jne. METŠNIKOV, SERBINOW ja teised leidsid, et proteus vulgaris võib olla mitmesuguste inimese, looma ja taimede haiguste põhjuseks. Ta sünnitab fermentatsiooni ka niisuguseis aineis, kus teised mikroobid oma tegevust ei suuda avaldada. Proteuse liike tuntakse mitu: proteus vulgaris, mirabilis, Zenkeri jne.

2) Bacillus mycoides — tuntud roiskumismikroob, mis valgu lagunemist peaasjalikult maapinnas toimetab. B. mycoides on Nadsoni andmete järele peafaktoriks musta muda tekkimiseks merede, järvede ja limaanide põhjas.

3) Bacterium cloacae — on tuntud kui energiline roiskumise tekitaja. Teda leidub mustas vees, mullas ja väljaheiteis.

Alatasa sooltes viibivaist anaeroobidest võib tähendada bacillus putrificus't ja b. cadaveris sporogenes't kui energilisi valgu põhjaliku lagunemise sünnitajaid.

Roiskumismikroobide hulka kuuluvad paljud patogeensed mikroobid: bac. oedematis maligni, bac. perfringens, vibrio cholerae asiaticae jne. Energiliseks valgu mittelõplikuks lõhustajaks on b. coli ja b. fluorescens.

Kui ei oleks valk-ainete fermentatsiooni ehk roiskumisprotsesse, siis muutuksid maapind ja veekogud lühikese aja jooksul korjuste ja väljaheidete laduks, kus elu oleks võimatu. Praktilist tarvitust leiavad roiskumisprotsessid nahaparkimises (karva mahavõtmiseks) ja peaasjalikult põlluväetamises, kus sõnnikus viibivad orgaanilised ained lagunevad mikroobide toimel ja nende lagunemisproduktid toiduks lähevad kõrgemaile taimedele.

Nitrifikatsioon.

Ammoniaak ja ammooniumsoolad, mis tekivad valgu fermentatsiooniprotsesside tagajärjel, lahustuvad maapinna vees, kus nad mõnesuguste mikroobide toimel happestuvad salpeetris- ja salpeeterhappeks. Säärast ammooniumsoolade happestumist maapinnas toimetavad nitrifitseerijad mikroobid ja happestumisprotsessi ennast nimetatakse nitrifikatsiooniks. Sel teel tekivad salpeeterhappe-soolad,

milledest taimed lämmastikku sarnastavad valgu sünteesiks. Taimedelt saavad inimesed ja loomad oma toiduks valmis valku. Sellest näeme, et ilma mikroobide põhjustatud nitrifikatsiooniprotsessita oleks kõrgemate olevuste elu võimatu.

PASTEUR arvas esimesena 1862. a., et nitrifikatsiooniprotsessi tekitajaks on mikroobid, kuid hulga aja jooksul ei läinud korda neid mikroobe avastada.

SCHLOESING ja MÜNTZ näitasid eksaktse katse abil, et nitrifikatsiooniprotsessi kutsuvad esile elusad olevused. Nad täitsid 1 meetri pikkuse klaastoru mustmullaga (väetatud põllumuld), mille ülemisest otsast nad ammooniumsulfaadi-lahust sisse valasid ja alumisest otsast välja jooksvast vedelikust ammooniumnitraati leidsid. Kui aga mulda enne steriliseerida 100—110° C. soojuses või seda impregneerida ehk imistada kloroformiga, siis lähevad ammooniumsulfaadid läbi mulla ilma nitrifikatsioonita. Sellest järgneb, et nitrifikatsiooni faktor on elus organism, mis kuumuse ja kloroformi toimel sureb.

1889. a. leidis WINOGRADSKI, et nitrifikatsiooni tekitavad isesugused mikroobid, kes söötmeks ainult mineraal-olluseid tarvitavad, kuna orgaanilised ained nende kasvu takistavad. Nende söötmeks on kõlvuline järgmine lahus: ammon. sulfur. 2 gr + natr. chlorat. 2 gr + kal. phosphor. 1 gr + magnes. sulfur. 0,5 gr + ferr. sulfur. oxydul. 0,4 gr + aq. destill. 1000 sm^3. Agaar-agaar kõlbab nende mikroobide söötme aluseks ainult siis, kui roiskumismikroobide abil temas viibiv orgaaniline aine ära lahutada.

Winogradski leidis, et ammooniumsoolade happestumist toimetavad kahesugused mikroobid. Ühed mikroobid (nitrosobacteria) happestavad neid soolasid lämmastikushappe-sooladeks (nitriitideks), teised (nitrobacteria) happestavad nitriite lämmastikhappe-sooladeks (nitraatideks). Nende protsesside käik oleks peajoontes järgmine:

1) $(NH_4)_2CO_3 + 3O_2 = 2HNO_2 + CO_2 + 3H_2O + 148$ calor.

2) $2KNO_2 + O_2 = 2KNO_3 + 44$ calor.

Nitroosobaktereid leidub palju maapinnas. Nende isoleerimiseks ja kasvatamiseks tarvitatakse mineraalsoolade lahust, kus ainukeseks lämmastiku allikaks on ammonium sulfuricum. Nitroosobaktereid tuntakse mitmed tõud, mis morfoloogiliselt ja bioloogiliselt üksteisest lahku lähevad (nitrosomonas ja nitrosococcus). Oma tegevust avaldavad nad nitroosofermendi abil.

Praegusel ajal tuntud nitroosobaktereid võiks liigitada järgmiselt:

Nitrosobacteria:

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

Need mikroobid ei kannata oma söötmes orgaanilist ainet. Glükoos ja peptoon on neile kahjulikud, samuti kui karboolhape teis-

tele mikroobidele. Mustmulla ja kuivanud puulehtede ekstrakt stimuleerib nende kasvu, kuid ainult kõvas söötmes.

Nitrobakterid on lühikesed, mitteliikuvad, ilma eosteta pulgakesed; neid leidub maapinnas. Nitrobakter on vähem tundlik orgaanilistele ainetele kui nitroosobakter ja harjub korduvate edasikülvamiste tagajärjel nendega ära. Ammoniaak ja ammooniumsoolad takistavad nitrobakterite kasvu, kuid ei takista nende happestamisfunktsiooni; nitriidid on nende kasvuks tarvilikud.

WINOGRADSKI leidus on suure bioloogilise tähtsusega. See näitas: 1) et on olemas mikroorganisme, kes valmistavad valku keemiosünteesi abil mineraalaineist, ilma et nad klorofülli abi tarvitaksid, nagu kõrgemad taimed. See leidus avas võimaluse maapealse elu tekkimise küsimuse selgitamiseks; 2) ta selgitab ülemineku-võimalust bakterite, roheliste bakterite ja taimeriigi vahel.

Uuemad uurimused tutvustavad meid veel teiste ammoniaakihapendavate mikroobidega. KASERER kirjeldab bact. azotofluorescens'i, mis tarvitab NH_3 lämmastikku valgu sünteesiks. Ta avastas ka mikroobi (bact. nitrator), mis happestab NH_3 õigelt salpeeterhappeks (HNO_3).

Nitrifikatsiooniprotsessid toimuvad peaasjalikult mullas, kus roiskumismikroobid lämmastikku sisaldava orgaanilise aine on ära lõhustanud. Selle tagajärjel ilmunud produktides algavad oma tegevust nitroosobakterid, mille järel tekivad nitriidid. Viimaste peale toimivad nitrobakterid oma nitrofermentidega ja siis tekivad nitraadid ehk salpeetersoolad. Arvatakse, et suured salpeetrilademed looduses formeeruvad osalt samade protsesside tagajärjel.

Nitrifikatsiooniprotsesse kasutatakse kui bioloogilist faktorit musta vee puhastamiseks. See toimub kahes faasis: 1) musta vee kogumise haudades toimub anaeroobne fermentatsioon, kus mikroobide fermendid ründavad orgaanilisi aineid ja kutsuvad esile nende dekompositsiooni. Protsess lõpeb ammooniumsoolade tekkimisega; 2) roiskuv vesi lastakse tiikidesse, kus luuakse kunstlikult vee kontakt õhuga. Sellega algab aeroobne fermentatsioon, mille tagajärjel nitrifitseerijad bakterid transformeerivad ammooniumsoolad nitraatideks.

Nitrifitseerijad mikroobid elavad ja sigivad kaljumägedel, kus puudub muu orgaaniline elu. Nad valmistavad seal lämmastikhapet, mis pika aja jooksul purustab kaljumäed. Nitrifikatsioon on tõukejõud, mis juhib seotud lämmastiku ringimist looduses.

Denitrifikatsioon.

Tuntakse paljusid mikroobe merevees, jõevees, maapinnas, sõnnikus, väljaheites jne., mis taandavad (redutseerivad) nitriite ja nitraate ja mille tagajärjel vabanevad N_2O ja N ning üksikuil kordadel ka lämmastikuoksüüd (NO). Seesugust mikroobide tegevust nimetatakse denitrifikatsiooniks. Denitrifitseerijad mikroobid teotsevad keskkonnas, kus küllalt leidub orgaanilist ainet; sellepärast võivad nad suureks takistuseks olla nitrifikatsiooniprotsessidele.

Denitrifikatsiooniprotsessides võime tähele panna mikroobide etapilist tegevust. Paljud mikroobid taandavad nitraate nitriitideks,

kus nende tegevus lõpeb (bac. cloacae, bac. aquatilis, actinomyces denitrificans, saccharomyces ja paljud seened). Säärast mikroobide omadust tarvitatakse mikrobioloogias nende differentseerimise otstarbeks. Nitraate ja nitriite taandavad ammoniaagiks (NH_3) bact prodigiosum, staphylococcus citreus, bac. typhi, bac. anthracis jne. Ülaltähendatud mikroobid tarvitavad toiduks orgaanilist ainet: peptooni ja amiinohappeid, kuna spetsiifilised mikroobid, kes taandavad nitraate ja nitriite lämmastik-alahapendiks (N_2O), valku sünteseerivad mineraalsooladest (bact. pyocyaneum, bact. denitrificans jne.). Denitrifitseerijad mikroobid valmistavad suurel hulgal ensüümi — peroksüdaasi. Denitrifikatsiooni kemism oleks lühidalt järgmine: mikroobid vabastavad nitraatidest ja nitriitidest hapniku, mis happestab lämmastikust vaba orgaanilist ainet, kust mikroobid omale süsiniku (C) ja tarviliku energia saavad. BEIJERINCK arvab, et mikroobid taandavad nitraate ja nitriite ainult lämmastik-alahapendiks (N_2O), mis orgaaniliste ainete juuresolekul laguneb ja vaba lämmastiku (N) annab:

$$2\,NO_3K + 2\,C = N_2O + CO_3K_2 + CO_2$$
$$2\,NO_2K + C = N_2O + CO_3K_2$$
$$2\,N_2O + C = 2N_2 + CO_2.$$

Denitrifikatsiooniprotsessi uurimiseks lisatakse harilikule lihapuljongile juurde 0,25% naatriumnitraati või naatriumnitriiti, valatakse käärimiskolbi ja külvatakse uuritavad mikroobid sisse; külv mahutatakse termostaati, kus kasvades gaas võib tekkida, mis sisaldab N ja N_2O. Sel teel tekkinud gaasi analüüsiks lisatakse kultuurile juurde: 1) KOH, kui see gaasi ei absorbeeri — tähendab, et 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 ja CH_4. Järelejäänud gaasi analüseeritakse eriliselt N ja N_2O suhtes

Denitrifitseerijate mikroobide tähtsus on suur olluste ringimise suures protsessis. Nende toimel vabaneb salpeetrist ammoniaak (NH_3) või vaba lämmastik (N), mis õhku lendub. NH_3 langeb õhust maha ühes vihma ja lumega, kuna vaba N jääb õhku, kust teda uuesti sarnastavad teissugused mikroobid. Denitrifikatsiooniprotsessid on harilikult tasakaalus nitrifikatsiooniprotsessidega looduses, kuid teatavail tingimusil võivad esimesed prevaleerida, mis pole soovitav põllumehele. Denitrifikatsiooniprotsess on kõige energilisem märjas (25% vett sisaldavas) maapinnas ja vees, kuna tihti läbikünd tud kuivas maapinnas see protsess on väike. 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 salpeetersooladega, — vastasel korral langevad viimased denitrifikatsiooni ohvriks.

Vaba lämmastiku sidumine.

Mitmekesiste bioloogiliste protsesside puhul vabaneb hulk lämmastikku (N), mis õhku lendub. Õhus viibiva vaba lämmastiku tarvitavad mikroobid valgu sünteesiks. Me teame, et iga aasta viiakse ära ühe ja sama maapinna pealt heinaga või maharaiutud puudega suur

hulk seotud lämmastikku. Selle peale vaatamata ei vähene aga lõikus, ehk küll maapinda kunstlikult ei väetata. Paistab, et maapinnas peituvad lõpmatud tagavarad taimede toiduks. Seesugust lämmastikku sisaldavate ainete rikkust maapinnas seletas BERTHELO esimesena mitmekesiste mikroobide tegevusega. Ta tegi kindlaks, et mõned mikroobide tõud sarnastavad vaba lämmastikku ja sünteseerivad sellest valku. Ühed säärastest mikroobidest elavad vabalt maapinnas, — nende ülesleidja oli WINOGRADSKI (1893), teised elavad sümbioosis mitmesuguste taimedega (herned, oad, ristikhein jne.). Viimased kasvavad nende taimede juurte pundumustes. Nende ülesleidja oli BEIJERINCK.

Vabalt maapinnas viibivaist lämmastikusarnastajaist mikroobidest on tuttav bacillus Pasteurianus. See on kaunis suur eostega pulgake, mis kasvab kiirelt anaeroobseis tingimusis. Tal on palju mitmesuguseid variatsioone.

Lämmastiku sarnastamise kemismi üle ei ole veel selgusele jõutud. WINOGRADSKI arvab, et õhu lämmastik (N) annab vesinikuga (tekkimishetkel) ammoniaagi (NH_3). OMELJANSKI arvates tekib ammoniaak õhu lämmastikust ja veest, kusjuures vabaneb hapnik (O_2). Vabanenud hapnik happestab seejuures süsivesikuid. Lämmastiku sidumine käib käsikäes süsivesikute happestamisega. Bacillus Pasteurianus'e füsioloogilised omadused on väga muutlikud ja sõltuvad suurel määral söötmest, millel ta kasvab. Kui ta kasvab kunstlikel söötmeil, kahaneb tema N fikseerimise jõud.

1901. a. leidis BEIJERINCK aia mullast teissuguse N sarnastaja aeroobse mikroobi, kes nimetuse sai azotobacter chroococcum. See mikroob kasvab söötmeil, mis sisaldavad väikesel määral seotud lämmastikku. Morfoloogiliselt on ta piklik, ühe viburi abil kiiresti liikuv rakuke. Õhu lämmastikku sarnastab ta ainult orgaaniliste ainete (süsivesikute, piirituste, orgaaniliste hapete) kaastoimel.

Peale tähendatud mikroobide on veel palju teisi, kes vabalt elavad ja õhu N fikseerivad (bac. asterosporus, aspergillus glaucus, penicillium glaucum jne.). Et maapinda nende mikroobide abil rikastada seotud lämmastikuga, selleks peab teda korduva kündmise teel tuulutama ja süsivesikuid juurde lisama, mis nende mikroobide tegevust kiirendavad.

Iga põllumees teab, et pärast mõnede taimede (uba, hernes, ristikhein, vikk jne) kasvu põllu viljakus kasvab, ilma et seda oleks kunstlikult väetatud. Seda nähtust läks korda ära seletada ainult uuemal ajal. WAGNER oli esimene, kes katsete abil tõestas, et kaunviljaliste sugukonda kuuluvad taimed rikastavad maapinda seotud lämmastikuga, ja BEIJERINCK tegi tõeks, et seda õhu lämmastiku fikseerimist toimetab mikroob bacterium radicicola. Need mikroobid sigivad ja kasvavad isesugustes pundumustes nimetatud taimede juurte küljes. Taime juure küljest võetud hernetera- või kirsikivisuurustest teradest võime isoleerida selle mikroobi puhta kultuuri. Kunstlikuks söötmeks on neile kõlvuline: 0,2 kuiva ekstrakti, valmistatud ühe kaunviljaliste sugukonda kuuluva taime juurest + 7% želatiini + 0,25% asparagiini + 5% roosuhkrut.

Beijerinck leidis, et bacterium radicicola nime alla käib palju variatsioone ja mikroobiliike. Nende sümbiootiline elu taime juure

küljes oleks lühidalt järgmine: Mikroobid tungivad juurte sisse ja sünnitavad juureterakesi. Alguses tarvitavad mikroobid toiduks taimeraku orgaanilist ainet ja sigivad kiiresti. Hiljemini hakkavad nad ise suurel hulgal valmistama lämmastikku sisaldavat orgaanilist ainet, tarvitades selleks õhu lämmastikku. Selle tõttu tekivad taime juurte pundumustes N sisaldavad limaolluse-tagavarad. Imedes oma sisse mikroobide valmistatud limaollust ja surnud mikroobide orgaanilist ainet saavad taimed oma kaotuse mitme võrra tagasi.

Silmas pidades seesugust mikroobide omadust katsuti maapinda kunstlikult väetada nende mikroobide puhtkultuuride seguga. Selleks on soovitatud palju preparaate: nitragiini, asotogeeni, nitrobakteriini ja pookmulda, s. o. mulda niisuguselt väljalt, kus kaunviljad andsid hea lõikuse. Katsed sääraste preparaatidega andsid rahuloldavaid tagajärgi. Tarvis ainult silmas pidada, et mikroobid nendes preparaatides oleksid eluvõimelised.

Meie näeme, et mikroobid suurt osa etendavad lämmastiku ringkäigus looduses. Nad kannavad hoolt, et ei rikunduks lämmastiku tasakaal õhus, mis nii tarvilik loomadele; samuti valvavad nad, et maapind sisaldaks tarviliku hulga seotud lämmastikku taimede toiduks. Mikroobid reguleerivad maapealset elu ja on vahelüliks orgaanilise ja anorgaanilise ilma vahel.

Süsivesikute fermentatsioon.

Süsivesikute fermentatsiooni all mõistetakse nende ainete transformatsiooni teisteks aineteks, mis keemilise iseloomu poolest lahku lähevad algainest. See protsess on laialt tuntud «käärimise» nimetuse all. Süsivesikute lagunemine toimub vahet pidamata looduses mitmekesiste bioloogiliste faktorite mõjul. Käärimine on üks neist protsessidest, mis toimetab süsiniku (C) ringimist looduses ja puhastab maapinda surnud jäänustest. Käärimisprotsessi kasutatakse paljudeks praktilisteks otstarveteks, niihästi tehnoloogias kui ka põllumajanduses. Võib oletada, et mitmekesistest süsivesikute fermentatsioonidest on meile tuntud ainult üksikud.

Alkoholi fermentatsioon.

Piirituse valmistamine käärimise teel oli tuntud kaugeil möödunud aegadel, kuid käärimisprotsessi mehhanismi ja kemismi läks korda ligemalt tundma õppida ainult uuema aja bioloogidel. Käärimisprotsessi avastajaks oli LAVOISIER. PASTEUR uuris käärimisprotsessi põhjalikumalt ja sidus seda pärmide elutegevusega. BUCHNER näitas 1897. a. hiilgavalt, et suhkru käärimist piirituseks põhjustab pärmseente ensüüm — zymasa. Pärmseente rakkusid purustades ja siis pressides vesipressi abil sai Buchner vedeliku, mis pärmirakkudest täiesti vaba oli ja peale zymasa sisaldas veel teisi ensüüme: invertaasi, maltaasi, glükogenaasi, proteaasi, oksüdaasi, reduktaasi ja katalaasi. Buchner leidis, et piirituse käärimist toimetab ensüüm — zymasa — väljaspool pärmirakkusid, ilma et viimased otseteel osa võtaksid sellest protsessist.

Piirituse käärimise kemism ei ole veel täielikult teada. Kindel on see, et selle biokeemilise reaktsiooni tagajärjel glükoos lahustub viinapiirituseks ja süsihappeks, mille juures soojuse-energia vabaneb. Keemilise formuliga võiks seda protsessi järgmiselt ära tähendada: $C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_6O + 2CO_2 + 51$ calor. Ligemad uurimised näitavad, et käärimisel kaduma läinud suhkru kaal vastab peaaegu saadud piirituse ja süsihappe kaalule, samuti vastab ligikaudu ka suhkrus sisalduva süsiniku kaal saadud alkoholis ja süsihappes leiduva süsiniku kaalule. Keemiline formul oleks aga maksev siis, kui need kaalud teineteisele täielikult vastaksid; tõepoolest aga on nendes kaaludes märgata väikest vahet. Sellega oleks ka suhkru fermentatsiooni formul ainult ligikaudne ja provisoorne, mida peavad täiendama põhjalikumad uurimised.

Peale alkoholi ja süsihappe-gaasi tekib suhkru fermentatsiooni puhul veel palju teisi produkte: 3—4 % glütseriini, 0,5 % merivaigu-hapet, propüüli, isobutüüli ja amüülalkohole, mitmekesiseid aldehüüde, happeid ja liiteetreid. Kahtlemata ei lagune glükoos otseteel piirituseks ja süsihappeks, vaid siin on veel palju tundmatuid vaheprodukte.

Kõrvaliste produktide hulk glükoosi fermentatsioonis on väga muutlik ja oleneb paljudest tingimustest. Muutes vastavalt neid tingimusi võime saada suuremal hulgal üht või teist kõrvalprodukti. Seesugune võimalus on juba praktilist tarvitust leidnud. Näiteks, ilmasõja ajal oli suur puudus rasv-ainetest glütseriini valmistamiseks. Saksa teadusemeestel läks korda sundida pärmseeni toimima suhkru peale niisuguses sihis, et käärimise puhul tekkis kuni 36 % glütseriini kõrvalproduktina. Selleks oli tarvilik, et käärivale segule juurde lisatakse naatrium sulfiiti ja et segu oleks leelise reaktsiooniga. Sellest näeme, et pärmseente fermendi tegevus on funktsioon, mis oleneb mitmekesiseist faktoreist. Viimaste uurimine areneb uuemal ajal kiiresti.

Lühidalt võiks tähendada, et alkoholi fermentatsioon on isesugune mikroobide toitmine, kusjuures mikroobide rakud tarvitavad plastiliseks tööks väikese osa suhkrut, kuna suurem osa sellest läheb vaba energia saamiseks. Glükoosi fermentatsioon toimub peaasjalikult anaeroobseis tingimusis, kuid PASTEUR näitas, et teataval ajal on selleks tarvilik ka vaba hapnik. Juba väike hulk vaba hapnikku võib reaktiveerida seisma jäänud fermentatsiooniprotsessi.

Käärimisprotsess on kõige energilisem 30 — 36° C. soojuses. Alla 0° C. ja üle 56° C. jääb käärimisprotsess seisma. Sisaldab vedelik rohkem 30 % suhkrut või üle 15 % alkoholi, siis lõpeb käärimisprotsess.

Zymasa kutsub esile ainult monosahhariidide fermentatsiooni: glükoosi, mannoosi, galaktoosi. Ta ei toimu disahhariidide (sahharoos, laktoos, maltoos jne.) ja polüsahhariidide (inuliin, tärklis, dekstriin) peale. Selleks peab neid aineid alguses amülaasi ja diastaasi abil transformeerima monosahhariidideks, nii kui seda toimetatakse viina- ja õllevabrikuis.

Looduses laialt tuttavad piirituse käärimise tekitajad on mitmekesised pärmseened (saccharomycetes). Paljudel hallitusseentel (mu-

cor, Rouxii, mucor javanicus, aspergillus oryzae etc.) on piirituse käärimise funktsioon ja neid tarvitatakse tehniliselt alkoholijookide valmistamiseks.

Bakteritest tekitavad piirituse käärimist: bact. prodigiosum, vibrio cholerae asiaticae, b. paratyphi, b. typhi jne. Pärmseened valmistavad maksimaalselt 16% alkoholi, kuna bakterid samus tingimusis seda 3—8% võivad valmistada.

HANSEN'i suur teene on, et ta iga pärmseene variatsiooni poolt esile kutsutud käärimise puhul isesugused käärimisproduktid leidis ja tehniliseks otstarbeks tarvitusele võttis kultuurpärmid, mille tõttu võimalik oli käärimisproduktide väärtust tõsta. Hansen'i leidus pani uue aluse viina ja õlle valmistamise tehnikale.

Polüsahhariidide fermentatsioon.

Tselluloosi ja tärklisolluste fermentatsioon toimub looduses vahet pidamata, kusjuures surnud taimorganismid mitmekesiste biokeemiliste protsesside tagajärjel lihtaineiks lagunevad.

Tselluloosi fermentatsiooni tagajärjel vabaneb hulk aineid, mis taimedesse on koondunud, ja need hakkavad uuesti osa võtma ainete ringimisprotsessist. Tselluloosi lagunemisprotsessi näeme igas tiigis, kus põhjamuda liigutamise korral õhumullid (CH_4) üles tõusevad, mis tselluloosi fermentatsiooni lõpp-produktide hulka kuuluvad. OMELJANSKI ja van ITESSON'i arvates tekitab tselluloosi käärimist ensüüm-tsellulaas, mida toodavad väga mitmesugused mikroobid (bac. cellulosae hydrogenicus ja methanicus, proteus Nadsoni, mitmesugused seened, aktinomütseedid j. t.). Tselluloosi käärimist leiame loomade sooltest ja sõnnikust, kus suurel hulgal tekib H ja CH_4.

Taimede lagunemisega fermentatsiooni teel on seotud mustmulla — huumuse — tekkimine, mis nii suurt osa etendab inimkonna heas käekäigus. Taimejätiste huumuseks muutumist toimetavad mitmesugused mikroobid oma fermentidega.

Taimede karbonisatsioon ehk süsistamine on suuremalt osalt mitmekesiste mikroobide elutegevuse avaldus. OMELJANSKI arvates oleks see protsess järgmine:

$$2C_6H_{10}O_5 = 2C + 5CO_2 + 5CH_4.$$

Tselluloosi käärimise lõpp-produktidest on tuntud CH_4, CO_2, H. Kivisõe ja turba tekkimine on seotud tselluloosi fermentatsiooniprotsessidega.

Tärklis $(C_6H_{10}O_5)_n$ laguneb amülaasi toimel dekstriiniks, viimane laguneb dekstrinaasi toimel maltoosiks ja isomaltoosiks. Nimetatud fermente (amülaas ja dekstrinaas) leiame paljudelt mikroobidelt (aspergillaceae).

Valge leivataina valmistamisel tekib amülaasi toimel tärklisest suhkur, mis käärides alkoholi ja süsihappe-gaasi (CO_2) annab. Viimasest oleneb taina kerkimine. Hapuleiva käärimisel tekitab bacillus laevans suhkrufermentatsiooni, mille tagajärjel ilmuvad: äädika-, piima- ja sipelgahapped, kuna alkoholi käärimine siin vähemal määral ilmsiks tuleb.

Tärklisolluste käärimist toimetavad paljud seened mucoraceae sugukonnast. Nii tarvitatakse mucor Rouxii ja mucor javanicus'e kultuure alkoholiliste jookide valmistamiseks. Nende seente fermendid hüdrolüseerivad alguses tärklise ja tekitavad siis suhkru käärimist, samuti kui pärmseened.

Uuemaks leiduseks tööstusealalt võiks nimetada atsetooni- ja butüülalkoholi valmistamist. Mitmekesiste mikroobide fermentide toimel tekib tärklisefermentatsioon ja selle produktidena saame atsetooni ja butüülalkoholi.

Polüsahhariidide fermentatsioon võib toimuda astmeliselt mitme mikroobitõu abil. Nii on tuttav, et b. mesentericus'e fermendid sulatavad tärklist, hallitusseente fermentide abil valmistatakse sellest suhkur ja lõpuks kutsutakse pärmseentega esile alkoholi käärimine.

Glükosiidide fermentatsioon.

Suhkurollustega ligidas suguluses seisavad taimede glükosiidid (amügdaliin, miroonhape jne.), mis taimede fermentide toimel lagunevad. Peale selle võivad sarnaseid ensüüme valmistada paljud mikroobid: hallitusseened, üksikud pärmseente liigid ja mõned bakterid (b. coli). Glükosiidide fermentatsiooni üle puuduvad alles täpsamad andmed.

Glükosiidide käärimise sarnane on indigo käärimine, mida toimetavad mitmesugused mikroobid: b. anthracis, b. prodigiosum, b. coli jne. Mikroobide ensüümide toimel lagunevad glükosiidid suhkruks ja alkoholiks.

Glükosiidide lagunemisel mikroobide toimel on suur tähtsus farmaatsias ja toksikoloogias. Mittesteriilselt valmistatud infuusumid, mis sisaldavad harilikult glükosiide (arbutiin, digitalise ja seenega glükosiidid jne.), võivad mikroobide fermentide toimel muutuda kõlbmatuks ehk koguni kahjulikuks seguks.

Pektiin-olluse fermentatsioon.

Pektiin-olluse keemiline loomus on alles tundmatu. See kujutab vististi mitmesuguste olluste segu, mille ülesandeks on siduda taimerakkusid. Mitmesugused keemilised reaktiivid (leeliste lahused) sulatavad pektiini, mille tõttu taimekude laguneb — matseratsioon ehk kostumine. Pektiini sulamist kutsub esile ensüüm pektaas, mida valmistavad mitmesugused mikroobid: bac. amylobacter, b. subtilis, b. mesentericus ja teised. Pektiini käärimist kiutaimede leotamise puhul tekitab harilikult bacillus pectinovorus.

Patoloogilise nähtusena esineb pektiin-olluse käärimine taimedel, kus selle protsessi tekitajaks on mitmekesised taimedele patogeensed mikroobid: bac. amylobacter (kartuli mädanemine), bact. phytophthorum, bac. pruni (lehtede bakterioos) jne.

Pektiin-olluse käärimisel on suur praktiline tähtsus linade ja teiste kiutaimede matsereerimisel. Peale selle on pektiin-olluse käärimisprotsess esimeseks astmeks põhjatu hulga taimede lagunemises, mis igal sügisel surevad ja maapinda katavad.

Lima fermentatsioon.

Lima ehk dekstraani käärimist nimetatakse sünteetiliseks ja ta erineb eelmistest käärimistest. Selle protsessi puhul liituvad orgaanilised ained uueks liitaineks.

Paljud mikroobid võivad süsivesikuist limaollust — dekstraani $(C_6H_{10}O_5)_n$ — valmistada, mis on osalt tselluloosi sarnane, kuid ei muutu joodi toimel siniseks. Dekstraani käärimine on looduses laialt tuntud. Suhkruvabrikuis võib streptococcus mesenterioides ühe öö jooksul muuta suure kogu suhkruvedelikku limaks. Micrococcus viscosus valmistab viinas ja õlles manniiti ja lima ning rikub nende ainete väärtust (õlle- ja viinahaigus).

Limase piima (veniv piim) tekkimise põhjustaja on bacterium lactis viscosus. Säärast piima tarvitatakse paljudes kohtades toiduks. Aiavilja, jahu ja leiva limastust tekitab laialt tuntud bacillus mesentericus. SCHARDINGER'i uurimiste järele on väga võimalik, et lima ei teki õieti mitte süsivesikuist, vaid mikroobide kesta limaks muutumise tagajärjel.

Paljude kasvavate puude (ploomipuu, kirsipuu, akaatsia, tamm jne.) koore seest imbub välja isesugune lima- ehk kummiollus, mida valmistavad mitmekesised mikroobid. Nende toimel muutub tselluloos eeskätt suhkruks (laevuloos, maltoos), pärast muutub suhkur käärimise tagajärjel lima- ehk kummiolluseks.

Hapendavad fermentatsioonid.

Hapendava fermentatsiooni all mõistetakse niisugust protsessi, kus mikroobid oma fermentidega üht või teist orgaanilist ainet hapendavad ja täiesti uueks aineks transformeerivad. Need protsessid on eksotermilised ja nende toimumisel vabaneb suurel hulgal soojuseenergiat. Hapendava fermentatsiooni alla kuuluvad: äädikahappe, sidrunihappe ja oblikahappe käärimised.

Äädikahappe käärimine ja äädika valmistamine olid tuntud kaugetel hallidel aegadel. Äädikahape tekib orgaanilise aine roiskumise, piimahappe ja õlihappe käärimisel.

Peaasjalikult tekib äädikahape viinapiirituse happestumise tagajärjel. Uuemad uurimused on tõestanud, et see protsess toimub kahes faasis: alguses happestub viinapiiritus äädika-aldehüüdiks ja siis happestub viimane äädikahappeks. Seda reaktsiooni võiks keemilise formuli abil järgmiselt ära tähendada:

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

Äädikahappe käärimist toimetavad mitmesuguste äädikahappe bakterite endofermendid. PASTEUR tundis ainult ühte äädikahappe mikroobiliiki, mycoderma aceti. HANSEN ja BEIJERINCK kirjeldavad mitut liiki: bact. Pasteurianum, b. azeti, b. xylinum, b. orleanense, b. vini acetici jne.

Morfoloogiliselt kujutavad äädikahappe mikroobid lühikesi mittelliikuvaid pulgakesi. Nende üksikud tõud valmistavad suuremal hulgal

lima. Nad kõik on tüübilised aerofiilid ja tekitavad fermentatsiooni ainult siis, kui neile ligi pääseb küllalt hapnikku. Seda peab silmas pidama äädika valmistamisel. Kasvutemperatuuri optimum on äädikahappe mikroobidel keskmiselt 34° C. Nende mikroobide kultuuride kasvatamiseks tarvitatakse agaar- või želatiinsöödet, millele juurde lisatakse õllepraaka või mett, peptooni, asparagiini ja lämmastikhappesoolasid.

Äädikahappe käärimine toimub 4—16% piirituselahuses ja jääb seisma, kui käärivas segus tekib 10—13% äädikahapet.

Tehniliselt äädikat valmistades tarvitatakse mitmesuguseid mikroobe ja saadud produkti (äädika) väärtus sõltub mikroobide omadustest.

Äädikahappe käärimise mikroobe leidub palju õhus, maapinnas, puuvilja ja marjade pinnal. Kus looduses tekib piiritus, seal happestavad nad seda kohe äädikahappeks ja saavad tihti viinavalmistajate vaenlasteks. Äädikahappe käärimist tarvitatakse keefiri, kumõssi, kalja ja peaasjalikult «teekalja» (bacterium xylinum) valmistamiseks.

Teekalja mikroobid valmistavad suurel hulgal lima, mille tõttu nad kokku kleepuvad suurteks tükkideks ja neid harilikult «seente» nime all rahva keskel tuntakse.

Oblikahappe käärimise puhul hapendavad hallitusseened: aspergillus niger, glaucus, penicillium glaucum ja teised suhkru oblikahappeks:

$$C_6H_{12}O_6 + O_9 = 3C_2H_2O_4 + 3H_2O.$$

Sidrunihappe käärimist toimetab citromyces Pfeferianus, mis suhkrut happestab:

$$C_6H_{12}O_6 + O_3 = C_6H_8O_7 + 2H_2O.$$

Happestava käärimisprotsessi puhul ammutavad mikroobid vaba energiat oma elutegevuste tarvis, kuna selle juures tekkivate hapete peale võiks vaadata kui käärimise jätiste peale.

Piimahappe fermentatsioon.

Piimahappe fermentatsioon on esimene bioloogilistest protsessidest, mille abil PASTEUR (1857) aluse pani mikroobide spetsifiteediteooriale. LISTER (1877) kasvatas esimesena piimahappe mikroobe puhtkultuuris. Piimahappe fermentatsiooni demonstreerib meile igapäevases elus harilik piima hapnemine, kus laktoos mikroobide fermentide toimel laguneb piimahappeks ja seejuures sadestub piimast kaseiin. Keemilise formuliga võiks seesugust piimasuhkru transformatsiooni järgmiselt ära tähendada:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4C_3H_6O_3.$$

Glükoosi fermentatsiooni puhul tekib kaks osa piimahapet:

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

Sellest näeme, et piimahappe fermentatsioon on lagunemise fermentatsioon, kusjuures vabaneb soojuse-energia.

Piimahape tekib paljude ainete fermentatsiooni puhul: glycosa, laevulosa, galactosa, maltosa, lactosa, saccharosa, dextrin, mannit, õunhape ja munavalged. Piimahappe fermentatsioon toimub kõige kiiremini keskmiselt 30—35°C. soojuses. Selleks on tarvilik leeline reaktsioon ja vaba hapniku juurdepääsmine.

Piimahappe fermentatsiooni võivad põhjustada väga mitmekesised mikroobid. Neid leidub suurel hulgal õhus, vees, maapinnas jne. (MIQUEL). Kõrvalise produktina tekib piimahape paljude soolte mikroobide toimel: b. coli, proteus vulgaris, bact. prodigiosum jne.

Rohkem huvi pakuvad spetsiifilised piimahappe mikroobid ehk laktobakterid, kellede elutegevuse produktide hulgas seisab piimahape esimesel kohal.

Laktobakteritest on tuntud mitmekesised tõud. BEIJERINCK jagab nad kahte liiki: pulgasarnased mikroobid ehk laktobatsillid ja ümmarikud — laktokokid. Laktobatsillidest on tuntud: b. Güntheri, b. bulgaricum, b. caucasicum, b. Mazun ja teised. Laktokokkidest võiks nimetada: streptococcus lacticus, streptococcus hollandicus, streptococcus lacticus mucosus jne.

Kõik laktobakterid on ilma eosteta 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 seisab erandina b. bulgaricum.

Laktobakterid kasvavad harilikus leelises lihapuljongis, millele juurde lisatakse glükoosi. Kõvadest söötmetest on kõlvuline nende isoleerimiseks järgmine: kooritud piim kalgendatakse maofermendiga, sool- või fosforhappega 35° C soojuses; kalgend hõõrutakse puruks klaaspulgaga ja segu soendatakse 80° C. veevannis; kurnatakse läbi linase riide ja filtraadile lisatakse juurde 1% peptooni (WITTE) ja 0,5% NaCl, soendatakse 1 tunni jooksul Kochi katlas ning kurnatakse läbi paberi; lisatakse juurde 2% agaari. Valmis sööde valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse korduvalt Kochi katlas. Enne tarvitamist sulatatakse agaar ja jahutatakse kuni 45° C.; siis külvatakse juurde uuritav aine ja valatakse laiali Petri kaussi, mille põhjal on õhuke kord steriliseeritud kriiti; agaar segatakse segi kriidiga kausi liigutamise teel. Kasvamise aegu ilmuvad laktobakterite pesade ümber läbipaistvad rõngad (piimahape sulatab kriidi ära).

Kasvades vedelas söötmes kaotavad laktobakterid piimahappe toimel oma aktiivsuse. Et nende aktiivsust alal hoida, peab söötmele juurde lisama kriiti, mis hapet neutraliseerib. Laktobakterite alalhoidmiseks ja edasisaatmiseks on kriidiga valmistatud kultuurid kõige kohasemad. Sagedasti säilitatakse laktobaktereid kuivalt, kuid siin võib juhtuda, et laktobakterid kas hoopis ära surevad või segatud on teiste mikroobidega ja sellepärast enam kõlvulised ei ole tarvitamiseks.

Piimahappe fermentatsiooni puhul tekib hulk kõrvalisi produkte, mis ei ole soovitavad; sellepärast peab piimaproduktide valmistamiseks tarvitama neid laktobaktereid, kes valmistavad rohkem piimahapet ning vähem kõrvalisi produkte.

Piima hapnemist kutsuvad esile peaasjalikult b. Güntheri (bact. lactis acidi), kusjuures tekib rohkesti piimahapet, kuid peaaegu sugugi ei teki kõrvalisi produkte. Fermentatsioon jääb seisma 0,6—0,7% piimahappe kontsentratsioonis. Peale selle tekitavad piima hapnemist b. acidi lactici, b. lactis aerogenes ja b. coli, kusjuures kõrvalise produktina tekivad lenduvad õlihapped.

Tüübilisiks piimhapendajaiks tuleb lugeda streptococcus hollandicus't ja bact. bulgaricum'i; viimast tarvitatakse bulgaaria hapu piima ehk jogurdi valmistamiseks. B. bulgaricum valmistab kuni 3,2% piimahapet ja vähe mittesoovitavaid kõrvalisi produkte. B. bulgaricum'i kasvatamiseks tarvitatakse järgmist söödet: 100 sm^3 piimas sulatatakse ära $7^1/_2$ gr agaari; sadestatakse munavalgega, valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse 10 min. 110° C. temperatuuris.

Keefiri fermentatsioon on kombineeritud alkoholi ja piimahappe fermentatsioon. Alkoholi fermentatsiooni kutsutakse esile pärmisarnaste organismidega: torula kephir ja torula ellipsoidea; piimahappe käärimiseks võetakse b. caucasicum ehk b. Güntheri. Keefiri valmistamiseks peab tarvitama puhtaid kultuure, sest vastasel korral võivad teised mikroobid valmistada hulga mittesoovitavaid kõrvalisi produkte, nii kui seda loomuliku keefiri valmistamisel sagedasti ette tuleb.

Kumõssi valmistamiseks tarvitatakse torula kumiss alkoholi fermentatsiooni esilekutsumiseks ja piimahappe mikroobe (b. bulgaricum) piimahappe fermentatsiooniks.

Hapu kalja valmistamiseks ei tarvitata harilikult piimahappe mikroobide puhtkultuure; sellepärast võib juhtuda, et saadud produkt on alaväärtusline või sisaldab koguni patogeenseid mikroobe.

Kapsaste ja kurkide hapnemist kutsuvad esile peaasjalikult mikroobid b. coli liigist. Peale selle leiavad piimahappe fermentatsioonid tarvitust juustu, või jne. valmistamisel.

Piimaproduktide valmistamiseks peab tarvitama keetmise või kauakestva soendamise teel steriliseeritud piima, sest vastasel korral võivad piimas viibivad patogeensed mikroobid tarvitajale kahjulikuks saada (b. tuberculosis). Samuti peab piimaproduktide valmistamiseks tarvitama mikroobide puhtkultuure, et ära hoida mürgiliste produktide tekkimist, mis võivad põhjustada rasket või koguni surmavat intoksikatsiooni.

Õlihappe fermentatsioon.

Kui piim seisab lahtises riistas, siis tekib lühema või pikema aja järel piimahappe fermentatsioon. Võib tähele panna, et paari päeva järel tekib säärases piimas uus fermentatsioon, mille tagajärjel eralduvad gaas ja paha lõhnaga substantsid. Seesuguseil kordadel on tegemist harilikult õlihappe fermentatsiooniga.

Õlihappe fermentatsiooni all mõistetakse niisugust süsivesikute, alkoholide, piimahappe ja selle soolade lagunemist, mille puhul tekivad õlihape, sõehappe-gaas ja vesinik. Peale nende võivad tekkida õlihappe käärimisel kõrvalised produktid: metaan, äädika, propioon ning teised happed ja butüül-alkohol. Keemiliste formulite abil võiks seda protsessi järgmiselt kujutada:

$$C_{12}H_{22}O_{11} \text{ (saccharosa)} + H_2O = 2C_4H_8O_2 + 4CO_2 + 4H_2$$
$$C_6H_{12}O_6 \text{ (glycosa)} = C_4H_8O_2 + 2CO_2 + 2H_2$$
$$2C_3H_6O_3 \text{ (piimahape)} = C_4H_8O_2 + 2CO_2 + 2H_2.$$

Õlihappe fermentatsiooni võivad anda väga mitmekesised ained: tärklised, dekstriin, tselluloos, sahharoos, glükoos, laktoos ja ka lämmastikku sisaldavad ained.

Õlihappe fermentatsioon toimub kõige kiiremalt 35°C. soojuses. Selle fermentatsiooni esilekutsumiseks võib võtta 10% glükoosilahust, millele sisse visatakse tükike mäda juustu. Lahuse põhja mahutatakse kriiti. Samuti võib võtta 1—3% suhkrulahust, millele juurde lisatakse 0,1—0,2% peptooni ja sellele söötmele külvatakse juurde väike tükk sõnnikut.

Õlihappe fermentatsiooni mikroobe leidub palju looduses: piimas, juustus, inimese ja loomade sooltes, maapinnas, sõnnikus jne.

Õlihappe fermentatsiooni mikroobid on mitut tõugu, kuid nende morfoloogia ja süstemaatika kohta puuduvad alles ligemad andmed. Nad on liikuvad või mitteliikuvad eostega pulgakesed. BEIJERINCK leidis nende mikroobide rakkudes olluse (granulosa), mis ligisugulane on tärklisega; ta muutub joodi toimel siniseks. Nendest mikroobidest on tuntud: bacillus butyricus — HÜPPE, tarvitab fermentatsiooniks vaba hapnikku; amüülobakter — VAN-TIEGHEM — tekitab fermentatsiooni ilma vaba hapniku juurdepääsuta; bacillus botulinus — tüübiline roiskumise ja õlihappe fermentatsiooni mikroob; valmistab toksiini, mis esile kutsub spetsiifilist intoksikatsiooni (botulismus); bac. perfringens — roiskumise ja õlihappe fermentatsiooni mikroob, tekitab gaasi gangreeni.

Pea igaüks õlihappe fermentatsiooni mikroobitõug tekitab peale õlihappe hulga kõrvalisi produkte, mis on iseloomulikud igale tõule.

Rasvolluste lagunemine mikroobide toimel.

Rasvad seebistuvad kiiresti leeliste toimel soendamise tagajärjel. Peale selle lagunevad rasvad spetsiifilise fermendi — lipaasi — toimel, mida valmistavad loomade organismid, taimed ja mõned mikroobid. Rasvad lagunevad mikroobide ensüümide toimel raskemini kui teised orgaanilised ained. Lipaasi toimel lagunevad rasvad glütseriiniks ja õlihapeteks. Lipaasi valmistavad järgmised mikroobid: b. fluorescens liquefaciens, b. prodigiosum, b. pyocyaneum, b. typhi, vibrio choler. asiaticae ja paljud hallitusseened.

Rasvade lagunemist põhjustavate bakterite (lipobakterid) isoleerimiseks mullast valmistatakse lihaekstrakti lahus, millele juurde lisatakse 1—2% rasva ja kriiti, ning külvatakse sisse väike hulk mulda.

Lipaasi produtseerivate mikroobide tähtsus on suur looduses. Maapinnas lagunevad rasvollused nende mikroobide toimel glütseriiniks ja õlihappeiks, mis omakorda lagunevad teissuguste mikroobide fermentide toimel. Sel teel sünnib maapinna puhastamine rasvajäätistest.

Nende mikroobide tegevust tarvitatakse tehniliseks otstarbeks juustu valmistamiseks.

Fermentatsioonide tagajärjel tekkivate produktide saatus.

Alkoholide lagunemine. Ülalpool kuulsime, et fermentatsiooniprotsesside tagajärjel tekivad mitmesugused alkoholid. Nende lagunemist toimetavad mikroobid oma fermentidega. Üheaatomilised

alkoholid on mikroobidele harilikult mürgised, kuid nõrgad lahused võivad olla neile heaks toitaineks.

Metüülalkoholi fermentatsiooni toimetab bact. methylicum. Etüülalkoholi fermentatsiooni kutsuvad esile äädikahappe mikroobid, hallitusseened, mycoderma vini jne. Äädikahappe mikroobid transformeerivad propüülalkoholi propioonhappeks ja butüülalkoholi õlihappeks. Bact. aethaceticum kutsub esile glütseriini fermentatsiooni, mille tagajärjel tekib etüülalkohol; bact. arthobuthylicum'i toimel muutub glütseriin õlihappeks.

Orgaaniliste hapete lagunemist põhjustavad mitmekesised mikroobid, pärmid, aktinomütseedid ja hallitusseened. Sipelgahape ja selle soolad lagunevad bact. methylicum'i ja bact. formicicum'i mõjul järgmiselt:

$$Ca(CO_2H)_2 + H_2O = CaCO_3 + CO_2 + 2H_2.$$

Mõned mikroobid kutsuvad esile sipelgahappe-soolades metaani fermentatsiooni:

$$2Ca(CO_2H)_2 = 2CaCO_3 + CO_2 + CH_4.$$

Äädikahape ja teised happed lagunevad äädikahappe mikroobide, hallitusseente jne. toimel. Õunahappe- ja viinahappe-soolad on paljudele mikroobidele toiduks väga tarvilikud.

Metaani ja vesiniku happestumine. Metaan ja vesinik tekivad mitmekesiste fermentatsioonide tagajärjel. Nende happestamist tekitavad paljud mikroobid, mille juures vabaneb soojuseenergia:

$$CH_4 \text{ (metaan)} + 2O_2 = CO_2 + 2H_2O + 220 \text{ calor.}$$
$$2H_2 + O_2 = 2H_2O + 138 \text{ calor.}$$

Nende ainete happestumise lõpp-produktid (CO_2 ja H_2O) võtavad uuesti osa olluste ringimisest looduses.

Metaani happestavad: bact. methanicum, bact. fluorescens liquefaciens, b. pyocyaneus ja teised. Vesinikku happestavad: bact. oligocarbophilum ja b. pantotrophum.

Nii kui teada, tekib põlemise aegu mürgist CO ja suurel hulgal söetolmu suitsu näol. Neid produkte võivad happestada süsihappegaasiks (CO_2) mitmekesised mikroobid, millega saavutatakse õhu ja maapinna puhastamist.

Mikroobide toime väävel-, fosfor- ja raud-olluste peale.

Väävli-ühendeid on palju looduses ja nad tekivad suurel hulgal väävlit sisaldavate orgaaniliste ainete lagunemisel. Mikroobid toimivad väävli-ühendite peale kahtepidi: 1) Desulfatio on protsess, kus mikroobid taandavad väävlit ja mitmesuguseid väävli- ja väävlishappe-soolasid (sulfiite, sulfaate ja tiosulfaate) väävlisvesinikuks (H_2S). Säärast väävlisvesiniku käärimist tuleb ette ookeanides, meredes, järvedes ja limaanide põhjas, kus orgaanilised ained roiskuvad. H_2S tekib osalt elementaarsest väävlist H toimel tekkimishetkel. H_2S valmistavad paljud mikroobid: proteus vulgaris, bact. desulfuricus, aktinomütseedid, b. mycoides ja teised. 2) Sulfuratio on protsess, kus mikroobid H_2S hapendavad kuni väävelhappeni. Seda protsessi

toimetavad paljud väävlibakterid (beggiatoa, thioploca, thiothrix, thiospirillum ja teised). Nende toimel happestub H_2S esmalt väävliks:

$$2H_2S + O_2 = 2H_2O + S_2 + 122 \text{ calor.}$$

Vaba väävel happestub edasi mikroobide rakkudes väävelhappeks:

$$2S + 3O_2 + 2H_2O = 2H_2SO_4 + 282 \text{ calor.}$$

ja H_2SO_4 soolad lähevad toiduks kõrgemaile olevusile. Me näeme, et H_2S, mis tekib suurel hulgal ainete lagunemise puhul, ei lähe looduses kaduma, vaid võtab osa üldisest olluste ringimisest.

Fosfor (P), mida me leiame liitorgaanilisis ühendeis, võtab järgmiselt osa olluste ringimisest: orgaaniline fosfor mineraliseerub maapinnas mikroobide toimel ja muutub lõpuks fosforhappe-sooladeks, mida sarnastavad esmalt taimed ja selle järel teised olevused.

Raud on munavalge ja munavalge-sarnaste ainete oluline mineraal-osa. Raua ringimist looduses toimetavad mitmesugused rauabakterid (leptothrix ochracea jne.), mis teda happestavad ja taandavad.

Mikroobide elutegevusega lühidalt tutvudes näeme, et mikroobid on mitmekesiste reaktiivide kandjad, mis põhjustavad ainete transformatsiooniprotsesse ja milledest me ainult ühte osa tunneme. Kõik elavad organismid surevad, ja selleks avitavad kaasa paljud patogeensed mikroobid. Surnud ained transformeeruvad mikroobide toimel teatud järjekorras, kuni lõpuks lihtsad anorgaanilised ained järele jäävad (mineralisatio). Lagunemise teel tekkinud lihtsaid aineid tarvitavad teised mikroobid ning taimed uue elusa materia sünteesiks. Kõige selle suure bioloogilise protsessi kohta on maksev seadus: materia ei kao, vaid muudab kohta.

Mikroobide reduktsiooniprotsess.

Ülalpool kuulsime, et paljudele mikroobidele on iseloomulik reduktsiooni funktsioon. Tihti võib tähele panna, et ühes reduktsiooniprotsessiga tuleb ilmsiks ka happestamisprotsess. GOZONY ja KRAMAR arvavad, et mikroobid vee molekuli küljest ära võtavad hapniku (O), mida nad oksüdatsiooniks tarvitavad, kuna vabanenud vesinik (H_2) tekkimishetkel esile kutsub reduktsiooniprotsessi. Sellega oleks reduktsiooniprotsess elusate mikroobirakkude funktsioon. Teisest küljest võib tähele panna, et reduktsiooni toimetavad mitte ainult elusad mikroobid, vaid ka nende rakkude produktid. Seesugusel korral on tegemist spetsiifilise ensüümiga (reductasa), mille loomu kohta puuduvad alles täielikumad andmed.

Reduktsiooniprotsesside uurimiseks tarvitatakse peaasjalikult metüleensinise gruppi kuuluvaid värvolluseid (metüleensinine, tioniin, metüleenasuur). Nii kui teada, muudab H_2 tekkimishetkel metüleensinise värvita leukoühendiks (leukoprodukt). Leukoprodukt on vähe püsiv ja muutub kiiresti siniseks, kui ta kokku puutub vaba hapnikuga. Reduktsiooniprotsesside uurimiseks võib tarvitada peale metüleensinise teisi aniliinvärvisid: neutraalpunast, gentsiaanivioletti, fuksiini, telluuri jne., kuid kõige kohasem on selleks metüleensinine, kus taandamisprotsess silmapilkselt ilmsiks tuleb. Reduktsiooniprotsessi

uurimist toimetatakse järgmiselt: agaarsöötmel kasvavast mikroobidekultuurist valmistatakse 0,85% NaCl lahusega ühtlane suspensioon; sellest võetakse 5 prooviklaasikesse 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 ja 0,5 sm^3 ning lisatakse igaühele juurde 0,85 NaCl lahust kuni 1,0 sm^3; igale klaasile lisatakse juurde 2 tilka 0,4‰ värsket metüleensinise lahust, segatakse segi kergete liigutustega ja valatakse steriliseeritud parafiinõli igale segule 3 sõrme kõrguselt peale. Reduktsioon algab klaaside põhjast, kus segu valgeks muutub, ja tõuseb kord-korralt ülespoole. Katseks on kõige kohasemad 24 tunni vanused agaar- ja 5 päeva vanused puljongkultuurid.

Lihtsaks katseks lisatakse puljongsöötmele juurde metüleensinist, külvatakse mikroobid sisse ja lastakse kasvada, kusjuures reduktsiooniprotsess lühema või pikema aja jooksul ilmsiks tuleb.

Reduktsioon oleneb mikroobide arvust, mitmekesistest sooladest, temperatuurist, osalt valkaineist ja nende lagunemisproduktidest. Reduktsioon on kõige kiirem leelise reaktsiooni korral, suhkurollus, mis reduktsiooni kiirendab, on kasulik mikroobi kasvuks.

Reduktsiooni toimetavad paljud bakterid: b. coli, b. anthracis, vibrio cholerae asiaticae, staphylococcus, b. dysenteriae Shiga ja paljud teised. Oksühemoglobiini redutseerivad pea kõik bakterid.

Gaaside tekkimine mikroobide toimel.

Paljude mikroobide elutegevuse tagajärjel tekivad mitmekesised gaasid. Suhkruvabas söötmes tekivad harilikult N ja N_2O; leidub söötmes suhkur-ollust või alkohole, siis produtseerivad mikroobid süsihappe-gaasi (CO_2). Peale nende leiame üksikute mikroobide kasvu puhul metaani (CH_4) ja vesinikku (H). Mikrobioloogias tarvitatakse CO_2 gaasi katsu ehk proovi sagedasti mikroobide differentseerimiseks. Selleks lisatakse söötmele juurde üht või teist suhkur-ollust, millest tekib fermentatsiooni tagajärjel CO_2. Lihaekstraktist valmistatud söötmed (puljong, želatiin ja agaar) sisaldavad alati musklisuhkrut (glükogeen) ja viinamarja-suhkrut, mis mikroobide toimel kergesti CO_2 annavad. Et mikroobide toimet eksaktselt uurida ühe või teise raskemalt fermenteeruva suhkur-olluse suhtes, siis peab alguses suhkrust vaba söötme valmistama, millele pärast soovitav suhkur juurde lisatakse. Selleks valmistatakse sööde mitmekesiste soolade lahusest või lastakse lihapuljongi käärida b. coli toimel 16 tunni jooksul 37° C. soojuses. Peale selle steriliseeritakse, neutraliseeritakse ja alkaliseeritakse sööde, ja kui katse b. coli'ga näitab, et ta vaba on suhkrust, siis tarvitatakse seda gaasi prooviks.

Gaasi tekkimise uurimiseks lisatakse söötmele juurde üht või teist suhkrut (glycosa, saccharosa, lactosa, laevulosa, arabinosa, mannosa etc.) kuni $^1/_2$—1% kontsentratsioonini, alkohole (glütseriin, manniit etc.) või natr. formicicum'i.

Toimetatakse gaasi uurimist kõvade söötmete abil, siis sulatatakse suhkru agaar või želatiin ära, jahutatakse (želatiin kuni 20° C., agaar kuni 45° C.) ja külvatakse uuritavad mikroobid juurde. Tekib kasvu aegu gaas, siis puruneb kõva sööde selle mullide toimel.

Soovitakse gaasi ligemalt analüseerida, siis võetakse vedelad suhkursöötmed, mahutatakse nad kas käärimiskolvikestesse, käärimistorudesse või prooviklaasi, milles viibib ümberpöördud väiksem prooviklaasike. Steriliseerimise järel peavad käärimiskolvikese, samuti ka käärimistoru kinnine ots ja prooviklaasis asetsev väike klaas õhust täielikult vabad olema. Söötmele külvatakse juurde uuritavad mikroobid ja kasvatatakse 37° C. soojuses. Kasvu ajal vabanev gaas koguneb käärimisaparaadi kinnisesse otsa, kust teda analüüsiks võetakse.

Hapete, leeliste ja aldehüüdide tekkimine mikroobide toimel.

Happed tekivad mikroobide toimel väga mitmekesiseist aineist. Mikroobide differentseerimiseks tehakse happe katsu peaasjalikult suhkur-ollustega ja alkoholidega. Ülalkirjeldatud meetodi järele valmistatakse suhkruvaba sööde, millele siis juurde lisatakse 0,5—2% soovitavat suhkrut. Tahetakse happe tekkimist ainult nähtavaks teha, siis lisatakse suhkursöötmele juurde 1 : 10 lakmustinktuuri, mis happe toimel söötmele punaka värvi annab. On tarvilik hapet kvantitatiivselt uurida, siis kasvatatakse mikroobid vedelas suhkursöötmes, mida kasvu lõpul $^1/_{10}$ või $^1/_{100}$ N. leelise lahusega titreeritakse. Indikaatoriks võetakse 1% sol. phenolphthaleini alcohol.

Leeliste tekkimist võib sel teel nähtavaks teha, et lakmusega värvitud sööde Petri kaussi valatakse ja uuritavad mikroobid rööpjoonte viisi peale külvatakse. Peale nende külvatakse söötmele hapet produtseerivad mikroobid (b. coli) ristipidi-joontega. Kasvu järel võib näha, et ristide kohal happereaktsioon (punane) siis vähem silma paistab, kui uuritavad mikroobid produtseerivad leelist, mis hapet neutraliseerib. Täpsamad andmed saame leelise tekkimise kohta, kui uuritavaid mikroobe vedelas suhkursöötmes kasvatame ja kultuuri $^1/_{10}$ või $^1/_{100}$ N. happe lahusega titreerime.

Aldehüüdide tekkimine mikroobide toimel on alles vähe uuritud. MÜLLER leidis, et mõned mikroobid võivad produtseerida mitmekesiseid aldehüüde (atseetaldehüüdi, bensaldehüüdi ja formaldehüüdi). Tema arvas, et aldehüüdid tekivad suhkur-ollustest ja et see protsess käib käsikäes happe tekkimisega. Aldehüüdide viibimist kultuuris võib nähtavaks teha Schiffi reaktiivi abil (fuksiini ja naatrium sulfiidi lahus). Lisame seda reaktiivi juurde puljongkultuurile, kus mikroobid produtseerisid aldehüüdi, siis muutub segu punaseks. On kultuur leelise reaktsiooniga, siis peab sellele enne juurde lisama hapet, kuni selge happereaktsioonini.

Eriliselt formaldehüüdi tekkimise kindlaksmääramiseks soovitab SHAW tarvitada Schrywer'i reaktsiooni kui spetsiifilist formaldehüüdile. Selleks võetakse 10 sm^3 uuritava mikroobi kultuuri vedelas söötmes, lisatakse juurde: 2 sm^3 1% sol. phenylhydrazini hydrochlor., 1 sm^3 5% sol. kal. ferricyanidi ja 2 sm^3 acidi hydrochloric. concentr. On kultuuris formaldehüüdi, siis muutub segu punaseks. Et reaktsioon esineks selgemini, peab eelmisele segule juurde lisama mõne tilga 1% hüdrogen. peroxydati. Kui reaktsioon on liiga nõrgalt positiivne

või koguni kahtlane, siis võib seda järgmiselt silmapaistvamaks teha: ülaltähendatud uuritava aine ja reaktiivide segule lisatakse juurde $^1/_3$—$^1/_2$ osa destilleeritud vett ja 3—4 sm^3 eetrit, segatakse segi ja lastakse mõni minut seista. Segu pinnale tõusev eeter valatakse teise prooviklaasi, millele juurde lisatakse 1—2 sm^3 acid. hydrochlor. concentr., ja segi loksutatakse. Positiivse reaktsiooni korral muutub hape punakaks või punaseks, kuna happe peal viibiv eeter jääb kollakaks. Formaldehüüdi reaktsiooni annavad: b. coli, proteus vulgaris, vibrio cholerae asiaticae, b. dysenteria Shiga ja paljud teised. Shaw' arvates produtseerivad mikroobid formaldehüüdi mitte ainult suhkrust, vaid ka valkollustest (peptoonist). Aldehüüdide proovid leiavad tarvitust mikroobide differentseerimiseks.

Mikroobide vitamiinid.

Juba ammu pandi tähele, et mitmekesised mikroobid võivad produtseerida kasvu jõutavat (stimuleerivat) ainet. Eksperimentaalsed uurimised on näidanud, et säärane funktsioon on iseloomulik mitmekesistele eostega aeroobseile mikroobidele, limabakteritele (bac. mucosus capsulatus) ja happekindlaile bakteritele. DAMON kasvatas happekindlaid mikroobe vitamiinivabal söötmel (lihaekstrakti 0,3, Defco peptooni 0,5, natr. chlorat. 0,1, glütseriini 4,5, aq. destill. 100 sm^3), eraldas need kultuurist, kuivatas ära ja tarvitas katseteks. Kui valgetele rottidele antakse toitu, mis ei sisalda kasvu jõutavaid vitamiine, kuid sisaldab teisi aineid tarvilikul hulgal (kaseiini 18,0 + suhkrut 17,0 + + tärklist 52,0 + soolasid 3,0 + võid 10,0), siis näeme, et noorte rottide kasv on takistatud ja nende kaal kahaneb kiiresti. Damon lisas rottide toidule juurde 2,5—7,5% kuivatatud mikroobide pulbrit (thimotaebacillus, b. smegmatis, b. Moelleri jne.), vähendades toidus sama võrra tärklist, ja leidis, et rottide arenemine seesugusel korral kiiresti paranes ja nende kaal kasvas. Ta leidis, et nimetatud happekindlate mikroobide rakud sisaldasid B vitamiinile analoogilist kasvu jõutavat substantsi. Ei ole veel teada, millest mikroobid seda substantsi produtseerivad.

CHAPMAN juhib tähelepanu sellele, et paljud mikroobid produtseerivad rasvollust tärklisest. Samuti sünteseerivad mõned mikroobid proteiini anorgaanilistest ammooniumsooladest. Säärase bioloogilise meetodiga on juba korda läinud saada toitvat ekstrakti, mis on liha ekstrakti sarnane. Seda silmas pidades on võimalik, et mikroobid produtseerivad ka vitamiinide sarnaseid substantse.

Nende uurimiste saavutused sunnivad uuesti kontrollima soolte mikrofloori toimet organismi peale, mille kohta arvatakse (METŠNIKOV, NUTTAL, COHENDY, KÜSTER jne.), et soolte mikroobid ei ole tarvilikud organismi arenemiseks või toimivad koguni kahjulikult.

Mikroobide parasitism ja sümbioos.

Kui me räägime ühe või teise mikroobi elutegevusest ja omadustest, siis on harilikult tegemist mikroobi puhta kultuuriga. Looduses aga leiame mikroobe ainult segakultuuris, kus mikroobid koos töötades

moodustavad bioloogilist assotsiatsiooni. Ühise tegevuse korral võivad iga mikroobiliigi bioloogilised funktsioonid palju energilisemad olla kui üksikult puhtas kultuuris. DE-BARY nimetas niisugust nähtust, kus kaks olevust koos elades on teineteisele kasulikud, sümbioosiks. CARRÉ leidis, et bakterite keskel tuleb ette: 1) sünergeetilist nähtust, kus mikroobid elutegevust ja kasvu vastastikku või ühepoolselt kiirendavad, ja 2) antagonistlikku nähtust, kus mikroobid tegevust vastastikku ehk ühepoolselt takistavad. NENCKI nimetas esimest nähtust sümbioosiks, teist enantiobioosiks.

CARRÉ demonstreeris antagonisminähtust järgmiselt: Ta külvas želatiinsöötme pinnale mitmesuguseid mikroobe üksteisele ligidal seisvate viirudena. Selgus, et mõned mikroobid kasvavad teiste ligikonnas takistatult või ei kasva sugugi. Kui me külvame vedelasse söötmesse mitut tõugu mikroobe, siis leiame sagedasti, et mõni tõug kaob aja jooksul hoopis ära.

Antagonisminähtus on looduses laialt tuntud. Näiteks bact. bulgaricum valmistab kasvades suhkursöötmes või sooltes suurel hulgal piimahapet, mis takistab paljude teiste mikroobide kasvu.

Sünergeetilist nähtust 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. Praktiliselt peab antagonistlikku nähtust arvesse võtma mikroobide isoleerimisel ja nende arvu lugemisel kõvade söötmete abil. Söötmega segatud ainet peab õhukese kihina Petri kaussi laiali valama, vastasel korral võib juhtuda, et ühe mikroobipesa ligikonnas teised ei kasva.

Metabioosiks nimetatakse nähtust, kui ühed mikroobid kasvades teistele elamiseks tarvilikku ainet produtseerivad. Näiteks pärmseened valmistavad suhkrust alkoholi, mis äädikahappe mikroobidele toiduks läheb. Antibioosi puhul näeme ümberpöördult, et ühed mikroobid oma ainevahetuse-produktidega teiste kasvu takistavad. Näiteks b. anthracis kasvab halvasti ühes bact. pyocyaneus'ega.

Parasitismiks nimetatakse niisugust organismide assotsiatsiooni, kus üks olevus kasvab ja elab teise olevuse kulul, tarvitades toiduks selle keha, mille tagajärjel teine olevus nõrgeneb või koguni sureb. Seesugused söödikud on kõik haigust-tekitavad (patogeensed) mikroobid loomade ja taimede organismis.

Looma organismis võib ka bakterite antagonistilikku tegevust näha. EMMERICH leidis, et siberi katku haigeid loomi võib päästa surmast kunstlikult esilekutsutud streptococcus pyogenes'e infektsiooniga.

Praktiliselt on tähtis tunda mikroobide kooselu tingimusi, et selgusele jõuda järgmiste bioloogiliste nähtuste üle: 1) Paljud bakterid kasvavad paremini ühes teistega (anaeroobid ja aeroobid). 2) Koos kasvades avaldavad mõned mikroobid niisugust tegevust, mida igas üksikus ilmsiks ei tule. 3) Üksikult on mõned mikroobid kahjuta olevused (saprofüüdid), kuna nad koos teistega rasket infektsiooni võivad tekitada (parasiidid). 4) Sagedasti omandavad vähe patogeensed mikroobid teistega koos kasvades suure virulentsi.

ELENKIN näitas, et sümbiootiline elu, kus kaks organismi on kasvades koos teineteisele vastastikku kasulikud, kujutab vähe püsivat tasakaalu. Kooselavad organismid võivad mitmekesiselt reageerida ümbruse mõjude muutusele. Ühel juhtumusel võivad muutunud elutingimused kasulikud olla mõlemaile organismidele ja siis jääb tasakaal püsima ka uutes tingimustes. Teisel korral võivad uued elutingimused kasulikud olla ühele ja kahjulikud teisele organismile. Sel korral katkeb tasakaal ja üks organism hakkab prevaleerima, kuna teine jääb kängu või peab surema. Seda silmas pidades ütleb BERNARD, et sümbioos viibib haiguse piiril.

Sagedasti võib kasvavate mikroobide eluavaldusis tähele panna funktsionaalseid muutusi assotsiatsioonis. Me teame, et b. coli com. produtseerib gaasi, kasvades harilikus laktoospuljongis. Sama mikroob ei produtseeri gaasi niisuguses laktoospuljongis, milles kasvas varemalt 3 — 4 päeva jooksul b. paratyphosus. SMITH arvab, et b. coli funktsiooni muutust põhjustavad b. paratyphosus'e metabolismiproduktid. SHERMAN ja SHAW leidsid, et b. acidi-propionici produtseerib laktoosisisaldavas kunstlikus söötmes 6 — 7 korda rohkem propioonhapet, kui kultuurile juurde külvata streptococcus lacticus'e ehk lactobacillus casei tüved. Säärast nähtust kasutatakse praktilisel juustuvalmistamisel. FONASSIER pani tähele, et piimas leiduvate piimahapet valmistavate mikroobide tegevus kasvab märksa b. subtilis'e ja tyrothrix'i toimel.

Mikroobide toksiinid.

Mikroobid valmistavad, kasvades kunstlikus söötmes või elusas organismis, mitmekesiseid mürke — toksiine. Neid võiks kahte liiki jagada:

1. Keemiliselt enam-vähem tuntud mürgid, mis tekivad mikroobide ainevahetuse-protsesside tagajärjel. Nad ei ole iseloomulikud üksikule mikroobitõule, vaid neid produkte võivad valmistada mitmekesised mikroobid.

2. Spetsiifilised toksiinid, mis on iseloomulikud üksikule mikroobitõule ja millede keemiline koosseis on täielikult tundmatu.

Esimesse liiki kuuluvad mitmesugused orgaaniliste ainete lagunemisproduktid, milledest kuulsime juba ülalpool. Neist on kõige tähtsamad roiskumisptomaiinid, milledega varemalt katsuti ära seletada patogeensete mikroobide tegevust. Praegusel ajal võib aga ütelda, et ptomaiinid etendavad õige väikest osa haiguste patogeneesis. Ptomaiinid ei teki elusas organismis ja toiduainetega mürgistused olenevad ainult üksikuil juhtumusil ptomaiinidest. Esimesse liiki kuuluvad mürgid on enam-vähem sarnased keemiliste mürkidega, nad ei ole antigeense iseloomuga ega kutsu esile antikehade tekkimist organismis.

Palju suurema tähtsusega on teise gruppi kuuluvad mikroobide toksiinid. Need tekivad elusa mikroobi rakus ja nendest oleneb ühe või teise mikroobi patogeenne omadus. Neid nimetatakse mikrobioloogias harilikult «toksiinideks».

Mikroobide toksiinidel on spetsiifiline toime organismi kudede peale, nendega mürgistusest olenevad iseloomulised haiguse ilmed.

Mikroobide toksiinid lähevad EHRLICH'i arvates lahku keemilistest mürkidest järgmiste iseärasustega: 1) mikroobide toksiinid tekitavad organismis antitoksiine; 2) nende toime organismi peale avaldub pärast teatud lõimetusjärku — inkubatsiooni; 3) neil on silmapaistev tundlikkus soojuse (60—70°C.) ja keemiliste ainete (happed, leelised, hapnik) vastu.

Mikroobide toksiine ei ole veel korda läinud puhtas olekus isoleerida. Neid võiks jagada kolme gruppi:

1. Ektotoksiinid: CHRISTMAS, ROUX ja YERSIN olid esimesed, kes leidsid, et mõnede mikroobide puljongikultuuri filtraat avaldab mürgilist toimet organismi peale. FRÄNKEL ja BRIEGER nimetasid neid mürgilisi olluseid toksalbumiinideks ehk «mürgilisteks valkudeks». Ektotoksiinide omadused lubavad oletada, et nad on sugulased fermentidega.

Ektotoksiinide saamiseks külvatakse suuremale hulgale vastavale vedelale söötmele ($^1/_2$—1 liiter) mikroobid juurde, lastakse kasvada kauema aja jooksul (5—14 päeva) ja kurnatakse läbi mikroobide kurna. Filtraati aurutatakse vaakuum-aparaadis (45°C.) toksiini kontsentratsiooni suurendamiseks. Siis sadestatakse toksiin alkoholiga või ammooniumsulfaadiga. Ammooniumsulfaat eraldatakse toksiinist dialüüsi abil. BRIEGER ja COHN said sel teel teetanuse ja difteria toksiini ligikaudu puhtalt kätte, ja nad tõendavad, et ektotoksiinid ei ole valkained sõna laiemas mõttes. Ektotoksiinid on nähtavasti kolloidid, millede keemiline iseloom on tundmatu. Nad lahustuvad vees ja glütseriinis, ei diffundeeru suuremalt osalt läbi orgaanilise membraani. Veelahuses ei koaguleeru nad kuumuse toimel, kuid kaotavad 50—60° C. soojuses oma mürgilise toimivuse. Lisame toksiini veelahusele juurde väikesel hulgal hapet, leelist, joodilahust, kloori, formaliini, antipüriini, kolesteriini või neuriini, siis kaotavad nad kiiresti oma mürgilise toimivuse. Hapnik ja valgus avaldavad nende peale sama toimet. Täielikult kuiv toksiin kannatab pikema aja jooksul ära 100°C. soojust, valguse ja õhu toimet. Sarnaseid omadusi leiame ensüümidel. Seedimiskanali kaudu sissevõetult ei avalda suurem osa ektotoksiine mürgilist toimet organismi peale. NENCKI leidis, et maonõre, trüpsiin ja sapp muudavad ektotoksiine kahjutuks. Ektotoksiinid toimivad väikeses annuses ehk doosis. Nende toimivus on kõige suurem, kui nad otseteel verde pääsevad; sama kiiresti toimivad nad keha koobaste kaudu, vähem on nende toimivus, kui neid naha alla pritsitakse.

Ektotoksiinidest on praegusel ajal ligemalt tuntud: bac. tetani, bac. botulinus, bac. diphtheriae, bac. gangraenae emphysematosae ja bac. dysenteriae toksiinid. Nende ektotoksiinide sekretsioon oleneb mitmekesistest faktoritest: 1) mikroobi iseloomust; ühed virulentsed tõud on toksilised, teised ei ole toksilised; 2) söötme koosseisust ja selle reaktsioonist; näiteks, b. tetani tarvitab toksiini valmistamiseks kloraate, b. diphtheriae fosfaate; 3) kasvu temperatuurist ja kasvu kestusest.

Ektotoksiinide resistents soojusele on väga mitmekesine. Selles suhtes jagatakse toksiinid kahte gruppi: 1) termolabiilsed ja 2) termostabiilsed toksiinid. Esimesed kaotavad oma toimivuse alla 100°C.

soojuses (difteria ja teetanuse toksiin), teised kannatavad 100° C. soojust (koolera ja b. pyocyaneus'e toksiin).

Ektotoksiinid on spetsiifilised, mis oleneb nähtavasti iga toksiini elektiivsest affiniteedist ühele või teisele koele. Nii on tuntud, et teetanuse toksiin fikseerub peaasjalikult ergurakkude külge. Sellega on seletatav ektotoksiinide minimaalsete dooside surmav toime. Nad fikseeruvad rakkude külge, millede normaalne füsioloogiline funktsioon on organismi eluks väga tarvilik.

Mikroobide toksiinide sarnaseid mürke leiame palju taimeriigis: ritsiin, krotiin, abriin, robiin ja loomadel: ussid (ophiotoksiin), skorpionid ja teised. Silmas pidades nende mürkide omadusi ei ole võimalik neid lugeda albuminoididekś või glükosiididekś, vaid neid peab mahutama ektotoksiinide liiki. Nad võivad esile kutsuda, samuti kui ektotoksiinid, spetsiifiliste antitoksiinide tekkimist.

2. Endotoksiinid on seotud elusate mikroobirakkudega ja vabanevad ainult siis, kui mikroobid surevad või kui me kunstlikult esile kutsume mikroobide rakkude destruktsiooni. Mõne mikroobi värskes kultuuris ei leidu toksiine, kuna vanade kultuuride filtraat, loomadele sissepritsitult, väga mürgilist toimet avaldab (b. dysenteriae Shiga). Toksiinid vabanevad nähtavasti mikroobide autolüüsi tagajärjel. Endotoksiinid on oma iseloomu poolest väga sarnased ektotoksiinidega. Raske on tõmmata piirjoont ekto- ja endotoksiinide vahel.

Endotoksiini produtseerivad paljud patogeensed mikroobid: vibrio cholerae asiat., b. typhi, b. coli, streptococcus pyogenes, b. dysenteriae Shiga jne. Endotoksiini eraldamiseks pestakse uuritavaid mikroobe 0,85% NaCl-lahusega ja sadestatakse tsentrifugeerimise teel. Saadud sademega toimetatakse järgmiselt: 1) lisatakse juurde kloroformi, mikroobid sulavad ära ja vabaneb toksiin; 2) mikroobid hõõrutakse puruks ja pressitakse mürgiline vedelik välja; 3) mikroobe autolüseeritakse 37° C. soojuses mõne päeva jooksul; 4) mikroobe purustatakse keemiliste ainetega (leelistega, glütseriiniga, eetriga jne.); 5) mikroobe lastakse külmuda vedelas õhus ja sulatatakse, korrates seda mitu puhku; 6) mikroobide peale lastakse toimida fermenti (trüpsiini), mis neid purustab ja endotoksiine vabastab.

3. Bakterite proteiinid (BUCHNER). Kui keedame mõne tunni jooksul ½% kal. causticum'i lahuses mikroobe, siis saame segu, millest võib hapetega sadestada proteiine. Sel teel saadud sade pestakse korduvalt 0,85% NaCl-lahusega ja sulatatakse nõrgas soodalahuses. Säärast valk-ollust nimetas BUCHNER bakterite proteiinideks. Bakterite proteiinid püsivad keetmisel ja avaldavad toksilist toimet. Loomale sissepritsitult põhjustavad nad palavikku, põletikku ja mädandikku.

Bakterite proteiinide alla kuuluvad vanatuberkuliin (KOCH) ja malleiin, mis tuberkuloosi- ja malleusehaigetel esile kutsuvad lokaalse ja üldise reaktsiooni.

Endotoksiinidel ja bakterite proteiinidel on osalt sarnane toime. Väikesed annused naha alla pritsitult tekitavad kohalist põletikku, valgete vereliblede koondumist pritsimiskohale, mädastumist, hüperleukotsütoosi veres, palavikku ja põrnapaistetust. Suured annused tekitavad verist ödeemi ehk turset, üldist nõrkust ja ka surma.

Mikroobide toksiinide avastamine selgitas nakkusehaiguste sümptomite patogeneesi. Paljudes mikroobides (b. anthracis) ei ole veel korda läinud toksiini leida ja seepärast on teadmata, kuidas need mikroobid oma patogeenset tegevust avaldavad.

Nii kui ülalpool kuulsime, on mikroobide toksiinidel affiinsus teatavaile kudedele jaorganitele. B. tetani ja b. botulinus'e toksiinid on ergukava mürgid (neurotoksiin), b. diphtheriae ja b. dysenteriae toksiinid avaldavad mürgilist toimet üksikute kudede ja organite peale. Mõned mikroobid valmistavad toksiini, mis punaseid vereliblesid sulatab (hemotoksiin), teised valmistavad toksiini, mis vigastab valgeid vereliblesid (leukotoksiin).

Hemotoksiin ehk hemolüsiin on, nii kui juba ülalpool kuulsime, mikroobide produkt, mis sulatab punaseid vereliblesid. Tema keemiline loomus ei ole teada. Ta ei ole spetsiifiline, sulatab kõikide loomade vereliblesid ja kaotab 56—60° C. soojuses oma toimivuse. Hemolüsiinil on antigeensed omadused, ta tekitab organismis antihemolüsiini, mis takistab hemolüsiini tegevust.

Hemolüsiinidest on juba tuntud: tetanolysin (EHRLICH ja MADSEN), staphylolysin, pyocyanalysin, colilysin, typholysin, streptocolysin (BESREDKA) ja vibriolysin (KRAUS).

KRAUS, NEISSER ja OPPENHEIMER leidsid, et hemotoksiin võib asuda väljaspool mikroobi rakku, mis seda ektotoksiiniga osalt sarnastab. Teisest küljest on mikroobide endo- ja ektotoksiinid, samuti ka hemotoksiin osalt sarnased ensüümidega, nii et võimatu on kindlat piirjoont tõmmata nende produktide vahel.

Leukotoksiini leidis VAN DER VELDE staphylococcus pyog. aureus'e kultuurist. Selle toksiini toimet näitasid NEISSER ja WECHSBERG bioskoobilise meetodi abil, mis põhjeneb sellel, et elusad leukotsüüdid muudavad metüleensinise valgeks, kuna surnud leukotsüüdid seesugust tegevust ei avalda.

Van der Velde pritsis jänesele pleurakoopasse staphylococcus aureus'e kultuuri. Selle järel tekkis ekssudaat, milles leidus palju degenereerunud leukotsüüte. Segades sääraseid leukotsüüte normaalsete leukotsüütidega võis ta näha, et viimaste protoplasma ja tuum ära sulasid. 58° C. soojus purustab leukotoksiini 10—15 minuti jooksul.

Uuemad uurimused näitavad, et mikroobide ektotoksiinid, võib-olla ka endotoksiinid, võivad kaotada oma toksilise funktsiooni, kuna nende antigeensed omadused alale jäävad RAMON pani tähele, et difteria toksiini toksilisus kiiresti kahaneb, kui sellele väikesel hulgal formaliini juurde lisada. Kasutades seesugust nähtust võttis Ramon difteria toksiini, lisas sellele juurde 3—4: 1000 müügil olevat formaliini (35—40%) ja laskis seista 40—42° C. soojuses. Uurides säärase toksiini toimet loomade peale leidis Ramon, et ta ei avalda toksilist toimet, kuid võib immuniseerida looma ja esile kutsuda spetsiifilise antitoksiini tekkimist Seesugusele mittetoksilisele toksiinile andis autor nimetuse: anatoksiin. Anatoksiiniga on võimalik looma immuniseerida suurte annuste sissepritsimise teel, mis immuniseerimistööd märksa kiirendab.

Aggressiinid ja antifagiinid.

Aggressiinide all mõistis KRUSE niisuguseid mikroobide produkte, mis organismi enesekaitset nõrgendavad infektsioonide vastu. BAIL tõendab, et paljud mikroobid avaldavad patogeenset toimet sellepärast, et nad ollust valmistavad, mis leukotsüütide peale negatiivset kemotaktilist toimet avaldab ja leukotsüütide tegevust takistab. Aggressiinid ei ole organismile iseenesest mürgilised, kuid suurendavad mikroobide virulentsi. Säärast ollust võib leida siberi katku haige ödeemivedelikust. Pritsime loomale sisse mikroobidest vabastatud ödeemivedelikku, siis ei avalda see looma organismi peale nähtavat mürgilist toimet, kuid nõrgestab fagotsüütide toimivust (fagotsütoosi). Seesugustele loomadele on b. anthracis'e surmav annus palju väiksem kui normaalsetele loomadele.

Aggressiine saame, kui katseloomale kõhukoopasse mikroobe pritsime ja kohe pärast surma sealt ekssudaati võtame, selle mikroobidest vabastame ja kloroformiga, toluooliga või $^1/_4$% karboolhappega steriliseerime. Aggressiine on leitud paljudelt mikroobidelt (b. typhi, b. anthracis, vibrio cholerae, b. coli jne.). Mõned autorid (WASSERMANN, CITRON, DOERR j. t.) arvavad, et aggressiinid ei ole muud kui ekssudaadis ärasulanud mikroobide produktid. Aggressiine eraldasid autorid sel teel, et nad mikroobe destilleeritud vees kauema aja jooksul loksutasid (kunstlikud aggressiinid).

ROSENOW, TŠISTOWITŠ ja JUREWITŠ leidsid, 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 tsentrifugeerimise teel sadestame. Lahuse pealmine vedelik sisaldab antifagiine. Antifagiinid on juba leitud: pneumokokkides, b. pyocyaneus'es, staphylococcus pyog., vibrio cholerae asiat. ja mõnes teises.

Infektsioon.

Infektsiooniliste ehk nakkusehaiguste esilekutsumine on mikroobide üks tähtsamaist omadusist. Need haigused tabavad niihästi inimesi ja loomi kui ka taim-olevusi.

Meie esivanemad tundsid küll katkusid, kuid nad ei tunnud nende põhjusi. Nad arvasid, et Jumal nuhtleb katkuga patuseid inimesi, sellepärast korraldasid nad katku ajal üldpalvetusi.

HIPPOKRATES ja tema õpilased seletasid, et õhk, mida inimene sisse hingab, sisaldab haiguse sekreeti. Sealt sai aluse miasmaõpetus, mis kuni uuema ajani on poolehoidu leidnud.

Hiljemini pandi tähele, et haiguse sekreet (miasma) ei tekita iga kord katku; selleks on tarvilik organismi vastuvõtlikkus ehk konstitutsioon. Nii arenes 17. aastasajast alates uus mõiste: constitutio epidemica.

Aja jooksul leidis pinda arvamine, et katku tekitaja on miski eluvõimeline (contagium animatum), mis haige küljest terve külge võib

minna. Sellega sai aluse uus teooria, mis seletas katku laialilagunemist külgehakkamisega ehk nakkumisega (contagio).

Reaalse aluse sai infektsiooniõpetus XIX aastasaja 40.—50. aastail, kui HENLE kategooriliselt oletas nakkusehaiguste põhjusena elusat algust (contagium vivum).

PASTEUR'ist ja Robert KOCH'ist alates arenes kiiresti mikrobioloogiline tehnika ja XIX aastasaja teisel poolel avastati paljude haiguste tekitajad mikroobid, ja sest ajast peale hakkas arenema «patoloogia animata». Patoloogias võttis maad kindel arvamine, mis tänapäevani on maksev: infektsiooniliste haiguste tekitajad on mikroorganismid ja kui me veel kõiki nende haiguste tekitajaid ei tunne, siis tuleb seda osalt seletada puuduliku mikrobioloogilise tehnikaga.

Infektsiooniks nimetatakse nähtust, kus eluvõimeline tegur (mikroob) tungib välisilmast organismi ja tekitab seal haiguseprotsesse. Infektsiooniks on tarvis: 1) et organismi tunginud mikroobid jääksid seal eluvõimeliseks ja suudaksid sigida ja 2) et mikroobid produtseeriksid olluseid, mis organismi peale kahjulikult toimivad. Infektsioonist peab eraldama niisugused juhtumused, kus mikroobid väljaspool organismi ühes või teises aines kasvavad ja mürgilisi aineid (toksiine) valmistavad, mis organismi pääsedes mürgistust (intoksikatsiooni) tekitavad, ilma et mikroobid otseteel tegevad oleksid. Säärastel kordadel on võimalik hulgaline haigeksjäämine (botulismus), mis infektsiooni meelde tuletab.

Infektsiooni suhtes jagatakse harilikult kõik mikroobid kahte gruppi: 1) patogeensed mikroobid (parasiidid ehk nugilised), kes elusas organismis sigivad ja haigussümptomeid põhjustavad; 2) saprofüüdid ehk mädarikud (roiskumismikroobid), kes organismis võivad viibida, aga haigust ei tekita. Viimastest on tuntud suur hulk mitmekesiseid mikroobe naha ja limanahkade pinnal, sooltes jne. Harilikes tingimusis ei tekita saprofüüdid infektsiooni. Nõrgeneb aga organismi enesekaitse ühe või teise teguri toimel (nälgimine, külmetus, trauma jne.), siis võivad paljud saprofüüdid alata patogeenset tegevust. Tuntud on ka ümberpöördud nähtused, kus patogeensed mikroobid võivad viibida organismis kauema aja jooksul, ilma et nad haigust põhjustaksid. Mitmekesiste faktorite toimel võivad nad patogeenset tegevust alata ja esile kutsuda organismi infektsiooni (autoinfectio).

Praegusel ajal ei ole võimalik kindlat piirjoont tõmmata patogeensete mikroobide ja saprofüütide vahel; peab arvesse võtma mitmekesiseid tingimusi, milledest oleneb mikroobide tegevuse iseloom. Mikroobide patogeensus oleneb loomaliigist: mikroobid, kes on patogeensed ühele liigile, võivad täiesti kahjutud olla teisele. Katkubatsillid näiteks kutsuvad esile surmavat infektsiooni inimestel, kuna nad lindudele kahjutud on. Samuti surmavad malleuse-batsillid kiiresti põldhiiri, kuna nad majahiirtes infektsiooni esile ei kutsu. Viimane näide lubab oletada, et ka üksteisele ligidalt sugulased loomaliigid mikroobide tegevusele väga mitmekesiselt reageerivad.

Mikroobid avaldavad oma tegevust organismis väga mitmel viisil, mis lubab neid järgmiselt gruppeerida:

1) Toksilised saprofüüdid, kes elusas organismis ei sigi, vaid toimivad oma toksiiniga, mida nad väljaspool organismi valmistavad (bac. botulinus).

2) Mikroparasiidid, kes sigivad peaasjalikult organismi pääsmise kohal ja sealt oma toksiini organismi laiali saadavad (b. tetani).

3) Mikroobid, kes kasvavad limanahkade pinnal ja sügavale kudedesse ei armasta tungida. Nad toimivad organismi peale oma toksiinidega (b. diphtheriae, vibrio cholerae asiaticae, b. dysenteriae).

4) Patogeensed mikroobid, kes sügavale kudedesse tungivad ja alguses harilikult kogu organismi ei valda (tuberculosis'e, furunculosis'e, abscessus'e jne. puhul).

5) Mikroobid, kes organismi üldist nakatamist esile kutsuvad, kuid seejuures spetsiifilist tegevust avaldavad ühes või teises koes või organis (poliomyelitis'e, encephalitis lethargica jne. puhul).

6) Üldise infektsiooni tekitajad mikroobid, kes algusest peale kogu organismi valdavad ja kõiki kudesid ning organeid enam-vähem ühetaoliselt vigastavad (katk, süüfilis, typhus abdominalis, streptococcus'e infektsioon jne.).

7) Mikroobid, kes peaasjalikult nahka infitseerivad ja nahas haiguseprotsesse esile kutsuvad (dermatomycosis).

Iga infektsioonilise haiguse tekitajaks on spetsiifiline haigusidu ehk viirus. Kliiniliste sümptomite kompleksi, mida me leiame ühe või teise infektsioonilise haiguse korral, ei põhjusta iga kord ainult spetsiifiline viirus, vaid sellest võivad osa võtta paljud teised mikroobid (segainfektsioon). Infektsiooni käik oleneb peaasjalikult kahest faktorist: 1) viiruse patogeenseist omadusist (virulentsist) ja 2) infitseeritud organismi reaktsioonist (dispositsioonist).

Iga infektsioon võib väga mitmekesist kliinilist pilti omada: ühel juhtumusel on haigussümptomid kergemad, teisel raskemad. See oleneb peale paljude teiste faktorite mikroobide virulentsist. Virulentsuseks nimetatakse mikroobide võimet sigida ja looma-organismis toksilist substantsi eraldada (ROUX). Virulentsus on niisama muutlik mikroobide funktsioon kui kõik nende teised funktsioonid. Ühe mikroobitõu virulentsus on väga püsiv, teistel — muutlik. Näiteks b. pestis on virulentne, vaatamata selle peale, kas ta kasvab organismis või kunstlikus söötmes, staphylococcus pyog. kaotab kiiresti oma virulentsuse, kasvades kunstlikus söötmes. Rääkides mikroobide virulentsusest peab alati juurde lisama, missugust loomaliiki silmas peetakse, sest üks ja sama mikroob võib olla virulentne ühele loomaliigile, kuna ta teise loomaliigi peale mingisugust patogeenset toimet ei avalda. Enamiku patogeensete mikroobide virulentsust võib kunstlikult suurendada või vähendada. Mikroobide virulentsust vähendavad kõik need faktorid, mis takistavad mikroobi kasvu: õhk, valgus, kuivamine, antiseptilised ained, kuumus, vananemine kultuuris jne. Mida kauemini mikroob kasvab kunstlikus söötmes, seda väiksem on harilikult tema virulentsus. Virulentsus oleneb märksa kunstliku söötme koosseisust ja kasvu temperatuurist. Praktiliselt tarvitatakse mikroobide virulentsuse nõrgendamiseks: mikroobide soendamist teatavas temperatuuris (55—60° C.), kasvatamist kõrgemas t° (b. anthracis 42,5—43° C.),

kuivatamist, päikesevalguse toimet, kunstlikule söötmele karboolhappe (1,6‰), kal. bichrom. (0,4—0,2‰), lugoolilahuse, H_2O_2, kal. hypermang. juurdelisamist ja mikroobide passaažisid mittevastuvõtlikkude loomade organismi läbi.

Patogeensete mikroobide virulentsuse suurendamise kõige mõjuvamaks abinõuks on vastuvõtlikke loomi nendega korduvalt infitseerida (passaažid), mille PASTEUR esimesena tarvitusele võttis. Sel teel läks korda paljude mikroobide virulentsust märksa tõsta (pneumococcus, streptococcus jne.). Kui me mahutame mikroobid kolloidses kotikeses loomale kõhukoopasse, kus nad kaitstud on organismi rakkude toime eest, kus aga organismi mahlad nendele juurde pääsevad, siis kasvab mikroobide virulentsus kiiresti. Mikroobide virulentsust võib suurendada sel teel, et me kunstlikele söötmeile juurde lisame astsiidivedelikku, vereseerumit, organite ekstrakti jne. Kõikide nende abinõudega võib mikroobide virulentsust suurendada ainult teatava piirini, kust edasi võimatu on virulentsuse tõusu saavutada (virus fixe).

Infektsiooniliste haiguste puhul paistavad sagedasti silma kaks nähtust, mis infektsioonimikroobi spetsifiteedi peale varju heidavad.

1) Me teame, et üks ja sama viirus võib esile kutsuda kahe- või mitmesugust haigusepilti. Nii võib b. anthracis tekitada siberi katku villi (pustula maligna), kopsu ja soolte vigastusi, haigused, mis oma sümptomite poolest teineteisest täielikult lahku lähevad. Tuntud on, et b. tuberculosis tekitab ühel juhtumusel kopsutiisikust, teisel — lümfinäärmete tuberkuloosi (scrophulosis), kolmandal luupust ehk söötraiga (nahatuberkuloosi). Samasugust haiguse mitmekesisust leiame süüfilise, katku ja teiste haiguste korral. Kõige selle juures on mitmekesist haigusepilti põhjustamas üks ja sama mikroob, ja üks haigusepilt võib teisest välja areneda.

2) Üht ja sama kliinilist sümptomite kompleksi võivad mitmesugused viirused esile kutsuda. Koolerasarnast haigusepilti võivad tekitada peale vibrio cholerae paljud teised mikroobid (b. paratyphi) ja koguni arseen. Düsenteria puhul näeme, et mitmekesised bakterid ja amööbid tekitavad sarnaseid sümptomeid.

Patogeensete mikroobide kõige väiksem hulk, mis veel üld-infektsiooni suudab tekitada, oleneb peaasjalikult organismi dispositsioonist ja mikroobide virulentsusest. Uurimused näitavad, et tervete loomade ja inimeste organismis leiduvad pea alati üksikud patogeensed mikroobid (streptococcus, b. tuberculosis jne.), ilma et need üldist infektsiooni tekitaksid (PEREZ, HESS). Katsete abil on kindlaks tehtud, et kõigi kõrvaliste faktorite peale vaatamata on tarvis teatavat hulka viirust üld-infektsiooni tekitamiseks. Katku infektsiooniks jätkub mõnest üksikust mikroobist (b. pestis), kuna paljude teiste infektsioonide esilekutsumiseks peab loomale sadasid (b. tuberculosis) või veel rohkem mikroobe sisse pritsima.

CHAUVEAU näitas, et loomad, kes on refrakteersed siberi katku (anthrax) loomulikule infektsioonile, võivad infektsiooni saada, kui neile injitseeritakse suurel hulgal kultuurist saadud mikroobe. Eksperimentaalsest meditsiinist on teada, et väikese hulga viiruse injekt-

sioon ei tekita infektsiooni; suurem annus kutsub esile lokaal-infektsiooni ja veel suurem tekitab üld-infektsiooni.

Kõigil nakkusehaigustel, mida VIRCHOW nimetas infektsioonilisteks haigusteks, on üldised tunnismärgid, mis võimaldavad nende eraldamist teistest haigustest. Esimesel kohal võiks nimetada nende tsüklilist arenemist. Me teame, et viiruse organismi tungimise momendi ja haiguse esimeste sümptomite ilmumise momendi vahel on lühem või pikem aste, mida nimetatakse lõimetusejärguks ehk inkubatsioonistaadiumiks. Sellele järgneb eelimisjärk ehk prodromaalstaadium, kus üksikud üldised sümptomid haigust veel ei iseloomusta. Pärast seda tuleb haiguse õitsejärk, kus haigus oma täieliku pildi omandab ja millele järgneb paranemine, surm või krooniline haigus. Nimetatud astmete kestus on väga mitmekesine ja iseloomulik igale nakkusehaigusele.

Enamale jaole nakkusehaigustele on iseloomulik organismi reaktsioon: temperatuur, leucocytosis ja antikehade tekkimine. Infektsioonniliste haiguste üldiseks tunnismärgiks on nende otsene või kaudne külgehakkamine ja epideemiline levimisviis, kus suured hulgad kiiresti võivad haigeks jääda (taud).

Infektsiooniliste haiguste sümptomid ja nende ilmumine lühema või pikema aja jooksul on selgeks tunnistuseks, et siin tegemist on contagium vivum'iga, mis aega tarvitab sigimiseks ja toksiinide produtseerimiseks, enne kui organism ühel või teisel viisil reageeruks. Organismi vigastused olenevad infektsiooni puhul peaasjalikult neist mürksaadustest, mida mikroobid produtseerivad. Seda tõestavad katsed, kus ühe või teise patogeense mikroobi toksiin põhjustab samu haigussümptomeid kui sama mikroobi infektsioon. Infektsioonide puhul on sagedasti raske otsustada, missugust mikroobi tuleb pidada spetsiifiliseks haigusetekitajaks. Seda küsimust uuris põhjalikult Rob. KOCH ja töötas välja mikroobide spetsifiteedi tingimused.

Mikroob on Kochi arvates antud infektsiooni spetsiifiline tekitaja, kui ta leidub kõigi haigete organismis, kes seda haigust põevad. Võib juhtuda, et ühel haiguseastmel pole organismis mikroobi leida (recurrens) või ta lõpetab sedavõrt kiiresti oma tegevuse ja kaob, nii et meil korda ei lähe teda leida. Ühe või teise patogeense mikroobi viibimine organismis ei tõenda veel, et see põhjuseks on käesolevale haigusele. Me teame, et batsillide kandjate organismis viibivad patogeensed mikroobid, ilma et kandja vastavat haigust põeks. Saab säherdune batsillide kandja ühe või teise infektsiooni, siis võivad kantavad batsillid haiguse õige põhjuse uurimist märksa raskendada.

Rob. Koch nõudis, et iga infektsiooni põdeva haige organismist peab saama spetsiifilise viiruse puhas kultuur. See tingimus, mille peale Rob. Koch suurt rõhku pani patogeensete mikroobide spetsifiteedi äramääramiseks, ei suuda meile palju pakkuda, sest on palju haigusi, mille infektsioosse iseloomu üle ei kahelda, kuid puuduliku mikrobioloogilise tehnika tõttu ei ole võimalik mikroobide kultuuri saada.

Tekitab viiruse puhas kultuur inimestes katse teel või juhusliku infektsiooni tagajärjel sama haigusepildi, mis oli isikul, kust viirus

isoleeriti, siis on viiruse spetsiifiline iseloom enam-vähem kindel. Haige organismist isoleeritud kultuuri patogeensuse ja spetsifiteedi uurimist hõlbustavad eksperimendid loomadega. Seejuures peab silmas pidama, et kunstlik infektsioon põhjustaks looma organismis samu patoloogilisi muutusi, mis leidusid inimese organismis.

Mikroob on spetsiifiline teatavale haigusele, kui me ei leia sama mikroobi niihästi tervete kui ka mõnd teist infektsioonilist haigust põdeva inimese või looma organismis ja kui sarnast haigusepilti ei kutsu esile ükski teine mikroobitõug.

Katsed loomadega mikroobi spetsifiteedi kindlaksmääramiseks on seotud mitmesuguste eksimisvõimalustega: 1) loomad ei ole vastuvõtlikud kõikidele inimeste infektsioonilistele haigustele; 2) üks ja sama mikroob võib tekitada väga mitmekesist haigusepilti; 3) kliiniliselt sarnast pilti kutsuvad esile paljud mikroobid. Spetsiifilise mikroobi iseloomu äramääramist ei tohi iialgi ühele tunnismärgile põhjendada, vaid peab arvesse võtma kõik mikroobi morfoloogilised ja bioloogilised omadused, eksperimendid loomadega ja immuniteedi reaktsioonid.

Infektsiooni tekkimiseks on tarvilikud infektsiooni allikad, kus patogeensed mikroobid elavad, sigivad ja kust nad terve organismi külge siirduvad. Infektsiooni allikaid on väga palju, kuid kõige tähtsamaks infektsiooni allikaks on infitseeritud inimese või looma organism. Infitseeritud organismist eralduvad haigusidud väljaheidetega, kusega, rögaga jne., mis roojastavad ja infitseerivad välisilma: maapinda, vett, õhku, loomi ja inimesi. Imevad haige verd putukad (täid, kihud, lutikad jne.), siis võivad nad infektsiooni tekitajat mikroobi tervele organismile otseselt üle kanda ja seda infitseerida. Tarvilik on silmas pidada, et patogeensed mikroobid eralduvad organismist mitte ainult haiguse õitsejärgu, vaid ka inkubatsiooni- ja paranemisjärgu ajal. Organismi kliiniline paranemine ei lange sagedasti kokku bakterioloogilise paranemisega ehk mikroobide kadumisega organismist. Pärast seda, kui organism on infektsioonist kliiniliselt paranenud, võib ta kauema või lühema aja jooksul eraldada patogeenseid mikroobe. Harilikult kestab seesugune eraldamine lühikest aega, kuna teistel juhtumustel see nädalate ja kuude kaupa võib kesta, nii kui seda kõhutüüfuse, düsenteria, koolera, difteria jne. puhul leiame. Harvemalt tuleb ette, et haigusest paranenud isik aastate jooksul või koguni kõik haigusele järgneva eluaja patogeenseid mikroobe eraldab. Säärane kauakestev latentne ehk peituv infektsioon oleneb enamalt jaolt kroonilistest protsessidest, mida infektsiooniline haigus organismis järele jätab (cholecystitis, gastritis, pyelitis, appendicitis, rhinitis jne.). Seesugused latentse infektsiooniga isikud on ümbrusele kõige kardetavamad haiguse edasiandmise suhtes, kuid nendes võib sama infektsioon akuutsel kujul uuesti ilmsiks tulla (autoinfectio). See on kaaluvaks põhjuseks, et krooniliste batsillide kandjate peale tuleb kui krooniliste haigete peale vaadata, kes tarvitavad ravitsemist ja eraldamist. Ainult säärase abinõu teostamisega võib kätte saada nakkushaiguste vähenemist.

Tuntud on juhtumused, kus krooniline batsillide kandja kauema aja jooksul ei eralda batsille, siis aga uuesti hakkab neid eraldama. Praktiliselt on väga tähtis, et ühekordse või lühikese aja järele korratud bakterioloogiliste uurimiste põhjal ei tohi otsustada, kas batsillide kandja lõplikult terveks on saanud või ei.

Epidemioloogiliselt on suure tähtsusega need isikud, kes kergel kujul infektsioonilist haigust põevad. Tihti põeb inimene üht või teist infektsioonilist haigust, ilma et kliinilised sümptomid seda oletada lubaksid (kõhu kerge lahtiolek koolera, tüüfuse ja düsenteria puhul, nina- või kurgu-limanaha kerge põletik difteria puhul jne.). Ümbrusele on säärased haiged sama kardetavad kui rasked haiged või veel kardetavamadki, sest nad liiguvad vabalt teiste hulgas.

Batsillide kandjaiks võivad olla hoopis terved isikud, kes haigetega ehk batsillidekandjatega ainult kokku puutuvad. Nad võivad mikroobe enese organismis edasi kanda, neid ümbrusesse laiali laotada ja seejuures ise kõige aja jooksul terveks jääda (vahendajad). Säärane batsillide kandmine ei ole harilikult kauakestev. Kui inimene ei puutu enam kokku haiguseidudega, siis kaovad nad kiiresti tema organismist.

Viibivad infektsiooni mikroobid ainult haige veres, siis ei eraldu nad loomulikkude väljaheidetega, kuid nende edasikandmist toimetavad mitmesugused putukad (malaria, recurrens).

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

Infektsiooni edasiandmine on võimalik pärimise teel. Mikroobide läbitungimine platsentast loodesse on kindlaks tehtud katsete abil ja kliiniliselt. MALVOZ tegi kindlaks, et vigastatud platsenta veresoontest tungivad mikroobid vabalt loodesse, kuna aga terve platsenta mikroobe üksikute eranditena läbi laseb. Pärimise teel infektsiooni edasiandjateks võivad olla mehe seemnerakud ja naise munarakud (germinatiivne infektsioon). Seda tegi kindlaks esimesena PASTEUR siidiussikeste kohta. Ka inimestel ja loomadel oletatakse sarnast võimalust, kuid nähtavasti tuleb seda väga harva ette. Tihti peetakse ekslikult päritud infektsioonilisteks haigusteks neid, mida laps sündimise ajal või pärast sündimist oma vanematelt saab kokkupuutumise teel (syphilis, tuberculosis).

Infektsiooniks on tarvilikud nõndanimetatud infektsiooniteed, millede kaudu mikroobid oma algpesadest tervesse organismi pääsevad. Infektsioonimikroobide edasiandmine võib sündida otseteel, kui terve haigega kokku puutub (contactum). Kontakt ehk kokkupuutumine etendab suurt osa nende mikroobide edasiandmises, mis väljaspool organismi kiiresti eluvõime kaotavad (süüfilis, influentsa) Kaudselt kannavad infektsiooni edasi surnud välisilm ja elusad olevused. Kaud-

selt kannavad infektsiooniviirust edasi kõik haigega ehk batsillide kandjatega kokkupuutuvad asjad (riided, pesu, söögi- ja joogiriistad, raamatud, mänguasjad, mööbel ja eluruum). Mitmekesised välisilma vahendid, kus infektsiooniviirus lühema või pikema aja jooksul elu-võimeliseks jääb, on tähtsaiks infektsiooni laialilaotajaiks. Esimesel kohal tuleks nimetada vett, sest vee läbi tekkinud taudid on harilikult kõige kurjemad oma ohvrite arvu poolest. Vees, mida inimene igapäevases elus tarvitab, võivad asuda järgmised patogeensed mikroobid: vibrio cholerae asiat., b. typhi ja paratyphi, b. dysenteriae j. t. Infitseeritud vee kaudu haigeksjäämine on võimalik mitte ainult selle joogikstarvitamise tagajärjel, vaid ka siis, kui seda söögiriistade pesemiseks, ihupesemiseks ja vannitamiseks tarvitatakse.

Infektsiooni võimaldavad patogeensete mikroobidega roojastatud toiduained. Piimas leiduvad sagedasti patogeensed mikroobid, mis lüpsmise aegu haigete või batsillidekandjate küljest sinna pääsevad (typhus, cholera, dysenteria). Peale selle võivad infitseeritud looma piimas leiduda patogeensed mikroobid, kes piima tarvitajaid võivad infitseerida (b. tuberculosis). Sagedasti on infektsiooni põhjuseks liha, mida toiduks tarvitatakse. Siin on võimalik, et loom juba enne tapmist oli haige (tuberculosis, anthrax) või mikroobid pääsid lihasse post mortem (b. botulinus, b. paratyphi jne.). Mitmesugused joogid, aiaviljad, puuviljad, leib, koogid jne. võivad olla infektsiooni põhjuseks ja taudi laiali laotada.

Õhus asub hulk mikroobe, keda me vahet pidamata sisse hingame, kuid patogeenseid mikroobe leidub seal harilikult väikesel arvul. Tolmust on leitud patogeenseist mikroobidest: b. anthracis'e eoseid, b. tuberculosis, b. diphtheriae, b. pyocyaneus, streptococcus pyog. jne., mis tolmu sissehingamise teel infektsiooni tekitavad. FLÜGGE tõendab, et tilgainfektsiooni tuleb sagedamini ette kui tolmuinfektsiooni. Kõnelemise, köhimise ja aevastamise puhul lendavad haige suust välja väikesed limamullikesed, millede seintes sisalduvad vastava haiguse mikroobid. Õhus edasi liikudes võivad säärased mullikesed ehk tilgakesed ümbrust infitseerida. Kui me võtame mikroobide söötmega kaetud kausi, hoiame seda tuberkuloositõbise või läkastuskõha põdeva haige ees ja laseme tal selle peale köhida, siis kasvavad söötme pinnal vastava infektsiooni mikroobide pesad. GOTSCHLICH arvas, et tilgainfektsioon etendab suurt osa pidalitõve, difteria, influentsa ja läkastuskõha laialilagunemise suhtes.

Mitmesugused elusad olevused võivad sagedasti kaudselt infektsiooni laiali laotada. On kindel, et putukad (kärbsed, lutikad, prussakad) oma jalgu ja tiibu patogeensete mikroobidega võivad roojastada ja siis ühest kohast teise liikudes infektsiooniviirust kaasas kannavad ning seda laiali laotavad. Teistel juhtumustel imevad putukad ühes haige verega enestesse patogeenseid mikroobe, mida nad muutumatult väljaheidetega eritavad ja sel teel infektsiooni laiali laotavad. Mõnede putukate organismis teevad verega sisseimetud mikroobid teatava arenemistsükli läbi või nende virulents suureneb putuka organismis. Säärased nähtused on tuntud paljude protozoide poolt esilekutsutud infektsioonide puhul (malaaria plasmoodid — ano-

pheles'e, trypanosoma — glossina palpalis'e, exanthematicus'e viirus — pediculi vestimenti organismis). Imeb säärane infitseeritud putukas terve inimese verd, siis tungivad virulentsed viirused temast inimese organismi ja tekitavad infektsiooni.

Infektsiooniks on tarvilikud nõndanimetatud väravad, kust viirus organismi pääseb. Kui patogeenseid mikroobe leidub toiduainetes, siis on neil organismi pääsmise teeks seedetee limanaha pind, kuna õhu patogeensed mikroobid hingamisteede kaudu organismi pääsevad. Infektsiooni organismi pääsmise kohal otsustavad mitmekesised tegurid, kas patogeenne mikroob infektsiooni suudab tekitada või peab ta koha peal surema. Nendest faktoritest peame tähendama:

1) Organismi kohalist enesekaitset. Me teame, et sarvnahk takistab märksa naha peal viibivate mikroobide edasitungimist organismi, mispärast vigastamata nahk on heaks kaitseks infektsiooni vastu. Seedetee limanahk on kaetud paksu limakorraga, mis mikroobe kinni püüab ja ühes nendega eraldub. Hingamisteede epiteelrakkude ripsmed kannavad oma liikumistega mikroobid organismist välja. Peale tähendatud mehaaniliste faktorite on olemas paljud bioloogilised ja keemilised mõjud, mis viirust infektsiooni väraval kahjutuks teevad ja infektsiooni tekkimist takistavad: hape maonõres, soolte normaalne mikrofloora ja ematupe harilikud mikroobid takistavad paljude patogeensete mikroobide kasvu.

2) Locus minoris resistentiae nime kannab sarnane koht, kus koe enesekaitse on nõrgestatud ja kus infektsiooni mikroobid võivad alata oma tegevust. Säärased kohad on juba loomulikult organismis: tonsilla, appendix, kopsu ülemised otsad jne., või nad tekivad mitmekesiste vigastuste tagajärjel. Soolte limanaha vigastused, mis tekivad soolte harilikkude rikete tagajärjel, kergendavad märksa koolera, düsenteria ja teiste infektsioonide tekkimist. Soolte parasiidid (ascaris lumbricoïdes) võivad limanahka vigastada, sünnitades sel teel infektsiooni väravaid. Harilikud kurgu-limanaha katarrid avavad väravad difteriale ja teistele infektsioonidele. Nälg kergendab viiruse organismi pääsmist limanahkade pinnalt. Tolm nõrgestab kopsu kudet ja võimaldab tiisikuseinfektsiooni. Kõiksugused haavad on lahtisteks väravateks infektsioonile.

3) Infektsiooni tekkimises etendab suurt osa viiruse kohanemine ühele või teisele koele. Näiteks, b. dysenteriae leiab kõige soodsama pinna oma kasvuks jämesooles, vibrio cholerae asiaticae peensooles, gonococcus Neisseri — kusetorus ja emakakaelas. Nahk on väga vastuvõtlik anthrax'i viirusele, kuna teised koed on sellele refraktäärsed. Kui me pritsime jänesele musklisse b. anthracis'e kultuuri, nii et mikroobid absoluutselt kokku ei puutu nahaga, siis ei järgne sellele infektsioon. Pritsime aga neid batsille palju vähemal hulgal nahasse, siis järgneb kiiresti üldine infektsioon. Mikroobide organismi pääsmise teest oleneb viiruse hulk, mida infektsiooniks tarvis läheb. FLÜGGE leidis, et kopsu kaudu juba üksikud tiisikusebatsillid infektsiooni võivad tekitada, kuna soolte kaudu on selleks tarvis miljoneid batsille.

Viiruse laialilagunemine kogu organismis sünnib infektsiooni sissetungimise kohalt: a) passiivselt verega ja koemahlaga, mis neid laiali kannavad, b) aktiivselt mikroobide liikumise teel, kui nad on varustatud liikumisorganitega; c) mikroobid kasvavad kordkorralt sügavamale rakkudevahelistesse ruumidesse.

Infektsiooniks on tarvilik organismi vastuvõtlikkus viirusele. Terves organismis, kus on hästi korraldatud loomulikud kaitse-abinõud, ei leia patogeensed mikroobid soodsaid tingimusi oma elutegevuseks. Igasugune organismi kudede energia nõrgestamine kiirendab infektsiooni arenemist. Isiklik dispositsioon infektsioonidele paistab sagedasti silma nakkusehaiguse puhul. Me teame, et mõne haiguse (koolera, tüüfuse jne.) vastu on osa inimesi kaitstud, kuna teisi haigusi (leetrid, rõuged, plekiline soetõbi) ligikaudu kõik inimesed ühetaoliselt vastu võtavad. Nälg, väsimus ja rasked haigused nõrgestavad organismi resistentsi ja kasvatavad vastuvõtlikkust infektsioonile. Need on põhjusteks, mispärast sõja- ja nälja-ajal ning vaesema rahva keskel taudid harilikult kõige suuremaid ohvreid nõuavad. Külma mõju infektsiooni tekkimise suhtes on ammu tuntud. Tuberkuloosi ja meningitis cerebrospinalis epidemica infektsioonide korral etendab külm suurt osa. Külm nõrgestab või hävitab koguni limanahkade enesekaitse-võime. PASTEUR'i katse kanadega demonstreeris seda nähtust kõige selgemini. Kanad on harilikult refraktäärsed siberi katku infektsioonile. Kui aga hoida kanade jalad pärast siberi katku mikroobide sissepritsimist külmas vees, siis tekib surmav infektsioon.

Vanus avaldab suurt mõju infektsiooni arenemise peale. Laste keskel tuleb infektsioonilisi haigusi sagedamini ette kui täiskasvanutel. Laste organismi loomulik enesekaitse ei ole veel küllalt välja arenenud. Üksikute infektsioonide kohta võib tähendada, et lapsed oma elu esimesel aastal nende vastu on enam-vähem refraktäärsed. Siin on nähtavasti tegemist päritud immuniteediga (scarlatina, morbilli, diphtheria). Vanad inimesed surevad kiiresti mõnede infektsiooniliste haiguste kätte (tuberculosis, exanthematicus), sest nende kudede loomulik enesekaitse ja organite tegevus on nõrgenenud. Täiskasvanud inimeste haigeksjäämise väikest protsenti paljude infektsiooniliste haiguste puhul tuleb seletada osalt omandatud immuniteediga, mis tekib noores eas kergel kujul põetud haiguse järel (scarlatina, tussis, morbilli jne.). Kus aga puudub seesugune immuniteedi tekkimise võimalus, seal on lugu teisiti. Üksikutel saartel, kus leetrihaigust varemalt pole olnud, jäävad leetrite juhusliku sissetoomise korral vanad ja noored ühetaoliselt haigeks. Tuntud on, et troopikamaadel, kus esineb palju malaariahaigust, täiskasvanud pärismaalased haigeks ei jää, kuna sisserännanud isikud haiguse kiiresti saavad. Seletada võiks seda nähtust immuniteediga, mida pärisrahvas lapsepõlves põetud malaaria tagajärjel omandab. Seesugust rassi immuniteeti võib tähele panna ka teiste infektsiooniliste haiguste puhul (tuberculosis, typh. exanthematicus jne.).

Suguline dispositsioon infektsioonile on vähe silmapaistev. Menstruatsiooni, sünnituste ja raskejalgsuse ajal on naised infektsioonile vastuvõtlikumad kui mehed. Peale selle on nendel ajajärkudel

infektsioonide käik raskem kui harilikult. NEISSER leidis, et esimesil eluaastail tütarlapsed läkastusköha-haiguse kergemalt saavad kui poeglapsed.

Kohaline dispositsioon infektsioonile laseb ennast sellega seletada, et kliima ja maakoha iseärasused väga mitmekesiselt infektsiooni võimaldavad ja soodustavad. Näiteks, paljud maakohad on vabad malaariast, sest seal puuduvad kihud (anopheles), kes seda infektsiooni laiali kannavad. Osalt oleneb isiklik dispositsioon ka maakohast, nii kui seda katsed hiirtega tõestasid. Võib-olla oleneb seesugune nähtus toitumisest ja sellega käsikäes käivast soolte normaalse mikrofloora muutustest.

Aastaaegade mõju infektsioonide peale oleneb peaasjalikult mitmekesistest välimistest tingimustest, mis infektsiooni laialilagunemist kiirendavad: suvel laotavad infektsiooni laiali kärbsed, talvel võimaldab nakkusehaiguste edasiandmist koondatud elamisviis, suvel soodustavad soolte infektsioonide laialilagunemist soolte korratused, talvel kopsu- ja kurguhaigusi külmetus jne.

Sotsiaalne dispositsioon infektsioonidele oleneb: elamisviisist, puhtusest, elukutsest, toitumisest jne.

Infektsioone jagatakse kahte gruppi: loomulikud ja kunstlikud. Loomulik infektsioon tekib välisilma vahendite mõjul, ilma meie kaasabita, kuna kunstliku infektsiooni saamiseks elusat viirust organismi juhitakse ühel või teisel teel. Tekitavad infektsiooni ühel ja samal ajal mitmesugused viirused, siis räägitakse segainfektsioonist ehk mikroobide assotsiatsioonist. Osa, mida etendab infektsioonides mikroobide assotsiatsioon, on sagedasti silmatorkav. Kui me injitseerime loomale toksiinist puhtaks pestud b. tetani eoseid, siis ei järgne sellele tetanus. Segame aga eosed enne sissepritsimist ühe või teise saprofüüdi kultuuriga, siis tekib teatud inkubatsiooniastme järele tetanus. Esimesel juhtumusel fagotsüteeruvad b. tetani eosed, teisel juhtumusel takistavad saprofüüdid fagotsütoosi ja eosed võivad vabalt sigida ning toksiini valmistada. Tuntud on streptococcus'e soodustav mõju b. dyphtheriae ja b. typhi abdominalis'e virulentsi peale. METŠNIKOV näitas, et ühed bakterid soodustavad, teised aga takistavad vibrio cholerae asiaticae sigimist sooltes.

Pääsevad ühe või teise infektsiooni ajal sama infektsiooni mikroobid välisilmast uuesti organismi, siis saame superinfektsiooni, mis sagedasti suurt mõju avaldab haiguskäigu peale (tuberculosis).

Tihti võib tähele panna, et ühele infektsioonile järgneb teine infektsioon. Infektsiooni nimetatakse heterogeenseks, kui viirus välisilmast organismi tungib, autogeenseks, kui infektsiooni esile kutsub organismis viibiv viirus. Enamasti iga infektsiooniviirus kutsub esile organismis enam või vähem iseloomulised patoloogilised muutused, milledest oleneb infitseeritud organismi saatus.

Immuniteet ja seroloogia.

Nimetuse «immunis» andsid vanad roomlased neile isikuile, kes vabad olid maksudest. Hiljemini hakati immuunseiks nimetama neid, kes olid kaitstud ühe või teise taudi vastu.

Inimese ja looma organism võitleb vahet pidamata mitmekesiste haigusidudega, mis välisilmast organismi tungivad, seal sigida ja infektsiooni tekitada katsuvad. Kui selles võitluses jääb võitjaks organism, siis on ta haigusidudele immuunne. Nii siis võiks immuniteedi mõistet lühidalt järgmiselt defineerida: see on organismi omadus, mis teda kaitseb parasitaarse ja toksilise teguri patogeense toime vastu.

Rääkides immuniteedist peab silmas pidama tema kahte vormi: 1) absoluutne immuniteet ja 2) relatiivne immuniteet. Absoluutse immuniteedi korral on organism refraktäärne teatava viiruse vastu ka siis, kui on olemas tingimused, mis on harilikult tarvilikud sellele mikroobile infektsiooni tekitamiseks. Nii on teada, et inimest on võimatu infitseerida sarvloomade katkuga, sarvloomi malleusega jne. Võib-olla ei tunne me veel kõiki neid tingimusi, mis oleksid tarvilikud nende infektsioonide esilekutsumiseks; sellepärast jääb ka absoluutse immuniteedi olemasolu esialgu lahtiseks küsimuseks.

Relatiivne immuniteet ühe või teise infektsiooni vastu on seotud mitmekesiste tingimustega. Näiteks organism võib olla kaitstud väikese hulga viiruse vastu, kuna sama viirus haiguse esile kutsub, kui teda korraga suurel hulgal organismi pääseb. Seda silmas pidades nimetab BEHRING organismi immuunseks, kui see on kaitstud niisuguse viirusedoosi vastu, mis teises sama tõugu organismis esile kutsub infektsiooni.

Inimestel oleneb relatiivne immuniteet sagedasti individuaalseist omadusist, kuna loomadel seda nähtust palju harvemini ette tuleb. Mida tervem ja kõvem on organism, seda püsivam on immuniteet. Kõik faktorid, mis nõrgestavad organismi, vähendavad ka tema immuniteeti: nälgimine, mürgistused alkoholiga, oopiumiga, kokaiiniga, verekaotused, koevigastused, füüsiline ja vaimline väsimus. PASTEUR ja WAGNER näitasid oma katsetega, et kanad on immuunsed harilikkudes elutingimustes siberi katkule, kuid võivad saada selle infektsiooni, kui neid enne b. anthracis'e organismi pritsimist külmas jahutatakse. MORGENROTH leidis, et külmaverelised loomad saavad ainult siis mürgistuse teetanuse toksiiniga, kui neid 30° C. temperatuuris soendatakse.

Immuniteet võib olla loomulik ja omandatud. Loomulik immuniteet on ühe või teise loomatõu organismile külgesündinud omadus, kuna omandatud immuniteet tekib indiviidi eluajal ühe või teise faktori toimel. Omandatud immuniteet on kahesugune: 1) passiivne immuniteet, kui organism ei produtseeri ise kaitseolluseid, vaid saab neid valmis olekus; 2) aktiivne immuniteet, kui organism spontaanse või kunstlikult esilekutsutud haiguse läbi põeb ja siis immuniteedi omandab.

Uuemal ajal äratab veel tähelepanu üksikute kudede ja organite relatiivne immuniteet; sellepärast räägitakse lokaalsest ja üldisest immuniteedist. BESREDKA uurimused tõestasid, et immuniteedi suhtes

võib tähele panna organite ja kudede autonoomiat. Näiteks võib kanadele ilma paha tagajärjeta naha alla või verde süstida niisugust hulka teetanuse toksiini, mis iga suure imetaja looma surmaks. Kui aga kanale süstida seda toksiini samal või vähemal hulgal peaajusse, siis sureb ta kiiresti teetanuse mürgistusse. Säärast histogeenset ehk koe-immuniteeti on tähele pandud paljude infektsioonide puhul.

Loomulik immuniteet on harilikult püsiv, kuna omandatud immuniteet on väga muutlik. Ühel juhtumusel võib ta olla kaua püsiv, teisel juhtumusel möödaminev.

Loomulik immuniteet.

Kui organismil on immuniteet ühe või teise infektsioonilise haiguse vastu, ilma et ta seda haigust kunagi varemini oleks põdenud, siis räägitakse organismi loomulikust immuniteedist. Loomulik immuniteet on omane enamasti ühele loomaliigile. Nii on teada, et paljud loomadele patogeensed mikroobid ei tekita inimestele infektsiooni ja paljud inimeste infektsioonid ei ole ülekantavad loomadele.

Loomulik immuniteet oleneb osalt rassist ja vanusest. Näiteks on mustad rassid immuunsed kollapalavikule; neegritele on malaaria vähem kardetav kui valgetele. Vanuse mõju immuniteedi peale on silmapaistev paljude infektsioonide puhul. Lapsed alla ühe aasta on harilikult immuunsed leetritele ja sarlakile. B. typhi infitseerib harva väikesi lapsi ja vanakesi.

Loomulik immuniteet on toimiv niihästi patogeensete mikroobide kui ka nende toksiinide vastu. BUCHNER katsus loomulikku immuniteeti täielikult eraldada omandatud immuniteedist, kuid EHRLICH ja NEISSER leidsid, et mõlemail kordadel on tegevad ühed ja samad faktorid, mis mitmekesiselt modifitseeruvad.

Kui me injitseerime immuunsesse organismi vastavaid mikroobe, siis leiame, et viimased sealt lühema või pikema aja jooksul jäljetult kaovad. Sellest näeme, et organismis leiduvad mõnesugused võitluseabinõud mikroobide vastu, milledest oleneb loomulik immuniteet.

Suurt osa etendab loomulikus immuniteedis METŠNIKOV'i ja tema õpilaste uurimiste järele phagocytosis ehk mikroobide õgimine mitmekesiste rakkude poolt. Kui me injitseerime vastuvõtlikule loomale (jänes) naha alla siberi katku mikroobe, siis tekib injektsioonikohal mõne tunni järel ödeem ehk turse. Ödeemi ekssudaadist leiame suurel hulgal sigivaid mikroobe ja vähe leukotsüüte. Mikroobid on vabad, nad tungivad verde ja tekitavad üldist infektsiooni.

Teist pilti näeme, kui me injitseerime samu mikroobe (b. anthracis) refraktäärsele loomale (konnad, kanad, koerad). Mõni tund pärast injektsiooni leiame ödeemi ekssudaadis suure hulga leukotsüüte ja mikroobid on nende poolt kõik õgitud. Mikroobid ei pääse injektsioonikohalt edasi verde ja ei teki üldist infektsiooni. Kui me kunstlikult nõrgestame seesuguste loomade resistentsi (hoiame konna 37° C. soojuses; asetame kana jalad külma vette; lõikame välja koeral põrna), siis ei ole näha fagotsütoosi, mikroobid (b. anthracis) sigivad kiiresti ja loomad surevad üldise infektsiooni kätte. Sama-

sugust fenomeni on tähele pandud b. typhi, vibrio cholerae ja paljude teiste mikroobide injektsiooni puhul.

Mikroobide õgimises on iseäranis tegevad polünukleaarsed leukotsüüdid, mis mikrofaagide nime kannavad. SCHNEIDER'i katsete järele võivad mikroobe kiiresti õgida ka ühe tuumaga leukotsüüdid (mononukleaarid), keda nimetatakse makrofaagideks. Peale sääraste liikuvate fagotsüütide leiame organismist ka fikseeritud rakke, mis on tegevad fagotsütoosis: kondiüdi suured rakud, põrna ja lümfinäärmete mononukleaarid, maksarakud, veresoonte, seroossete membraanide ja omentum majus'e endoteelrakud. Kahtlemata õgivad fagotsüüdid mitte ainult koemahla läbi nõrgestatud või surmatud mikroobe, vaid ka täiesti eluvõimelisi mikrobe PETTERSSON leidis, et leukotsüütide süstimine infitseeritud loomale suurendab märksa nende resistentsi ja avaldab parandavat toimet infektsioonilise haiguse peale.

Fagotsüüdid õgivad ainult niisuguseid elemente, milledele neil on positiivne kemotaksis. Mikroobid seedivad ja surevad fagotsüütides KOSSEL'i arvates nukleiinhappe toimel, kuna METŠNIKOV arvas, et selles on tegev isesugune ferment (cytasa). Tema oletas kahesugust fermenti: mikrotsütaasi, mida produtseerivad mikrofaagid ja makrotsütaasi, mida valmistavad makrofaagid.

Fagotsütoosinähtust võib järgmiselt demonstreerida: konnale süstitakse mikroobide suspensiooni selja lümfikotti. 2—3 tunni järel võetakse sealt Pasteur'i pipetiga lümfi ja uuritakse järgmiste meetoditega; 1) rippuvas tilgas; 2) saadud lümfile lisatakse juurde 1 tilk 1% neutraalpunast 0,85% NaCl-lahus ja vaadatakse rippuvas tilgas; 3) lümfi määritakse esemeklaasile, kuivatatakse õhus, fikseeritakse tulel või absoluutses alkoholis ja värvitakse (hematoksiliiniga, Giemsa värviga jne.).

Ekssudaadid, mis sisaldavad suurel hulgal polünukleaare, on bakteritsiidsed, kuna ekssudaadid, mis mononukleaare sisaldavad, ei avalda seesugust toimet (GENGOU, TARASSEVITŠ). Loomuliku immuniteedi puhul näeme, et organismi mahlad sulatavad mikroobe (bacteriolysis). Mikroobe sulatavat ollust (bakteriolüsiini) produtseerivad mitmekesised rakud. FODOR, NUTTALL, BUCHNER ja teised panid tähele, et normaalne vereseerum võib sulatada mitmekesiseid mikroobe. Buchner'i arvates toimetavad bakteriolüüsi veres viibivad leukotsüütide elutegevuse produktid — aleksiinid. METŠNIKOV nimetas säärast produkti tsütaasiks ja arvas, et see tekib leukotsüütide lagunemise tagajärjel.

Loomulik immuniteet oleneb osalt vereseerumis leiduvast ambotseptorist, mis ühineb ühest küljest mikroobi rakuga, teisest küljest komplemendiga (aleksiiniga) ja millele siis järgneb mikroobi sulamine (bacteriolysis). Harilikult on aga normaalse vereseerumi bakteritsiidsed omadused liiga nõrgad selleks, et mikroobe otseteed surmata; sellepärast arvab Metšnikov, et vereseerumis asuvad niisugused ollused, mis fagotsüüte kiiremale tegevusele stimuleerivad (stimuliinid). WRIGHT tõendab, et normaalses vereseerumis viibivad ollused (opsoniidid), mis mikroobe ise ei surma, kuid valmistavad neid ette fagotsütoosiks. NEUFELD ja RIMPAU nimetavad seesuguseid olluseid bakteriotropiinideks.

Raskem on aru saada loomulikust immuniteedist toksiinide vastu. Nii kui teada, on mõned loomad refraktäärsed mikroobide, keemiliste, füto- ja zootoksiinide vastu: atropiin on kahjuta jänesele, nikotiin kitsedele, teetanuse toksiin kanadele, difteria toksiin rottidele — viimased kaks, kui neid verde pritsida. Arvati, et normaalses vereseerumis leidub olluseid, mis toksiini neutraliseerivad. VAILLARD näitas oma katsetega, et kanade vereseerum ei neutraliseeri teetanuse toksiini. Kui me süstime kanale teetanuse toksiini peaajusse, siis järgneb kiiresti teetanus. Samasugust pilti leiame, kui rottidele pritsime difteria toksiini. Nii kui näha, ei pääse naha alla ja verde pritsitud toksiin närvitsentrumitesse, kus ta mürgilist toimet võiks avaldada. Takistuseks sellele on nähtavasti leukotsüütide tõke. Kui kanadel pärast teetanuse toksiini verdesüstimist esile kutsuda serooskoobaste ekssudatsiooni, siis leiame, et tekkinud ekssudaat on rikas leukotsüütidest ja sisaldab seejuures palju rohkem teetanuse toksiini kui vereseerum. Sellepärast arvas METŠNIKOV, et toksiini süstimine kutsub esile hüperleukotsütoosi ja et loomulik immuniteet toksiinide vastu oleneb fagotsüütide tegevusest. BESREDKA ja BAIL näitasid oma katsetega, et fagotsüüdid võivad kahjutuks teha mikroobide toksiine. Harvadel juhtumustel võib leida normaalses vereseerumis väikesel hulgal mitmekesiseid antitoksiine, mis vastavaid toksiine neutraliseerivad.

Praegusel ajal ei ole veel võimalik lõplikult otsustada, missugused faktorid on toimimas loomuliku immuniteedi puhul. Ühelt poolt oletatakse (FODOR, BEHRING, BUCHNER, BAIL, GRUBER jne.), et loomulik immuniteet oleneb peaasjalikult vereseerumis leiduvatest mikroobidele kahjulikkudest substantsidest (humoraalne teooria), teiselt poolt arvavad METŠNIKOV ja tema poolehoidjad, et loomulikus immuniteedis etendavad peaosa fagotsüüdid ja et mikroobidele vaenulikud substantsid pääsevad verde ainult leukotsüütide lagunemise tagajärjel (tsellulaarne teooria). Kui raske on nende teooriate abil kõiki loomuliku immuniteedi nähtusi seletada, seda näitab meile LUBARSCH'i katse: koerad on immuunsed siberi katku (anthrax) vastu, kuid nende vereseerum ei tapa in vitro b. anthracis't; jänesed on väga vastuvõtlikud siberi katkule, kuid nende vereseerum surmab kiiresti in vitro b. anthracis'e.

Peale ülaltähendatud bioloogiliste faktorite oleneb loomulik immuniteet tingimata mitmekesistest füüsiko-keemilistest ja mehhaanilistest faktoritest. Me kuulsime juba, et külma verega loomi võib vastuvõtlikkudeks muuta ühele või teisele infektsioonile nende organismi soendamise abil, samuti võib sooja verega loomi vastuvõtlikkudeks muuta organismi jahutamise abil. Kui vereseerumi koosseis ei vasta patogeense mikroobi elunõuetele või puudub mikroobi toksiinil affiinsus koele, siis on organism kaitstud infektsiooni ja intoksikatsiooni vastu. P. MÜLLER arvab, et loomulik immuniteet ei ole muud kui infektsiooni alul kiiresti omandatud immuniteet. Katsete abil on aga raske seda hüpoteesi tõestada.

Loomulikku immuniteeti on katsutud mitmel viisil kunstlikult suurendada. Selleks otstarbeks süstiti organismi harknäärme (thymus) ekstrakti, pärmide ekstrakti, spermiini, abriini, natr. carbonicum'i ja jodtrichloriidi lahust, mis põhjustavad hüperleukotsütoosi. Üksikute

infektsioonide puhul on nende meetoditega juba saavutatud rahuldavaid terapeutilisi resultaate.

Loomulik immuniteet on nähtavasti kogu organismi funktsioon, teda ei ole võimalik üle kanda ühest organismist teise, nii kui seda omandatud immuniteedi puhul võimalik on saavutada immuunseerumi süstimise abil.

Omandatud immuniteet.

Paljude infektsiooniliste haiguste põdemise järel omandab niihästi inimese kui ka looma organism immuniteedi, mis teda kaitseb kord põetud infektsiooni vastu. Nii on teada, et inimesed, kes kord on põdenud rõugeid, leetreid ja sarlakit, ei jää harilikult teist korda haigeks sama haigusesse. Ühed infektsioonid immuniseerivad organismi kauemaks, teised lühemaks ajaks. Paljude infektsioonide (erysipelas, pneumonia jne.) järel ei ole märgata immuniteeti. Koguni ümberpöördult, võib märgata, et nad organismi sensibiliseerivad ja vastuvõtlikuks muudavad korduvale infektsioonile. Omandatud immuniteeti võib jagada kahte pealiiki: 1) omandatud spetsiifiline immuniteet ja 2) omandatud mittespetsiifiline immuniteet.

1. Spetsiifiline immuniteet. Harilikult võib tähele panna, et üks infektsioon kutsub esile immuniteedi ainult sama infektsiooni vastu. Kui keegi põeb koolerat, siis omandab organism immuniteedi koolera vastu, kuid mitte teiste infektsioonide vastu. Seesugune spetsifiteet on eeltingimuseks immuunoteraapiale ja immuunodiagnostikale.

Organism võib omandada spetsiifilise immuniteedi aktiivsel või passiivsel teel.

a) Aktiivne immuniteet järgneb, kui organism põeb infektsioonilist haigust. Kergel kujul põetud haigus võib sama püsiva immuniteedi esile kutsuda kui raske infektsioon. Sagedasti põevad inimesed üht või teist haigust sedavõrt kergel kujul, et nad ise haigussümptomeid ei märkagi, kuid immuniteet võib olla selle järel väga püsiv. Paljude taudide ajal näeme, et mõned inimesed, puutudes kokku haigetega, ei jää haigeks, kuid suuremalt jaolt ei ole siin tegemist loomuliku immuniteediga, vaid kerge infektsiooni järel omandatud immuniteediga.

b) Aktiivset immuniteeti võib ka kunstlikult esile kutsuda. Selleks peab korduvalt inokuleerima eluvõimelisi, mitmel viisil nõrgestatud või surmatud viirusi. Säärast kunstlikku immuniseerimist nimetatakse harilikult vaktsineerimiseks. Inokuleeritud mikroobid kutsuvad esile lokaalsed ja üldised reaktsioonid, millele järgneb spetsiifiline immuniteet. Vaktsineeritud organismi vereseerum, koemahlad ja kude saavad uued omadused, mis surmavat toimet avaldavad välisilmast sissetungiva viiruse peale. METŠNIKOV'i arvates kutsub vaktsinatsioon esile leukotsütoosi ja kiirendatud fagotsütoosi. Viimases etendab suurt osa vaktsineeritud looma vereseerumis sisalduv substants — stimuliin.

c) Aktiivse immuniteedi esilekutsumiseks võib inokuleerida mikroobide toksiine või nende rakkude ekstrakti. Kui me loomale korduvalt

süstime mõnd toksiini, siis muutub tema organism lühema või pikema aja jooksul immuunseks sellele toksiinile. Inokuleeritud loomade vereseerum saab selle järel antitoksilised omadused, millega katsuti seletada iga toksiinidevastast immuniteeti. Kuid see arvamine ei ole maksev igal juhtumusel, sest vaktsineeritud loomade vereseerum võib olla ka mitte-antitoksiline. Omandatud antitoksilise immuniteedi ligem uurimine näitas, et ka leukotsüüdid absorbeerivad ja transformeerivad injitseeritud mürki.

CALMETTE injitseeris jänesele veenisse atropini sulfurici, laskis vere välja ja eraldas tsentrifugeerimise teel plasma valgetest vereliblededest. Ta süstis plasmat ühele jänesele ja leukotsüüte teisele jänesele peaajusse. Plasma andis ainult nõrga reaktsiooni, kuna leukotsüüdid kutsusid esile rasked fenomenid, mis surmaga võisid lõppeda. Sellest näeme, et leukotsüüdid absorbeerivad ja hoiavad kinni atropiini. LOMBARD sai samad resultaadid süstides atropiniseeritud jänese plasmat ja leukotsüüte koerale verde. BESREDKA pritsis arseeni vastu resistentsele jänesele kõhukoopasse arsenic. trisulfurici suspensiooni. Teatava aja järel ilmus kõhukoopas hüperleukotsütoos, kus makrofaagid olid täidetud sulamata arseenisoola terakestega ja loom ei avaldanud intoksikatsiooni sümptomeid. Kui aga takistatakse fagotsütoosi reaktsiooni karmiinterade pritsimisega kõhukoopasse, siis kutsub arseenisool esile surmava reaktsiooni. METŠNIKOV ja tema õpilased tulid arvamisele, et fagotsütoos etendab tähtsat osa, mitte ainult antimikroobse, vaid ka antitoksilise immuniteedi puhul. See teooria leidis alguses suurt opositsiooni Saksamaa teadusmeeste poolt, kes omandatud immuniteeti katsusid seletada ainult humoraalse teooriaga. WRIGHT näitas oma uurimustega, et immuniteediks on tarvilikud niihästi vereseerumis viibivad spetsiifilised substantsid (opsoniinid) kui ka fagotsüütide aktiivne tegevus. See teooria lepitas osalt tsellulaarse ja humoraalse teooria poolehoidjaid.

Spetsiifiliste immuunkehade produtseerimine on elusate rakkude funktsioon. Aktiivne immuniteet tekib organismis lühema või pikema aja jooksul ja on harilikult püsiv (kuud ja aastad). Aktiivne immuniseerimine leidis suurt tarvitust arstiteaduses. JENNER oli esimene, kes seda meetodit tarvitas immuunprofülaktiliseks otstarbeks (rõugete panemine). PASTEUR võttis tarvitusele aktiivse immuniseerimise infektsiooniliste haiguste ravitsemiseks ja pani kindla aluse uuema aja vaccinotherapia'le.

Passiivse immuniteedi esilekutsumiseks injitseeritakse vastuvõtlikku organismi aktiivselt immuniseeritud looma vereseerumit. Mõjuva immuunseerumi valmistamiseks peab looma kauema aja jooksul kunstliku revaktsineerimise abil immuniseerima. Niisuguste infektsioonide puhul, kus viirus on alles tundmata, võib passiivseks immuniseerimiseks tarvitada infektsioonist paranenud looma või inimese vereseerumit (scarlatina, typhus exanthematicus jne.).

Passiivse immuniseerimise korral saab organism kaitseollused, ilma et ta nende produtseerimiseks oma jõudu kulutaks. Passiivne immuniteet tekib kiiresti pärast immuunseerumi injektsiooni ja ta on vähe püsiv

(päevad ja nädalad). Injitseeritud immuunkehad tsirkuleeruvad vabalt veres ja koemahlas, kust nad lühema või pikema aja järel eralduvad.

Passiivne immuniseerimine leidis laialist kasutamist immuunoprofülaktikas ja immuunoteraapias. BEHRING'i, KITASATO ja EHRLICH'i uurimused panid kindla aluse praegusel ajal laialt tuntud seroteraapiale.

2) Omandatud mittespetsiifiline immuniteet. Ülalpool kuulsime, et inokuleeritud mikroobid ja immuunseerum kutsuvad esile spetsiifilise immuniteedi, mis on juhitud ainult ühe infektsiooni vastu. Tüüfusebatsillide inokulatsioon immuniseerib ainult tüüfuse vastu, difteriaseerumi injektsioon ainult difteria vastu.

Uuemad uurimused on tõestanud, et organism võib teatavate substantside injektsiooni järel omandada resistentsi ühel ajal mitmekesiste infektsioonide vastu. Säärast mitmekülgset immuniteeti võib kunstlikult esile kutsuda, kui me injitseerime organismi järgmisi aineid: normaalvereseerumit, valkude segu, nukleoalbumiine, nukleoproteiide, piima, deuteroalbumoose, peptooni ja anorgaaniliste soolade lahuseid. Nende ainete injektsioon suurendab organismi resistentsi korraga mitmesuguste infektsioonide vastu. Mittespetsiifilise immuniteedi tekkimise kohta puuduvad alles ligemad andmed, kuid kliinilised kogemused lubavad oletada, et selle meetodiga võib saavutada paljude infektsioonide puhul häid resultaate.

MUCH arvab, et parenteraalsel teel (subkutaanselt, verde, intramuskulaarselt, serooskoobastesse) organismi pääsnud ained erutavad tegevusele organismi loomulikke kaitse-abinõusid. Tema arvates on mittespetsiifiline immuniteet organismi rakkude ja mahlade funktsioon. WEICHARDT'i arvates kutsuvad parenteraalsel teel organismi juhitud ained esile isesuguseid muutusi valgu molekulites. Veres tekivad mitmekesised proteolüütilised fermendid, mis kahjulikult toimivad patogeensete mikroobide peale. RIEDEL tõendab, et võõras aine muudab organismi rakkude biokemismi ja aktiveerib protoplasmat. BIER arvab, et parenteraalsel teel inokuleeritud võõrad ained kutsuvad organismis esile mitmekesiseid reaktsioone, mis patoloogiliste protsesside peale parandavat toimet avaldavad ja patogeensete mikroobide tegevust takistavad. Prantsuse teadusmehed (WIDAL, ABRAMI, BRISSAUD j. t.) oletavad, et parenteraalsel teel organismi pääsnud ained kutsuvad esile kolloidkeemilisi muutusi vereseerumis ja koemahlades, mis ei ole kasvuks soodsad patogeensetele mikroobidele.

Mittespetsiifiline immuniteet on vähe püsiv ja tema toime infektsioonide puhul on väga muutlik. Selle immuniteedi peal põhjeneb uuemal ajal kiirelt arenev proteinoterapia.

Niihästi loomulik kui ka omandatud aktiivne immuniteet on päritavad. Loomulik immuniteet on seotud organismi füsioloogiliste ja zooloogiliste omadustega ja sellepärast on ta rohkemal määdul päritav kui omandatud immuniteet. Ema poolt omandatud aktiivne immuniteet läheb pärimise teel üle lapse peale, kuna isa selles suhtes väikest osa etendab. Passiivse immuniteedi pärivust võib vaevalt oletada, sest ta on vähe püsiv.

Lokaalne immuniteet.

METŠNIKOV'i ütluse järele võivad omandada kõik organismi elusad elemendid teatava immuniteedi. Paljudel juhtumustel ei ole leida immuunses organismis meile tuntud immuunkehasid, samuti ei ole märgata ka fagotsütoosinähtust. Nendel kordadel peab oletama, et kudedel ja organitel on iselaadi resistentsus patogeensete mikroobide vastu. Seesugust immuniteeti nimetas BEHRING koe immuniteediks.

Ülal kuulsime, et ühel koel on suurem vastuvõtlikkus viirusele kui teisel (koe autonoomia). BESREDKA ja teiste uurimused tõestasid, et immuniteedi tekkimise suhtes on märgata samasugust rakkude ja kudede autonoomiat: ühed koed omandavad vaktsineerimise järel kiiresti immuniteedi, kuna teised selleks rohkem aega tarvitavad. Juba JENNER märkas, et nahk väga vastuvõtlik on rõugete viirusele. Tema poolt tarvitusele võetud vaktsineerimine naha kaudu annab püsiva immuniteedi rõugete vastu, vaatamata selle peale, et organismis ei ole leitud meile tuntud immuunkehasid. BESREDKA uuemad katsed on tõestanud, et rõugete viirusel on suur affiinsus nahale (dermotroopne viirus) ja et püsiva üldise immuniteedi saavutamiseks peab vaktsineerima nahka.

Siberi katku mikroobid (b. anthracis) kutsuvad kiiresti esile üldise infektsiooni jänestes, kui me looma infitseerime naha kaudu. Samad mikroobid ei põhjusta infektsiooni, kui neid inokuleeritakse naha alla, musklitesse, verde või kehakoobastesse, nii et nahk absoluutselt kaitstud oleks viirusega kokkupuutumise eest. Juba PASTEUR'ist alates vaktsineeriti loomi siberi katku vastu nõrgestatud b. anthracis'e kultuuride naha alla pritsimisega, kuid püsiva immuniteedi saavutamine oli sagedasti seotud suurte raskustega. Viimaste aastate uurimused (BESREDKA, VALÉE, PLOTZ j. t.) näitasid, et siberi katku vastu võib kiiresti saavutada püsivat immuniteeti, kui vaktsiini naha sisse pritsitakse või vaktsiiniga märjaks tehtud kompressid habemenoaga karvadest puhtaks aetud naha peale applitseeritakse (cutivaccinatio). Sel teel esilekutsutud immuniteet ei ole mitte ainult naha immuniteet, vaid ta on ka üldine. Kui on immuniseeritud vastuvõtlik organ — nahk, siis on kogu organism kaitstud infektsiooni vastu. Seejuures ei ole leida pea sugugi immuunkehasid (agglutiniini, ambotseptorit, pretsipitiini) looma vereseerumis. Ülal-ettetoodud nähtust demonstreerivad selgesti PLOTZ'i katsed: tema mahutas klaasist ampullidesse 1000—3000-kordse surmava doosi siberi katku batsille ja mahutas neid jänestele haava kaudu naha-alusesse koesse, õmbles haava kinni ja kui haav oli täielikult paranenud, siis purustas ta ampullid naha-aluses koes. Sel teel infitseeritud jänesed ei jäänud haigeks ja ükski nendest ei olnud ka immuniseeritud. Väike hulk naha sisse inokuleeritud mikroobe kutsus esile surmava infektsiooni.

BESREDKA, URBAIN ja teised konstateerisid lokaal-immuniteeti stafülokokkide ja streptokokkide infektsioonide puhul. Stafülo- ja streptokokkide vaktsiinide naha sisse pritsimine või nendega märjaks tehtud kompresside hoidmine habemenoaga karvadest puhtaks aetud naha

peal kutsub kiiresti (24—48 tunni jooksul) esile immuniteedi, mis kaitseb looma lokaalse ja üldise infektsiooni vastu.

Sellest näeme, et infektsioonile vastuvõtlikkude naharakkude vaktsineerimine põhjustab immuniteedi (kutiimmuniteet). BESREDKA arvab, et vaktsiini organismi juhtimise tee valikul on sama suur tähtsus immuniteedi saavutamiseks kui vastava vaktsiini valikul. Ratsionaalne vaktsinoterapia ei baseeru antikehade produtseerimisel, vaid infitseeritud organite ja kudede immuniseerimisel.

Kliinilised kogemused näitavad, et paljude infektsioonide puhul, mida tekitavad strepto- ja stafülokokid (furunculosis, eczema jne.), võib häid tagajärgi saavutada autovaktsiini naha sisse injitseerimisega ja vaktsiini kompressidega.

Suurt huvi pakuvad lokaalse immuniteedi suhtes b. typhi, b. paratyphi, b. dysenteriae ja vibrio cholerae asiaticae poolt esile kutsutud infektsioonid. SANARELLI (1894) jõudis otsusele, et b. typhi lokaliseerub peaasjalikult peensoolte limanahkades, vaatamata selle mikroobi organismi pääsmise tee peale. BESREDKA, MASAKI ja teised uurisid põhjalikumalt b. typhi ja b. paratyphi elektiivset affiinsust peensoolte limanahale ja tulid otsusele, et nendel mikroobidel esinevad enterotroopsed omadused. Peale nende on silmapaistvalt enterotroopsete omadustega b. dysenteriae ja vibrio cholerae asiaticae (SANARELLI, BESREDKA, MASAKI, GOLOVANOV jne.).

Eksperimentaalsed uurimused ja kliinilised kogemused on näidanud, et ülaltähendatud infektsioonide vastu on võimalik organismi immuniseerida suu kaudu (per os) vaktsiini tarvitamisega. BESREDKA pani juhuslikult tähele, et hiir, kes oli saanud varemalt per os b. paratyphi B. kultuuri, oli refraktäärne sama mikroobi surmava doosi naha alla pritsimise vastu. Ta uuris põhjalikult seda fenomeni ja tuli otsusele, et b. typhi ja b. paratyphi infektsioonide vastu võib kiiresti püsivat immuniteeti saavutada, kui me vastavat vaktsiini inimesele või loomadele sisse söödame. Immuniteet järgneb kiiremini ja on palju mõjuvam, kui enne vaktsiini sissevõtmist ärritatakse soolte limanahka sapiga. Besredka soovitab selleks järgmist meetodit: alguses antakse per os looma sapist valmistatud pillid ja selle järel vastavaist mikroobidest valmistatud vaktsiinitabletid. Mitmekordsed järeleproovimised taudide ajal on tõestanud, et säärase meetodiga (enterovaccinatio) võib saavutada mõjuvat immuniteeti.

Besredka poolt soovitatud immuniseerimine per os andis peale tüüfuse ja paratüüfuse häid tagajärgi vibrio cholerae asiaticae (MASAKI, GLOTOV ja GOLOVANOV) ja b. dysenteriae (VIOLLE, DUMAS ja COMBIESCO) vaktsiinidega.

Katsed näitavad, et suu kaudu vaktsineerides ei ole märgata mingisugust üldist reaktsiooni, vereseerumis ja koemahlades ei ole leida immuunkehasid ja immuniteet tekib lühikese aja jooksul. Naha alla injitseeritud vaktsiin kutsub esile üldise ja kohalise reaktsiooni, veres tekivad immuunkehad ja immuniteet ilmub ainult 5—10 päeva järel (inkubatsioonistaadium). Suu kaudu vaktsineerimise abil esilekutsutud immuniteet on lokaalne ja tekib vastuvõtlikkude soolte limanaha-rakkude kaasabil sooltes. Naha alla injitseeritud vaktsiiniga

immuniteedi saavutamiseks on tarvilik lühem või pikem inkubatsioonistaadium selleks, et sissepritsitud mikroobid fagotsüütide abil ära seeditaks, mille järel vabanevad spetsiifilised substantsid. Viimased ühinevad infektsiooni vastuvõtlikkude rakkudega ja sellele järgneb immuniteet (BESREDKA).

Besredka poolt ülesseatud hüpotees lokaalse immuniteedi tekkimise mehhanismi kohta leiab poolehoidu paljude bioloogide poolt. Kliinilised kogemused ja eksperimentaalsed saavutused lubavad oletada, et organism omandab siis kõige püsivama immuniteedi ühe või teise infektsiooni vastu, kui on immuniseeritud kõige vastuvõtlikumad rakud ja koed. Seda silmas pidades valitakse uuemal ajal vaktsiini organismi juhtimiseks uusi teid, mis annavad paremaid resultaate kui harilik naha alla, verde ja musklitesse pritsimine.

Depressiooni immuniteet.

Krooniliste infektsioonide kohta arvati, et need organismis esile kutsuvad spetsiifilise immuniteedi, mille tõttu reinfektsiooni puhul organismi pääsev viirus ära sureb, kuna organismis asuv viirus edasi elab ja oma patogeenset tegevust jätkab. Kuni viimase ajani valitses arvamine, et süüfilisehaiged on refraktäärsed reinfektsioonile ja et superinfektsioon ei avalda toimet haigusekäigu peale (BOSE, KRAUSE, BEK).

NEISSER, LANDSTEINER ja FINGER leidsid, et niisugune superinfektsioon, kus korraga suur hulk süüfiliseviirust haige organismi pääseb, suurendab neid haigussümptomeid, mis olid leida superinfektsiooni silmapilgul.

Süüfilisega infitseeritud organism reageerib värskelt sissetungiva viiruse peale samuti kui seal viibiva viiruse peale. Infitseeritud organismi kaitse-abinõud ei surma reinfektsiooni viirust, vaid muudavad selle patogeenseid omadusi.

MORGENROTH ja ABRAMI panid tähele kahesuguse omadusega streptokokkide tüvesid: ühed tüved kutsuvad esile kroonilist, teised aga akuutset infektsiooni. MORGENROTH, BIBERSTEIN ja SCHNITZER tõestasid oma katsetega, et kroonilist streptokokkide infektsiooni põdejad hiired on refraktäärsed nende streptokokitüvede vastu, mis tervetes hiirtes põhjustavad akuutse infektsiooni Kui me injitseerime viimaseid tüvesid nendele hiirtele, kes juba põevad kroonilist infektsiooni, siis ei järgne sellele akuutne surmav infektsioon, vaid suurenevad ainult kroonilise infektsiooni sümptomid. Sellest näeme, et kroonilise infitseeritud organismis leiduvad niisugused faktorid, mis muudavad värske viiruse patogeenseid omadusi ja esile kutsuvad nende virulentsi depressiooni. Ülaltähendatud autorid nimetasid säärast organismi omadust depressiooni immuniteediks.

NAGASAVA, BERLINER'i ja CITRON'i katsed b. anthracis'ega ja kanadekoolera viirusega tõestasid eelmiste uurijate poolt tähelepandud nähtust.

RÖMER'i ja CALMETTE'i eksperimentaalsed uurimused on näidanud, et tuberkuloosiga infitseeritud loomade organism nõrgestab värskelt organismi tungivate tuberkuloosibatsillide virulentsi. MARFAN'i,

BERNARD'i ja LAVERGNE'i arvates võib depressiooni immuniteedi nähtust tähele panna tuberkuloosihaigete inimeste juures. Kui inimene põeb kroonilist tuberkuloosi infektsiooni, siis ei tekita iga kord superinfektsiooni korral organismi tunginud tuberkuloosibatsillid akuutset infektsiooni. Ainult siis, kui organismi korraga tungib suur hulk virulentseid batsille, võib tekkida akuutne infektsioon, sest depressiooni immuniteedi toime on liiga väike nende virulentsi nõrgestamiseks.

Praktiliselt on tähtis, et krooniliselt infitseeritud organism oleks kaitstud superinfektsiooni eest, sest siis võib loota kiiremat paranemist. Depressiooni immuniteet tekib harilikult kiiresti pärast organismi infektsiooni ja kestab nii kaua, kui infektsiooni esilekutsuvad mikroobid asuvad organismis. Depressiooni immuniteet on seotud infektsiooniga ja tema mehhanismi üle puuduvad alles ligemad andmed.

Antigeenid ja antikehad.

Antigeeniks nimetatakse ollust, mis parenteraalsel teel organismi pääsedes seal spetsiifilisi antikehasid tekitab. Antigeense omadusega on peaasjalikult valk-ollused, mis avaldavad organismi peale immuniseerivat toimet (Pick). Valgu antigeenne toime oleneb organismi pääsmise teest. Pääseb valk organismi per os, siis satub ta mitmekesiste seedimis-fermentide toime alla, mis tema antigeenset omadust kahandavad. Juhime aga valgu organismi parenteraalsel teel, siis avaldab ta oma tegevust täies ulatuses.

Immuniseeriva toime suhtes jagunevad antigeenid kahte liiki: monovalentsed ja polüvalentsed. Esimesed tekitavad ainult ühte antikehade liiki (toksiinid — antitoksiini), teised tekitavad ühel ajal mitmekesiseid antikehasid (bakterid — agglutiniini, pretsipitiini ja lüsiini). Ühe või teise olluse antigeensed omadused võivad muutuda füsikaalsete ja keemiliste faktorite toimel.

Mikrobioloogias on tegemist järgmiste antigeenidega: mikroobid, ekto- ja endotoksiinid, bakterite ekstraktid, bakterite proteiinid, taimede valgud, fermendid, loomade ja taimede mürgid, kõiksugused valgusegud.

DEYCKE ja MUCH leidsid, et mikroobid kujutavad liitantigeeni. Kui me mõjume mikroobirakkude peale nõrkade hapetega, siis sulab osa raku ollusest happes, kuna teine osa sadestub. Happe lahusest leiame valgu lagunemisprodukte (peptooni, amiinohappeid jne.) ja mürgilisi olluseid. Sademes viibivad valgud ja rasvollused. Sadet võib omakorda eetri ja teiste ainete abil lahutada munavalgeks ja rasvollusteks. Rasvollust võib lahutada lipoidideks ja neutraalrasvaks. Sel teel saame liitantigeenist hulga lihtsamaid aineid, mida nimetatakse partsiaal-antigeenideks. Iga partsiaal-antigeen võib organismis esile kutsuda vastavaid antikehasid. Deycke ja Much nägid, et üks partsiaal-antigeen võib teise partsiaal-antigeeni immuniseeriva tegevuse peale takistavalt toimida. Kui me immuniseerime looma liitantigeeniga, siis leiame, et tema organismis tekivad partsiaal-antikehad mitmesugusel hulgal, kuna mõned neist võivad koguni puududa.

Bakterite lipoidide antigeenset toimet organismi peale tõendasid Much ja tema kaastöölised oma katsetega. Teiste lipoidide antikehasid

leidsid BANG, FORSSMANN, MEYER j. t., kuid nende iseloomu kohta puuduvad ligemad andmed. MUCH oli esimene, kes neutraalrasvade antigeense toime organismi peale kindlaks tegi. KLEINSCHMIDT sai antikehad taimerasvadega immuniseerimise tagajärjel. Igatahes on rasvollustega antikehade esilekutsumine palju raskem kui valkudega.

Antikehadeks ehk immuunkehadeks (anticorpus) nimetatakse neid olluseid, mis tekivad organismis antigeenide toimel. Antikehade hulka kuuluvad: antitoksiinid, antifermendid, agglutiniinid, opsoniinid, bakteriotropiinid, lüsiinid, Bordet' antikehad, antiagglutiniinid ja antilüsiinid.

Antikehade tekkimine oleneb: 1) organismi omadustest ja selle harjumusest antikehasid produtseerivale tööle. Antigeeni esimese süstimise järel organismi tekib teatav hulk antikehasid, mis suureneb korduvate injektsioonide järel. WASSERMANN, KOLLE, SHIGA ja DUNGERN leidsid, et kord põetud infektsioonihaiguse järel omandavad organismi rakud isesuguse tundlikkuse antikehade valmistamiseks. Kauema aja järel pärast haigust tekitab injitseeritud antigeen suure hulga antikehasid. Näiteks, süstime inimesele, kes põdes palju aastaid varemini kõhutüüfust, naha alla surmatud tüüfusebatsille, siis ilmub tema veres suurel hulgal agglutiniine, kuna nende inimeste veres, kes tüüfust ei ole põdenud, sama antigeeni injektsioon ainult väikese hulga agglutiniini tekitab.

2) Organismi individuaalsed omadused etendavad suurt osa antikehade tekkimises. Ühel juhtumusel leiame veres pärast infektsioonilist haigust suurel hulgal antikehasid (agglutiniini), kuna teise veres, kes haigust samal kujul põdes, vähe antikehasid leidub. Süstime mitmele jänesele üht ja sama antigeeni organismi, siis leiame nende veres harilikult mitmesugusel hulgal antikehasid.

3) Antikehade tekkimise peale avaldavad suurt toimet antigeeni organismi pääsmise teed. CITRON ja WASSERMANN leidsid, et antigeeni verde süstimisele järgneb kiiresti rohke antikehade tekkimine, kuna naha alla või kehakoobastesse süstimise järel neid vähem tekib. Citron ja Wassermann panid tähele, et organismil on omadus antikehade valmistamiseks koha peal ühes või teises organis ja koes, kust nad iga kord verde ei tungi.

4) Antikehade tekkimine organismis oleneb antigeeni iseloomust. Väga mürgilised ja virulentsed antigeenid takistavad antikehade produktsiooni. Surmavate infektsioonide korral leiame organismist harilikult vähem antikehasid kui paranevate infektsioonide puhul. PFEIFFER'i ja KOLLE katsed tõendavad, et surmatud mikroobide injektsioon tekitab sama hulga või koguni rohkem antikehasid kui elusate virulentsete mikroobide injektsioon. WIDAL ja CASTELLANI leidsid, et organism võib ühel ja samal ajal mitmele antigeenile vastavaid antikehasid produtseerida. Süstime organismi ühel ajal kooleravibrioone, tüüfuse ja düsenteria batsille, siis tekivad antikehad kõigi nende mikroobide vastu.

Antikehade keemiline iseloom ei ole teada ja puhtalt pole neid veel saadud. Nad kuuluvad kahtlemata valkude liiki ja üksikuil nendest on antigeensed omadused.

Antikehade tekkimiskoha üle organismis valitsevad mitmesugused arvamised: METŠNIKOV ja GRUBER oletasid, et antikehasid produtseerivad mikro- ja makrofaagid. PFEIFFER, MARX ja WASSERMANN arvavad, et kõik vereorganid, nii kui kondiüdi, põrn, lümfinäärmed, antikehasid valmistavad ja neid verde eritavad. EHRLICH'i arvates on antikehad elusate rakkude küljest vabanenud osakesed ehk retseptorid. Antikehade tekkimise peale toimivad nähtavasti mõned sisemise sekretsiooni näärmed.

Antikehade peale peab vaatama kui elusrakkude reaktsiooni produktide peale. Veres viibivad antikehad kujutavad ainult koerakkude valmistatud antikehade ülemmäära. Antikehade kadumine verest ei tähenda veel üldise immuniteedi kustumist. Me teame, et rõugehaigus, tähniline soetõbi ja teised annavad kauakestva immuniteedi, kuna veres ainult lühikest aega pärast haiguse paranemist antikehad leiduvad.

Antikehad on spetsiifilised ja astuvad reaktsiooni peaasjalikult nende antigeenidega, mis neid esile kutsusid. Difteriatoksiini organismi süstimisele järgneb difteria antitoksiini tekkimine; tüüfusehaige vereseerum agglutineerib peaasjalikult tüüfusebatsille. Kõige selle juures on antikehade spetsifiteedil oma piir. Suguluses olevad antigeenid tekitavad antikehasid, mis kogu antigeenigrupi peale toimivad. Näiteks, kui me immuniseerime looma tüüfusebatsillidega (b. typhi), siis leiame tema vereseerumist agglutiniine, mis mitte ainult b. typhi, vaid ka b. paratyphi ja b. coli agglutineerivad. Seejuures paistab silma, et b. typhi agglutiniine leidub vereseerumis suuremal hulgal kui temaga suguluses seisvate b. paratyphi ja b. coli agglutiniine. Üksikuil kordadel võib aga ümberpöördud pilti näha. Näiteks, b. Gaertneri poolt esilekutsutud infektsiooni puhul leiame veres suuremal hulgal neid agglutiniine, mis b. typhi, kui neid, mis b. Gaertneri agglutineerivad. Harvadel kordadel võib leida, et antigeen produtseerib hoopis võõraid antikehasid.

MUCH ja SCHMIDT arvavad, et antikehad on seda spetsiifilisemad, mida keerulisema molekulaarse ehitusega on antigeenid, mis neid tekitavad. Antigeenidest on valkudel kõige keerulisem struktuur; sellepärast on nende poolt esilekutsutud antikehad kõige spetsiifilisemad. Neutraalrasvade ja tärklisolluste struktuur on lihtsam ja nende antikehad vähe spetsiifilised.

Antikehade tekkimises pärast antigeeni organismi pääsmist võib järgmisi perioode tähele panna: 1) lõimetusjärk (inkubatsioon) kestab 3—6 päeva; 2) antikehade hulk tõuseb kõige kõrgemale tipule 9—11 päeva jooksul; 3) antikehade hulga kahanemine; 4) mõnepäevaline seisak nende hulga kahanemises; 5) antikehade produktsiooni lõplik kadumine. Kui antikehad viibivad juba veres, siis leiame kohe pärast korduvat antigeeni injektsiooni nende hulga kahanemist (negatiivne faas — WRIGHT), hiljemini leiame antikehade hulga kasvu (positiivne faas).

Antikehad leiduvad immuniseeritud organismi veres, koemahlades, ekssudaatides, sekreetides, kudedes ja organites. Antikehade pääsmine ema organismist lapse organismi on võimalik platsenta kaudu ja rinnapiimaga. Praktiliselt on tähtis silmas pidada, et antikehade viibimine organismis ei tähenda veel selle immuniteeti. Anti-

kehad on tunnistuseks vastava antigeeni viibimise üle organismis; nad näitavad, et organism on võitluses infitseeriva mikroobiga, kuna immuniteet oleneb peale antikehade veel paljudest teistest faktoritest. Antikehade viibimisel organismis ja nende uurimisel mitmesuguste bioloogiliste reaktsioonide abil on suur tähtsus arstiteaduses; nad võimaldavad infektsiooniliste haiguste kiiret äratundmist serodiagnoosi abil.

Antitoksiinid ja antifermendid.

Inimese ja looma organismil on omadus valmistada mikroobide, taimede ja loomade toksiinide toimel antitoksiini, mis vastavat toksiini neutraliseerib. BEHRINC ja KITASATO leidsid esimestena 1890. a., et teetanuse toksiiniga immuniseeritud looma vereseerum sisaldas teetanuse antitoksiini. Behring ja ROUX avastasid difteria antitoksiini ja näitasid, et kõik valk-olluse sarnased toksiinid võivad antigeenset toimet avaldada organismi peale, kuna lihtsa keemilise struktuuriga anorgaanilised ja orgaanilised mürgid seesugust toimet ei avalda. Põeb inimene või loom infektsioonilist haigust, mille tekitaja produtseerib suurel hulgal vaba toksiini (ektotoksiini), siis tekib organismis vastav antitoksiin. PFEIFFER arvab, et endotoksiinid ei tekita antitoksiini, kuid paljud teised autorid jätavad selle küsimuse lahtiseks. Kunstlikult võime põhjustada antitoksiinide tekkimist, kui me injitseerime organismi korduvalt toksiini, alates väikeste doosidega. Võtame mõne aja järel toksiiniga immuniseeritud looma vereseerumit või teisi koemahlu, segame neid teatavas proportsioonis vastava toksiiniga ja pritsime säärast segu immuniseerimata loomale organismi; me näeme, et sel korral ei avalda mürk enam toksilist toimet. Samasugust toksiini neutraliseerivat toimivust avaldab immuunne vereseerum in vivo. Kui me süstime loomale antitoksiini sisaldavat vereseerumit ja selle järel toksiini, või ümberpöördult — enne toksiini ja selle järel kohe antitoksiini, siis ei ole märgata toksiini mürgilist toimet.

Antitoksiinide keemiline iseloom on vähe tuntud. Antitoksiinid on vastupidavamad mitmesugustele toimetele kui toksiinid. Antitoksiini lahus kaotab oma spetsiifilise toimivuse 60—70° C. soojuses; kuivatatult kannatab antitoksiin 110° C. soojust $^1/_2$ tunni jooksul. Valgus, iseäranis rohelised ja sinised kiired, hapnik ja roiskumine kahandavad antitoksiini toimivust. Keemilistest ainetest avaldavad happed (iseäranis HCl) kõige pahemat toimet antitoksiinide peale. Antitoksiini spetsiifiline toimivus kahaneb seerumi vananemisega, mida silmas tuleb pidada antitoksilisi seerumeid tarvitades terapeutiliseks otstarbeks. Puhtalt ei ole antitoksiine veel saadud. Kas on antitoksiin valk-ollus või on ta ainult seotud valk-ollusega (globuliiniga), seda ei ole veel lõplikult kindlaks tehtud. Antitoksiine võib sadestada vereseerumist ühes valkudega ammooniumsulfaadi ja kloortsingi abil ning sel teel nende kontsentratsiooni märksa suurendada.

Antitoksiinid on spetsiifilised ja nad neutraliseerivad ainult immuniseerimiseks tarvitatud toksiini (FRAENKEL, BRIEGER, BEHRING, ROUX). Inimese ja looma normaalsest vereseerumist võib sagedasti

leida väikesel hulgal mitmekesiseid antitoksiine. WASSERMANN leidis, et 60% laste ja 80% täiskasvanud inimeste vereseerum sisaldab suuremal hulgal difteria antitoksiini. M. NEISSER tõendab, et ühe ja sama inimese vereseerum võib sisaldada mitmekesiseid antitoksiine. Normaalses vereseerumis viibivad antitoksiinid on sarnased kunstliku immuniseerimise teel saadud antitoksiinidega. Mõned (PFEIFFER, FRIEDBERGER) arvavad, et antitoksiinid on antigeense omadusega, kuna EHRLICH tõendab, et antitoksiinid on lihtsad antikehad ilma antigeense omaduseta. Kui me süstime antitoksiini organismi (passiivne immuniseerimine), siis eralduvad nad sealt kiiresti ja 3—6 nädala järel pole neid enam seal leida. Kiiret antitoksiinide kadumist organismist võib seletada sellega, et nad eralduvad uriiniga, piimaga ja teiste ekskreetidega või neid fikseerivad organid ja koed (PFEIFFER). Antitoksiinid lähevad platsenta kaudu ema organismist lootele üle, iseäranis siis, kui platsenta veresooned on vigastatud. EHRLICH, RÖMER ja MUCH näitasid, et antitoksiinid ema rinnapiimaga üle lähevad lapse organismi. Nad leidsid, et rinnalapse seedimiskanali seinte läbi pääseb antitoksiin verde; täiskasvanutel ei ole seda märgata.

Küsitav on, kuidas toimivad antitoksiin ja toksiin teineteise peale. BEHRING, KITASATO ja KNORR näitasid, et ainult teatav hulk antitoksiini in vitro võetud toksiinihulka neutraliseerib, mis neile põhjust andis oletada, et toksiin ja antitoksiin endid keemiliselt seovad. ARRHENIUS ja MADSEN leidsid, et toksiini ja antitoksiini ühinemisel vabaneb soojuse-energia, ja nad oletasid, et see protsess on analoogiline nõrga happe (boorhappe) ja nõrga aluse (ammoniaagi) liitumisega. Selle vastu räägivad aga järgmised nähtused: antitoksiin ei liitu toksiiniga kiiresti, vaid selleks on tarvis mitu tundi; kui me kurname antitoksiini ja toksiini segu esimese kahe tunni koosviibimise järel läbi želatiinkurna, siis läheb toksiin kiiresti läbi, kuna antitoksiin kurna peale jääb. Soendame antitoksiini ja toksiini segu 80° C. soojuses, siis muutub segu uuesti mürgiliseks. Ka organismis võib laguneda värskelt valmistatud toksiini ja antitoksiini segu ning selle järel uuesti mürgilist toimet avaldada. EHRLICH arvab, et antitoksiin liitub toksiini haptofoorse grupiga, kuna toksofoorne grupp vabaks jääb. Sel teel toksiin ainult inaktiveerub, kuid ei purune lõplikult. GROSSBERGER, SCHATTENFROH, BORDET j. t. vaatavad antitoksiinide ja toksiinide liitumise kui kolloidse reaktsiooni või füsikaalse liitumise peale. Toksiini neutraliseerumine vastava antitoksiini toimel sünnib in vivo otseteel, ilma et organism sellest osa võtaks. Uus ühendus toksiin + antitoksiin on organismile indifferentseks olluseks.

Mikroobide toksiinidega loomi aktiivselt immuniseerides on juba saadud järgmised antitoksiinid:

1) Difteria antitoksiin, kui üks aktiivsemaist antitoksiinidest.

2) Teetanuse antitoksilise seerumi valmistamiseks tarvitatakse immuniseerimiseks b. tetani ektotoksiini.

3) Botulismi antitoksilise seerumi saamiseks immuniseeritakse loomi b. botulinus'e ektotoksiiniga. OTTO ja SACHS'i uurimiste järele liitub botulismi antitoksiin pikkamisi toksiiniga.

4) Düsenteria antitoksiini saame, kui looma immuniseerime peaasjalikult Shiga-Kruse batsillide ektotoksiiniga. Samaks otstarbeks tarvitatakse sagedasti nendest mikroobidest valmistatud vaktsiini.

5) Gaasi gangreeni antitoksilise seerumi saamiseks immuniseeritakse loomi väga mitmekesiste mikroobide produtseeritud toksiiniga (b. oedematis maligni, b. capsulatus aerogenes, b. perfringens jne.).

Uuemad uurimused on näidanud, et peale ülaltähendatud mikroobide produtseerivad veel paljud teised patogeensed mikroobid toksiine, milledega kunstliku immuniseerimise abil võib saada antitoksilist seerumit (vibrio cholerae asiaticae, b. typhi, meningococcus, b. pyocyaneus jne.).

Paljud taimed ja loomad produtseerivad antigeense omadusega toksiini, millega looma võib aktiivselt immuniseerida. Taimede toksiinidest (fütotoksiinid) on tuntud järgmised: ritsiin'i (ricinus communis) antitoksiin neutraliseerib toksiini in vivo ja in vitro (EHRLICH), abriin'i (abrus precatorius) antitoksiin — antiabriin (RÖMER), krotiin'i (croton tiglium) antitoksiin, heinatolmu ja robiin'i antitoksiin.

Loomade toksiinidest (zootoksiinid) on tuntud järgmised, mis immuniseerimise järel antitoksiini tekitavad: ämbliku, skorpioni, mesilaste, kaani, kärnkonna, angerja ja salamandrite mürgid. Need kujutavad harilikult mitme toksiini segu; seepärast sisaldavad ka vastavad immuunseerumid mitmekesiseid antitoksiine. Praktiliselt pakuvad suuremat huvi mitmekesised madude toksiinid (cobra, viper j. t.). Need toksiinid sisaldavad ergutoksiini (neurotoksiin), veretoksiini (hemotoksiin) ja mitmekesiseid teisi toksiine. Loomade immuniseerimiseks peab nende toksiinide toimet alguses mitmel viisil nõrgestama (75° C. temperatuuris soendama, 1% kloorkulla lahust juurde lisama), vastasel korral surmavad nad looma (Phisalix, Bertrand, Calmette). Need antitoksilised seerumid neutraliseerivad vastavat toksiini in vivo ja in vitro.

Antifermendid. Toksiinidega on ligidalt sugulased oma bioloogilise struktuuri poolest mitmekesised fermendid. Immuniseerimise teel on kõrgeväärtusliste antifermentide saamine seotud suurte raskustega. Praegusel ajal on immuun-antifermentidest tuntud: antilaapferment, antitrüpsiin, antifibriinferment, antipepsiin, antisteapsiin, antilaktaas, antiureaas, antitürosinaas ja mõned teised Suuremat huvi pakub nendest antitrüpsiin.

JOCHMANN, MÜLLER ja LEBER leidsid, et 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 (MARCUS, BRIEGER ja TREBING). Vereseerumis leidub rohkesti antifermenti tuberkuloosi, malaaria, vähitõve ja Basedow'i haiguse puhul. Mida rohkem laguneb organismis rakkusid, seda enam vabaneb fermenti, mis kui antigeen põhjustab antifermendi tekkimist. Antitrüpsiini hulk vereseerumis võib olla mõõdupuuks koerakkude lagunemisele organismis. Normaalses vereseerumis leidub ka antitrüpsiini, kuid vähesel määral.

Vereseerumi antitrüptilist omadust võib ära määrata mitmel viisil. MARCUS võttis selleks katseks Löffleri söötme Petri kaussidel (koaguleerunud vereseerum), laskis seda seista toasoojuses 5—6 päeva, et võimalust anda kondensatsioonivee ära-auramiseks ja seerumi enese antitrüptilise toime kadumiseks. Uuritav vereseerum võetakse hommikul enne toidu tarvitamist, mis külmas kohas kauema aja jooksul alal hoiab oma antitrüptilise toimivuse. Trüpsiinist (KAHLBAUM) valmistatakse 1% vee emulsioon, mida uuritava vereseerumiga järgmistes proportsioonides segatakse: 1 osa seerumit + 1, 2, 3, 4, 5, 6 jne. osa trüpsiini emulsiooni. Nendest lahustest võetakse üks tilk igaühest Löffleri söötme pinnale ja lastakse seista 8—10 tundi 50° C. soojuses. Nendes tilkades, millede all seerumi seedimise tagajärjel lohukesed tekivad (söötme sulamine), asub vaba trüpsiin, mida antitrüpsiin ei neutraliseerinud. Normaalne vereseerum ei anna seedimist harilikult kuni 5 osa trüpsiinini, see tähendab, et normaalseerumi antitrüptiline tiiter on 1 : 5. Sisaldab uuritav vereseerum rohkem antitrüpsiini, siis saame 1 : 6—1 : 12 ja veel kõrgema tiitri. Löffleri söötme asemel võib tarvitada piima ja agaari segu (2 osa piima + 1 osa 3% agaari — MANDELBAUM).

Peale MARCUS'e katse tarvitatakse GROSS-FULDA, MINZ'i ja teiste poolt väljatöötatud meetodeid, mis annavad täpsama resultaadi.

Gross-Fulda meetod: Reagentsideks on tarvilikud: 1) Kaseiinilahus: 1 gr puhast kaseiini lahustatakse kerge soendamise abil 100 sm³ n/10NaOH-lahuses, neutraliseeritakse lakmusepunktini n/10HCl-lahusega ja lisatakse juurde kuni 500 sm³ 0,85% NaCl-lahust, keedetakse ja hoitakse külmas kohas. Steriliseeritult võib seda segu alal hoida kauema aja jooksul. 2) Trüpsiinilahus: 0,5 gr trypsinum purissimum'ist valmistatakse emulsioon 50 sm³ 0,85% NaCl-lahuses, lisatakse juurde 0,5 gr normaalset soodalahust ja 0,85% NaCl-lahust kuni 500 sm³. Steriilselt alalhoidmiseks lisatakse segule juurde mõni tilk kloroformi. 3) Äädikhappe-lahus: 5 sm³ acid. acetic. glacial. + 45 sm³ alkoholi 90° + 50 sm³ aq. destill.

Alguses titreeritakse trüpsiini toimet. Selleks võetakse 6—8 prooviklaasi suurenevates doosides 0,1—0,8 sm³ trüpsiini emulsiooni, lisatakse juurde kuni 1 sm³ füsioloogilist lahust ja 2 sm³ kaseiinilahust. Segu lastakse seista 1/2 tunni jooksul 37° C. soojuses termostaadis. Selle järel valatakse igale klaasile ettevaatlikult juurde klaasi seina pidi ülaltähendatud äädikhappe-lahust. Nendes prooviklaasides, kus viibib alles seedimata kaseiin, tekib hägune valkjas rõngas. Seda trüpsiinihulka, kus seesugust rõngast enam ei teki, nimetatakse trüpsiini tiitriks. Pärast säärast eelkatset toimetatakse vereseerumi uurimist. Uuritavat vereseerumit lahjendatakse 50 korda füsioloogilise lahusega, sellest valatakse prooviklaasidesse (10—12 klaasi) 0,5 sm³ igaühte. Igale prooviklaasile lisatakse juurde suurenev doosis 0,4—1,5 sm³ trüpsiini-emulsiooni, 2 sm³ kaseiinilahust ja füsioloogilist lahust kuni 4 sm³, loksutatakse segi ja hoitakse 1/2 tundi termostaadis 37° C. soojuses. Selle järel lisatakse igale prooviklaasile juurde mõni tilk (5—6 tilka) äädikhappe-lahust. See viimane segu, kus tekib veel valkjas rõngas, näitab seerumi antitrüptilist tiitrit.

Bakteriolüsiinid.

Bakteriolüsiinideks nimetatakse niisuguseid antikehasid, mis tekivad bakteritega immuniseeritud organismis ja millede toimel sulavad (bacteriolysis) vastavad mikroobid lühema või pikema aja jooksul. Pärast koolera ja tüüfuse põdemist ei ole organismis harilikult leida antitoksiinisid, kuid nende isikute värske vereseerum sulatab kooleravibrioone ja tüüfusebatsille. Kui me immuniseerime inimest või looma surmatud mikroobidega, siis leiame samasuguseid antikehasid vereseerumis ja koemahlades. PFEIFFER leidis esimesena 1894. a. bakteriolüsiini koolera vastu immuniseeritud looma vereseerumis.

Süstime koolera vastu immuniseeritud meriseale kõhukoopasse elusaid kooleravibrioone (1 aasatäis kultuuri + 1 sm^3 puljongi), võtame iga 10 minuti järel peene klaastorukesega kõhukoopast ühe tilga mahla ja uurime seda rippuvas tilgas mikroskoobi all. Me näeme, et vibrioonid, mis alguses elavalt liikusid, jäävad seisma ja transformeeruvad kuulisarnasteks teradeks. Hiljemini näeme, et need kuulikesed ära sulavad ja vaateväljalt täielikult kaovad. $^1/_2$—1 tunni järel ei ole vibrioone enam näha. Säärast vibrioonide sulatamist toimetab rakkudest vaba kõhukoopa-mahl, ilma et selle juures fagotsüüdid otsekohe tegevad oleksid. Immuniseeritud merisiga jääb selle katse järel ellu. Kontroll-merisiga, mille kõhukoopasse injitseeriti sama hulk kooleravibrioone, sureb lühema või pikema aja jooksul ja tema kõhukoopa-mahlas leiduvad liikuvad kooleravibrioonid. Samasugust vibrioonide sulamisprotsessi võime tähele panna, kui immuniseerimata meriseale kõhukoopasse süstime kooleravibrioone ühes koolera vastu immuniseeritud organismi vereseerumiga: 1 aasatäis vibrioone segatult 1 sm^3 puljongiga + 1 sm^3 100—300 korda lahjendatud immuunseerumit. PFEIFFER ja KOLLE leidsid, et ka normaalne vereseerum sisaldab bakteriolüsiini, kuid vähesel määral.

METŠNIKOV ja BORDET näitasid, et bakteriolüüsi võib saavutada in vitro, kui segada kooleravibrioone vastava värske immuunseerumiga. Bordet (1895) leidis, et säärane immuunne vereseerum kaotab oma lüütilise omaduse, kui ta mõne päeva seisab ehk kui teda hoida $^1/_2$ tunni jooksul 56° C. soojuses. Immuunseerum muutub inaktiivseks ja reaktiveerub uuesti, kui sellele juurde lisame värsket normaalset vereseerumit (kõige parem on merisea seerum).

PFEIFFER'i ja BORDET' katsete põhjal tekkis üldine arvamine, et immuunseerumi bakteriolüütiline omadus oleneb kahest elemendist: 1) soojusele vastupidavast (termostabiilsest) immuunkehast (substance sensibilisatrice — BORDET, ambotseptor — EHRLICH, fiksaator — METŠNIKOV, preparaator — GRUBER, desmon — LONDON, koopula — MÜLLER) ja 2) värskes vereseerumis viibivast soojuse toimele vähe püsivast (termolabiilsest) ollusest (aleksiin — BUCHNER, tsütaas — METŠNIKOV, komplement — EHRLICH).

Bakteriolüüs oleneb nende kahe substantsi kombineeritud tegevusest. Bakteriolüütiline ambotseptor ei sulata iseseisvalt mikroobe, kuid valmistab neid sulamiseks ette (sensibiliseerib). Ainult komplemendi juurdeliitmine viib bakteriolüüsiprotsessi lõpule. Kui segame

mikroobid inaktiveeritud bakteriolüütilise seerumiga ja peseme nad pärast puhtaks seerumist, siis näeme, et mikroobid jäävad sensibiliseerituks komplemendi toimele. See katse tõendab, et bakteriolüütiline ambotseptor on seotud mikroobi rakkudega.

Bakteriolüütilise ambotseptori tekkimise koha üle organismis ei ole veel lõplikule selgusele jõutud. PFEIFFER, MARX ja WASSERMANN arvavad, et see tekib põrnas, kondiüdis ja lümfinäärmeis. Nende kudede ekstraktides võib immuniseerimise järel varemini bakteriolüsiini leida kui veres.

METŠNIKOV arvab, et ambotseptorit valmistavad valged verelibled. WASSERMANN ja CITRON leidsid ambotseptori mikroobide injektsiooni kohal ja arvavad, et teda produtseerivad mitmekesised koerakud. Ambotseptoris näeb PFEIFFER rakkude spetsiifilist sekreeti, mis tekib spetsiifilise ärrituse tagajärjel. Ambotseptori keemiline iseloom ei ole teada. Tema antigeenne omadus lubab oletada, et ta suguluses seisab valkudega (globuliiniga, euglobuliiniga) (PICK). PFEIFFER ja PROSKAUER arvavad, et bakteriolüütiline ambotseptor kuulub fermentide hulka. Ambotseptor ei dialüseeru, kannatab 60° C. soojust kauema aja jooksul ja kaotab oma toimivuse ühe tunni jooksul 70° C. soojuses. Happed, leelised ja jood purustavad teda kiiresti, roiskumisele on ta väga vastupidav. Bakteriolüsiini on võimalik saada kunstliku immuniseerimise järel mitmekesiste mikroobidega: vibrio cholerae asiaticae, b. typhi, b. coli, b. pyocyaneus, b. pestis jne.

PFEIFFER pidas bakteriolüütilist ambotseptorit täielikult spetsiifiliseks, millega nõus ei ole paljud teised autorid (DUNBAR, LÖFFLER, ABEL jne.). PETERSON tunnistab selle osalist spetsifiteeti. Kõigi arvamiste peale vaatamata on PFEIFFER'i fenomen (bakteriolüüsis in vivo ja in vitro) üks tähtsamaist spetsiifilistest bioloogilistest reaktsioonidest mikroobide differentseerimiseks. Bakteriolüüsi katseteks peab tarvitama kõrge tiitriga immuunseerumit ja virulentseid mikroobe, sest avirulentsete mikroobide peale toimib ka normaalne vereseerum sulatavalt.

PFEIFFER'i katset tarvitatakse kaheks otstarbeks: 1) tuntud bakteriolüütilise seerumi abil uuritava mikroobi äratundmiseks ja 2) tuntud mikroobide abil spetsiifiliste bakteriolüsiinide otsimiseks vereseerumis. Näiteks vibrio cholerae asiaticae äratundmiseks toimetatakse järgmiselt:

I meriseale (250 gr) süstitakse normaalse aasa täis (2 mgr) 18-tunnilist agaarikultuuri suspensioonina 1 sm^3 puljongis kõhukoopasse. Kui siga sureb 24 t. jooksul, siis on kultuur katseks küllalt virulentne.

II meriseale süstitakse sama hulk vibrioone, millele 50 korda rohkem normaalset vereseerumit juurde lisatakse, kui katseks bakteriolüütilist seerumit tarvis oli. Sureb selle järel siga, siis ei avalda normaalne seerum vibrioonide peale bakteriolüütilist toimet. Et aga looma surma ootamine kaua aega nõuab, siis võib kultuuri virulentsi ja normaalse seerumi toime üle otsustada, kui me kõhukoopa-mahla uurime: leiame 20—60 minuti järel pärast injektsiooni kõhukoopa-mahlas palju liikuvaid vibrioone, siis on kontrollid I ja II katseks maksvad.

Peakatseks süstitakse III ja IV meriseale kõhukoopasse 1 normaalse aasa täis vibrioonide kultuuri suspensioonina puljongis, millele juurde lisatakse spetsiifilist bakteriolüütilist vereseerumit: III merisea tarvis 5-kordne tiiter (s. o. 5-kordne seerumihulk, mis ühe normaalse aasa täie vibrioone ära sulatab) ja IV sea tarvis 10-kordne tiiter (näiteks, 1 mgr ja 2 mgr). Võtame klaaspipetiga korduvalt kõhukoopa-mahla ja kui 20—60 min. jooksul tekivad vibrioonidest kuulikeste sarnased kehad, mis lõpuks ära sulavad, siis vastab uuritav kultuur võetud spetsiifilisele bakteriolüütilisele seerumile. Loom jääb seesugusel korral ellu. Ei vasta mikroobid võetud immuunseerumile, siis saame III ja IV meriseast sama pildi, mis leidsime II merisea kontrollimisel.

Injektsiooniks ja kõhukoopast ekssudaadi võtmiseks lõigatakse merisea kõhunahk kääridega muskliteni läbi ja tungitakse tõntsi otsaga peene klaaspipetiga kõhukoopasse.

Kui PFEIFFER'i katset tarvitatakse b. typhi differentseerimiseks, siis peab kõhukoopa-mahla võtma uurimiseks 2—3 tunni järel, sest b. typhi ei sula nii kiiresti kui vibrioonid.

Spetsiifiliste bakteriolüsiinide otsimiseks haige vereseerumis süstitakse kahele meriseale kõhukoopasse (250 gr) 1 normaalse aasa täis kahtluse alla tulevate mikroobide kultuuri suspensioonina puljongis, kus ühele suspensioonile 10 mg, teisele 50 mg uuritavat seerumit juurde lisatakse. Kolmandale seale süstitakse mikroobid ilma vereseerumita. Kui selle järel on leida Pfeiffer'i fenomen, siis vastab uuritava seerumi bakteriolüsiin võetud mikroobidele.

Pfeiffer'i fenomeni katsed loomadega on küll spetsiifilised, kuid nad on seotud mitmesuguste raskustega; sellepärast tarvitatakse praktiliselt sama katset in vitro. METŠNIKOV ja BORDET toimetasid seda järgmiselt: Näiteks, kui soovitakse teada saada seerumi bakteriolüütilist toimet kooleravibrioonide peale, siis võetakse 1 aasatäis vibrioonide kultuuri ja valmistatakse sellest suspensioon 1 sm^3 puljongis. Võtame ühe tilga vibrioonide suspensiooni, lisame juurde ühe tilga inaktiveeritud uuritavat seerumit lahjendatult füsioloogilise lahusega 1:10, 1:100 ja 1:1000 ja ühe tilga merisea värsket vereseerumi lahust 1:10, segame segi ja uurime saadud segu rippuvas tilgas. Kui uuritav seerum sisaldab koolera bakteriolüsiini, siis leiame 30—60 minuti järel esmalt vibrioonide kokkukleepumist (agglutinatsiooni), siis nende kuulikesteks muutumist ja lõpuks vibrioonide sulamist. Kui aga seerum ei sisalda spetsiifilist bakteriolüsiini, siis näeme segus liikuvaid vibrioone. Reaktsiooni käik on kõige kiirem 37° C. soojuses.

NEISSER ja WECHSBERG tarvitasid bakteriolüüsikatse korral mikroobide lugemist: 1 sm^3 mikroobide suspensioonile ($^1/_{1000}$—$^1/_{5000}$ aasatäit 24-tunnilist kultuuri) 0,85% NaCl-lahuses lisatakse juurde 1 sm^3 inaktiveeritud uuritavat seerumit, lahjendatult füsioloogilises lahuses 1:100, 1:1000 ja 1:10000, ja 1 sm^3 merisea värsket seerumit (komplementi), lahjendatult 1:10. Segu lastakse 3—5 tundi seista 37° C. soojuses. Pärast seda võetakse igast segust teatav hulk (0,1—0,5 sm^3), segatakse segi sula agaarisöötmega (45° C.), valatakse Petri kaussi-

desse laiali, lastakse kasvada 37° C. soojuses 24—48 tundi ja loetakse ära mikroobide pesad. Kontrolliks tehakse sama katse normaalse seerumiga. Kui uuritav seerum sisaldas spetsiifilist bakteriolüsiini, siis leiame katsekausist palju vähema hulga mikroobide pesasid kui kontrollikausist. Täieliku bakteriolüüsi korral ei ole katsekausist leida ühtegi mikroobipesa. STERN ja KORTE tarvitasid seesugust meetodit typhus abdominalis'e diagnoosiks.

Bakteriolüütilise ambotseptori uurimist võib toimetada BORDET GENGOU reaktsiooniga (komplemendi fikseerimise reaktsiooniga), millest allpool pikemalt kuuleme.

Samuti kui teised antikehad (agglutiniinid, pretsipitiinid), ei ole bakteriolüütiline ambotseptor absoluutselt spetsiifiline. WIDAL ja tema õpilased näitasid kosensibilisatsioonifenomeni mükooside juures: sporotrihoosi immuunseerum sensibiliseerib sporotrichum Beurmanni kultuuri, kuid kosensibiliseerib ka aktinomükoosi kultuuri. PFEIFFER leidis kitsede, hobuste, jäneste, inimeste ja merisigade normaalses vereseerumis b. typhi ja vibrio cholerae lüütilist ambotseptorit. Pfeiffer ja FRIEDBERGER tulid otsusele, et normaalne seerum sisaldab harilikult mitmekesiseid spetsiifilisi bakteriolüsiine. Spetsiifiliste bakteriolüsiinide kõrval leiduvad normaalses seerumis ka kosensibilisiinid ehk grupi bakteriolüsiinid, mis sulatavad mitmesse liiki kuuluvaid mikroobe.

Immuunhemolüsiinid.

Immuunhemolüsiiniks nimetatakse säärast antikeha, mis tekitab erütrotsüütide sulamist (haemolysis). Hemolüsiini avastas BORDET 1898. a. ja näitas, et see koostub, niisama kui bakteriolüsiin, kahest komponendist, ambotseptorist ja komplemendist. Hemolüsiini leiame sagedasti normaalses vereseerumis — normaalhemolüsiinid. Kui me injitseerime loomale võõraid erütrotsüüte, siis tekivad tema veres spetsiifilised hemolüsiinid. Pritsime näiteks jänesele verde oina erütrotsüüte, siis tekivad hemolüsiinid, mis sulatavad ainult oina ja lamba erütrotsüüte. Immuniseerimise teel saadud hemolüsiine nimetatakse immuunhemolüsiinideks. Hemolüsiinid annavad harilikult grupi reaktsiooni, see tähendab, ühe looma erütrotsüütidele spetsiifilised hemolüsiinid sulatavad osalt ligemas suguluses seisva looma erütrotsüüte. Näiteks inimese erütrotsüütide hemolüsiinid sulatavad ka, kuid nõrgemalt, ahvi erütrotsüüte. Spetsiifilisi hemolüsiine viibib immuunseerumis rohkem kui grupi hemolüsiine.

Hemolüsiinid on termostabiilsed, nad kannatavad pikema aja jooksul 56—58° C. soojust. Normaalhemolüsiinid on vähem püsivad kui immuunhemolüsiinid (NEISSER, SACHS). Hemolüütiline ambotseptor on tegev ainult ühes komplemendiga. Värske spetsiifiline seerum sisaldab niihästi ambotseptorit kui ka komplementi. Laseme hemolüütilise seerumi seista mõne päeva või soendame teda $^1/_2$ tundi 56° C. soojuses (inaktiveerime), siis ei avalda ta enam hemolüütilist toimet. Lisame inaktiveeritud seerumile juurde värsket merisea seerumit (komplementi), siis muutub ta jälle aktiivseks. Asuvad erütrotsüüdid

koos spetsiifilise inaktiveeritud hemolüsiiniga, siis sensibiliseerib ambotseptor erütrotsüüte. Me võime nüüd erütrotsüüdid eraldada seerumist ja neid koguni pesta füsioloogilise lahusega, kuid selle peale vaatamata järgneb hemolüüs, kui neile juurde lisame komplementi. Erütrotsüütide, spetsiifilise ambotseptori ja komplemendi ühendust nimetatakse hemolüütiliseks süsteemiks.

Külmas (0—3° C.) liitub küll hemolüütiline ambotseptor erütrotsüütidega, kuid komplement jääb vabaks. Viimane liitub ambotseptoriga ja algab hemolüütilist tegevust ainult 15—37° C. soojuses. Kõige soodsam on hemolüütilisele protsessile 37° C. soojus. Hemolüüsi mehhanism ei ole veel lõplikult teada. EHRLICH ja MORGENROTH tõendavad, et ambotseptor liitub ühest küljest erütrotsüütidega, teisest küljest komplemendiga. Kui lisame erütrotsüütidele juurde merisea värsket vereseerumit (komplementi), laseme segu seista, lahutame erütrotsüüdid tsentrifugeerimise teel seerumist, siis näeme, et erütrotsüütidele juurdelisatud inaktiveeritud hemolüütiline seerum ei tekita hemolüüsi. Sellest näeme, et komplement ei liitu otseteel erütrotsüütidega.

NEISSER ja WECHSBERG leidsid, et kontsentreeritud hemolüütilise ambotseptori lahus toimib sagedasti nõrgemalt kui keskmise kontsentratsiooniga lahus. Seda nähtust nimetatakse komplemendi kõrvalekaldumiseks (Komplementablenkung).

EHRLICH ja MORGENROTH arvavad, et komplemendil on suurem affiinsus vabale ambotseptorile kui erütrotsüütidega seotud ambotseptorile. Kui ambotseptorit võetakse rohkem kui antigeen suudab fikseerida, siis liitub komplement kiiresti vaba ambotseptoriga ja teda ei jätku selle ambotseptori tarvis, mis on seotud antigeeniga. Komplemendi kõrvalekaldumise nähtust leiame ka bakteriolüsiinidel.

Hemolüütilise ambotseptori valmistamist toimetatakse järgmiselt: antigeeniks võetakse harilikult oina erütrotsüüdid. Samaks otstarbeks võib tarvitada härja, kitse jne. erütrotsüüte. Inimese erütrotsüütide abil on hemolüsiini saamine sagedasti raskustega seotud. Oinal võetakse verd harilikult kaela suurest tõmbsoonest (v. jugularis). Selleks pöetakse kaela alumine osa puhtaks, nahk desinfitseeritakse alkoholiga, tõmbsoon litsutakse rinnakondi juures sõrmega kinni, pundunud veeni torgatakse steriilne nõel, mille läbi veri steriilsesse prooviklaasi lastakse. Oinas ei tohi liiga noor olla (1—2 a.), ka ei tohi verd sagedasti ühest ja samast loomast võtta, sest siis muutuvad tema erütrotsüüdid nõrgaks ja sulavad juba 0,85% NaCl-lahuses. Veri kogutakse kolbi, kus on klaaspärlid, ja defibrineeritakse kerge loksutamise teel 5—10 min. jooksul. Tsentrifugeerimise teel vabastatakse erütrotsüüdid seerumist ja neid pestakse 2—3 korda puhtaks seerumist 0,85% NaCl-lahusega. Pärast viimast tsentrifugeerimist eraldatakse vedelik ja erütrotsüütide sademele lisatakse juurde 0,85% NaCl-lahust niipalju, kui alguses oli verd; säärane suspensioon sisaldab erütrotsüüte samas kontsentratsioonis kui võetud veri. Pestud erütrotsüüte ehk nendest valmistatud suspensiooni võib 0,85% NaCl-lahuses mõne päeva jooksul jääkapis alal hoida, ja enne immuniseerimist peab neid uuesti pesema. Erütrotsüütide kauemaks alalhoidmiseks (20—30 päeva) soovi-

tatakse neile formaliini juurde lisada: 1 sm^3 pestud erütrotsüüte + 0,1 sm^3 2% formaliini.

Hemolüütilise ambotseptori saamiseks immuniseeritakse harilikult jänest: 1) Kõhukoopasse süstitakse pestud erütrotsüüte: esimesel päeval 5,0, teisel 10,0 ja kolmandal 15,0 sm^3 (kiire meetod). 2) Kõhukoopasse süstitakse 20,0 pestud erütrotsüüte, ning 4—8 päeva hiljemini veel kord 30,0 sm^3. 3) Kõrvaveeni süstitakse iga 4—6 päeva järel 1,5—2,5 sm^3 pestud erütrotsüüte 2—3 korda. Verde süstides peab hoolega valvama, et õhk süstlast ühes erütrotsüütidega verde ei pääse, mis looma võib kiiresti surmata. Niihästi erütrotsüütide pesemist kui ka jänesele injitseerimist peab steriilselt toimetama. Esimesi injektsioone kannab jänes harilikult hästi ära, kuna kolmas ja järgnevad süstimised talle hädaohtlikud on (anaphylaxia). 5—6 päeva pärast viimast erütrotsüütide injektsiooni proovitakse iga päev jänese seerumi hemolüütilist toimet. Kõlvuline on ainult kõrge tiitriga (1 : 3000) hemolüütiline seerum.

Immuniseeritud jänesest vere võtmiseks vabastatakse aseptiliselt a. carotis, lõigatakse see pooleks ja veri lastakse steriilsesse kolbi, kus seerum pärast vere hüübimist vabaneb. Vereseerum eraldatakse, inaktiveeritakse $^1/_2$ tundi 56° C. soojuses veevannis. Hemolüütilise seerumi alalhoidmiseks võib sellele 0,5% karboolhapet juurde lisada ehk seerumi ära kuivatada. Selleks valatakse seerum õhukese kihina suurtesse Petri kaussidesse ja kuivatatakse termostaadis 37° C. soojuses. Vedela hemolüütilise seerumi alalhoidmiseks mahutatakse seda ampullidesse, mille otsad kinni joodetakse. Säärasel korral ei kaota hemolüütiline seerum oma toimivust kauema aja jooksul.

Hemolüütilise seerumi tiitri kindlaksmääramiseks segatakse seda mitmekesisel hulgal teatava hulga komplemendi ja erütrotsüütidega. BORDET soovituse järele tarvitatakse oina erütrotsüütide 5% suspensiooni 0,85% NaCl-lahuses. Komplemendiks tarvitatakse merisea värsket vereseerumit. Merisea seerumit (komplementi) lahjendatakse (1 : 10) 0,85% NaCl-lahusega. Hemolüütiline seerum (ambotseptor) lahjendatakse 0,85% NaCl-lahusega 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 1500, 1 : 2000, 1 : 2500, 1 : 3000 jne. Igast lahusest võetakse 1 sm^3 prooviklaasi, lisatakse juurde 2 sm^3 0,85% NaCl-lahust, segatakse segi, mahutatakse termostaati 37° C. soojusse 1 tunniks, pärast seda lastakse veel seista 12 tundi jääkapis ja vaadatakse resultaate. Kontrolliks võetakse erütrotsüüdid ühes prooviklaasis ainult ambotseptoriga, teises ainult komplemendiga ja kolmandas ainult 0,85% NaCl-lahusega, kus hemolüüs ei tohi ilmuda. Ilmub aga ühes või teises kontrollis hemolüüs, siis peab mittekõlvulise komponendi kõrvaldatama ja uus võetama. Kõige väiksem hulk hemolüütilist seerumit (ambotseptorit), mis tähendatud tingimustes täielikku hemolüüsi tekitab, nimetatakse hemolüütilise seerumi tiitriks. Hemolüütilise ambotseptori titreerimist näitab järgnev tabel:

Prooviklaas nr.	5% erütrots. suspensiooni	ambotseptorit	komplementi 1:10	0,85% NaCl.	result.
1.	1 sm³	1 sm³ 1:100	1 sm³	2 sm³	++++
2.	1 „	1 „ 1:500	1 „	2 „	++++
3.	1 „	1 „ 1:1000	1 „	2 „	++++
4.	1 „	1 „ 1:1500	1 „	2 „	++++
5.	1 „	1 „ 1:2000	1 „	2 „	+++
6.	1 „	1 „ 1:2500	1 „	2 „	++
7.	1 „	1 „ 1:3000	1 „	2 „	0
8. Kontrollid.	1 „	1 „ 1:100	—	3 „	0
9. Kontrollid.	1 „	—	1 sm³	3 „	0
10. Kontrollid.	1 „	—	—	4 „	0

(++++) tähendab täielikku hemolüüsi, klaasi põhjas sadet ei ole, vedelik punane, läbipaistev; (+++) tähendab selget hemolüüsi, põhjas väike sade, vedelik vähe hägune; (++) tähendab mittetäielikku hemolüüsi, punane sade, vedelik hägune; (0) tähendab, et hemolüüs puudub täielikult, palju punast sadet, pealmine vedelik värvitu.

Tabelist näeme, et 1:1500 peale lahjendatud ambotseptor annab täielise hemolüüsi, mida selle seerumi hemolüütiliseks tiitriks tuleb lugeda.

Mittespetsiifilist hemolüüsi tekitavad väga mitmesugused ollused: happed, leelised, ritsiin, abriin, krotiin, robiin, tetanolüsiin, stafülolüsiin, koolera toksiin, skorpioni toksiin jne. Sääraseid olluseid ei tohi mingil tingimusel hemolüütiliseks ambotseptoriks lugeda; neid nimetatakse hemotoksiinideks.

Proteolüsiinid ja tsütolüsiinid.

Ülal kuulsime, et valk-ollused mikroobide ja erütrotsüütide näol tekitavad organismis spetsiifilist fermenti (lüsiin), mis neid rakke sulatab. Proteolüsiinid tekivad organismis, kui looma immuniseeritakse mitmekesiste rakkude suspensiooniga: seemnerakkudega, leukotsüütidega, epiteelrakkudega, neeru-, maksa-, põrna-, ergurakkudega jne. Lüsiine, mida võib saada kõiksuguse koe rakkudega immuniseerimise teel, nimetatakse tsütolüsiinideks ehk tsütotoksiinideks. Need antikehad on spetsiifilised ja avaldavad oma tegevust koos komplemendiga. Neil on antigeensed omadused ja nad tekitavad immuniseerimise järel antitsütolüsiine. Tsütolüsiine on leitud ka normaalsest vereseerumist.

Seemnerakkudega immuniseerimise teel võib saada vereseerumi, mis nende iseloomuliku liikumise in vitro kiiresti seisma jätab.

WEICHARDT leidis esimesena, et mitte ainult formeeritud valgud (rakud), vaid ka kõiksugused valgud võivad tekitada immuniseerimise teel spetsiifilisi antikehasid, mis toimetavad valgu seedimist (sulamist). Ta näitas, et valgust vabanevad vastava antikeha toimel 37° C. soojuses mürgilised ollused. Weichardt seletab, et proteiinide mürgid on eklampsia põhjuseks raskejalgsuse aegu.

Komplement.

Komplemendiks nimetatakse niisugust ollust, mis asub vähemal või suuremal hulgal inimese ja loomade organismi vedelikkudes ja mis aktiveerib paljude immuunkehade tegevust. Komplement viibib peaasjalikult vereseerumis, vähem ekssudaatides, transsudaatides, seljaaju-vedelikus, rinnapiimas jne. Kõige rohkem komplementi leidub merisea värskes vereseerumis. Kunstlikult ei ole võimalik suurendada komplemendi hulka organismis; seda hulka kahandavad kõik need faktorid, mis organismi nõrgestavad (mürgistus, nälgimine, mädarikud, rasked haigused jne.). Uurimused näitavad, et komplement on suguluses valkudega. FERRATA, BROWNING j. t. leidsid, et komplement seisab koos kahest komponendist, mida võib teineteisest lahutada dialüüsi, soolhappe, süsihapu gaasi ja $MgSO_4$ abil. Küllastame in vitro merisea vereseerumit $MgSO_4$-ga, siis sadestub ühes globuliinidega keskosa (Mittelstück), kuna teine komponent — lõpptükk (Endstück) jääb ühes albumiinidega lahusesse. Euglobuliinid on keskosa funktsiooni kandjaks, kuna pseudoglobuliinid kannavad lõpposa funktsiooni. LIEFMANN, LANDSTEINER, RITZ, OMOROKOW j. t. leidsid, et komplemendil on veel kolmas komponent, mis on ühenduses globuliini fraktsiooniga.

Komplement on termolabiilne. 55—56° C. soojus inaktiveerib teda 30 minuti jooksul. Külma verega loomade komplementi inaktiveerib 45—48° C. soojus 20 min. jooksul. Inaktiveerivat toimet avaldavad komplemendi peale päikesevalgus, ultravioletsed kiired, happed, leelised, fermendid, pankreatiin, kobra toksiin ja kestev seerumi loksutamine. Mõned soolad (NaCl, $MgSO_4$) võivad komplemendi aktiivsust alal hoida mitme päeva jooksul (konserveerimine). Paljud ained on antikomplementaarse toimega (koe elemendid, bakterite suspensioonid, glükogeen, peptoon, želatiin, tuberkuliin, formaliin, süsi, kaoliin, liiv, kriit, alkaloidid jne.). Kui lisame neid juurde komplementi sisaldavale vereseerumile, siis kaob sellest komplement.

BUCHNER'i arvates ou komplement leukotsüütide elutegevuse produkt. METŠNIKOV tõendab, et ta tekib leukotsüütide lagunemise tagajärjel.

Komplemendi tegevuse mehhanismi üle on olemas mitmesugused arvamised. EHRLICH võrdleb seda fermendi tegevusega ja oletab komplemendi kahte gruppi: haptofoorne grupp, mis liitub ambotseptoriga, kuna tsümofoorne grupp on tegev lüüsise tekkimises. SCHELLERS

võrdleb komplemendi toimet katalüsaatorite omaga. Kahtlemata on komplemendi toimel sarnasus füüsiko-keemiliste ilmetega ja võib-olla suudab kolloidide keemia selgitust tuua sellel alal. Komplement ei liitu otseteel mikroobi või teiste rakkudega, ta liitub ainult pärast seda, kui ambotseptor on nendega juba liitunud.

Komplemendiks tarvitatakse harilikult merisea värsket vereseerumit. Enne vere võtmist ei anta seale mõne tunni jooksul süüa ega juua — tingimus, mis on tarvilik komplemendi väärtuse tõstmiseks. Merisealt vere võtmist toimetatakse mitmel viisil: 1) Kaela nahk aetakse habemenoaga puhtaks karvadest, nahk desinfitseeritakse eetriga, siis lõigatakse läbi art. carotis ühes naha ning musklitega ja veri kogutakse steriilse nõu sisse. 2) Soovitakse, et siga ellu jääks, siis vabastatakse v. jugularis, tõstetakse niidiga see soon üles, millest peenikese klaaspipetiga verd võetakse, või lõigatakse veen katki ja seotakse pärast vere võtmist otsad kinni. 3) Verd võib saada südame punktsiooni teel. Selleks kinnitatakse loom seliti lauale, karvad lõigatakse rinnanaha pealt ära, nahk desinfitseeritakse, otsitakse koht, kus südame löök on sõrmele tunda, fikseeritakse sõrmedega rinnakont, pistetakse süstenõel 5—6 millimeetrit pahemal pool rinnakonti teisest küljekontide vahest sisse kuni 2 sm sügavuseni, imetakse süstlaga pikkamisi 9—10 sm^3 verd. Pärast vere võtmist peab seale naha alla pritsima steriliseeritud 0,85% NaCl-lahust (20 sm^3). 4) Lihtsaks vere saamise viisiks on kõrvast vere võtmine. Selleks tarvitatakse REICH'i aspiratsiooniaparaati. Kõrva ümbrus pöetakse karvadest puhtaks, nahka pestakse alkoholiga, kõrva ümbruses määritakse nahka vaseliiniga; et veresooned laieneksid ja veri kiiremini eralduks, selleks ärritatakse kõrva nahka kuuma veega märjaks tehtud puuvilla-topiga või ksülool'iga. Selle järel lõigatakse kõrva äär 1 sm sügavuselt kääridega lõhki, kõrv mahutatakse aspireerimisaparaati, millest suure pritsiga õhku välja imetakse; veri tilgub aparaadiga ühenduses olevasse klaasi. Õhku ei tohi väga kõvasti imeda, sest siis kaotab siga pärast tasakaalu-tunde ehk katkeb kuulmenahk.

Verd võib võtta seal 1 kord nädalas. Vereseerum eraldatakse koaguleerimise või tsentrifugeerimise teel. Komplementi sisaldavat seerumit peab värskelt tarvitama. 12—16-tunniline seerumi seismine pimedas külmas ruumis (jääkapis) on soovitav enne selle tarvitamist. Komplemendi alalhoidmiseks kauema aja jooksul lastakse seerum seista külmutamisaparaadis «Frigo», või ta kuivatatakse ära vaakuumaparaadis, või vereseerumile lisatakse juurde 6—8% NaCl või 4% $MgSO_4$. Kõige paremaks komplemendi konserveerimise meetodiks peetakse 4% $MgSO_4$-soola juurdelisamist seerumile. Komplement on väga muutlik; sellepärast peab teda iga kord enne tarvitamist titreerima. Selleks otstarbeks segatakse prooviklaasides: 1 sm^3 hemolüütilist ambotseptorit (2—3-kordne tiiter), 1 sm^3 5% oina erütrotsüütide suspensiooni, merisea vereseerumit lahjendatult 1:10 füsioloogilise lahusega, võttes sellest kord-korralt suureneva hulga; lõpuks lisatakse juurde niipalju 0,85% NaCl-lahust, et iga prooviklaas sisaldaks 5 sm^3 vedelikku; loksutatakse kergelt segi ning lastakse seista 1 tunni jooksul 37° C. soojuses termostaadis ehk $^1/_2$ tunni jooksul 37° C. soojuses veevannis.

Reaktsiooni korraldamiseks peab tarvitama hästi puhtaks pestud ja steriliseeritud prooviklaase ja pipette. Samuti peab hoolt kandma, et reaktsiooniks tarvilikud lahused oleksid võimalikult steriilsed. Järgnev tabel demonstreerib komplemendi titreerimise reaktsiooni:

Klaas	5% erütr. suspensioon	ambotseptor	komplem. 1:10	0,85% NaCl	result.
1.	1 sm³	1 sm³ 1:1000	1 sm³	2 sm³	++++
2.	1 „	„ „	0,8 „	2,2 „	++++
3.	1 „	„ „	0,6 „	2,4 „	++++
4.	1 „	„ „	0,4 „	2,6 „	+++
5.	1 „	„ „	0,2 „	2,8 „	++
6.	1 „	„ „	0,1 „	2,9 „	0
7.	1 „	„ „	—	3,0 „	0
8. Kontr.	1 „	—		3,0 „	0
9.	1 „	—	—	4,0 „	0

Sellest tabelist näeme, et 0,06 sm³ (lahjendatult 0,6) merisea vereseerumit sisaldab kõige vähema hulga komplementi, mis esile kutsub täieliku hemolüüsi. Seda seerumi hulka nimetatakse komplemendi tiitriks. Komplemendi fikseerimise reaktsioonideks tarvitatakse harilikult 2—2½-kordset tiitrit.

Opsoniinid ja bakteriotropiinid.

METŠNIKOV ja tema õpilased arvasid, et immuniteet oleneb fagotsüütide tegevusest, kuna teised (EHRLICH, PFEIFFER jne.) tõendasid, et immuniteedis etendavad suurt osa koe rakkude poolt produtseeritud immuunkehad. WRIGHT ja NEUFELD näitasid, et neil mõlemail vaateil on oma osa tõtt. Nad leidsid, et fagotsüüdid hakkavad mikroobe ainult pärast seda kiiresti õgima (fagotsütoos), kui veres viibivad ollused mikroobide peale toimides neid fagotsüütidele vastuvõtlikuks muudavad. Seesugust ollust leidsid veres esimestena WRIGHT ja DOUGLAS (1903. a.) ja nimetasid selle opsoniiniks (opsono = prepareerin toiduks). METŠNIKOV ja BORDET näitasid oma katsetega, et fagotsütoos on võimalik ka ilma opsoniinideta (spontaanne fagotsütoos).

Opsoniinid viibivad normaal- ja immuunseerumis; viimased on spetsiifilised antikehad (immuun-opsoniinid).

Värskes vereseerumis viibivad opsoniinid võivad kiirendada järgmiste mikroobide fagotsütoosi: vibrio cholerae, b. typhi, b. pestis, staphylococcus, streptococcus, b. tuberculosis etc. (WRIGHT ja DOUGLAS), trypanosoma (HAKTOEN) ja spirochaeta (LEVADITI ja ROCHÉ). Opsoniinid

ei avalda toimet b. diphtheriae ja b. xerosis'e peale. WRIGHT arvas, et normaal- ja immuun-opsoniinid on sarnased, kuid uuemad uurimused on tõestanud, et nad teineteisest siiski lahku lähevad. BECHER, NEUFELD, LEVADITI ja INMANN arvavad, et normaalseerumi opsoniinid on sarnased komplemendiga. Nad on termolabiilsed ja muutuvad $^1/_2$-tunnilise 56° C. soendamine järel inaktiivseks; komplemendi juurdelisamine reaktiveerib neid. Sellest võib oletada, et opsoniinide tegevusest võtavad osa ambotseptor ja komplement. Opsoniini on leitud mitte ainult inimese, vaid ka paljude loomade vereseerumis, koemahlas, piimas, seroosvedelikus, ekssudaatides jne.

WRIGHT ja tema õpilased leidsid, et vaktsiinidega immuniseerimise järel suureneb opsoniinide hulk organismis.

WRIGHT leidis, et kohe pärast vaktsiini injektsiooni väheneb opsoniinide hulk veres (negatiivne faas), mõne aja järel suureneb aga opsoniinide hulk (positiivne faas). Wright arvas, et negatiivse faasi ajal on organism vastuvõtlik infektsioonile. STRUBELL ja BERTOLONI panid tähele, et nendel juhtumustel, kui infektsioon lõpeb surmaga, opsoniinide hulk veres enne surma märksa kahaneb.

Silmas pidades, et opsoniinide hulk ei ole mõõduandev organismi resistentsi ja immuniteedi kohta ja et opsoniinide kindlaksmääramine on seotud raskustega ning tehniliste puudustega, ei ole esialgu opsoniinide uurimise peale pandud lootused täide läinud ja need uurimised ei ole suurt praktilist tarvitust leidnud.

Opsoniinide uurimiseks WRIGHT'i järele on tarvis: 1) leukotsüüte, mida sel teel saame, kui väikesesse prooviklaasi võtame 1 sm^3 $1^1/_2$% sol. natr. citr. aq., sellele mõne tilga terve inimese verd (sõrme haavakesest) juurde tilgutame, segi segame, tsentrifugeerimise teel seerumi eraldame, sadet 0,85% NaCl-lahusega peseme ja uuesti tsentrifugeerime. Klaasi põhjas viibivad erütrotsüüdid, pealmises osas leukotsüüdid segatult erütrotsüütidega, kust neid pipetiga võetakse reaktsiooniks; 2) mikroobide suspensiooni, mida sel teel saame, kui 2—3 sm^3 0,85% NaCl-lahuses ühe aasatäie 18-—24-tunnilist kultuuri ühetaoliseks suspensiooniks hõõrume. Tuberkuloosibatsillide suspensiooniks võetakse surmatud ja purukshõõrutud mikroobid; 3) terve inimese vereseerumit ja 4) uuritavat vereseerumit.

Katseks imetakse peenikesse Pasteuri pipetti järgemööda ühesugune hulk uuritavat seerumit, 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, et võetud osad hästi segatud oleksid. Lõpuks imetakse segu tagasi pipetti, mille alumine ots tule peal kinni joodetakse, ja pipett mahutatakse 10—20 minutiks termostaati 37° C. soojusesse. Selle järel murtakse pipeti alumine ots ära, segu puhutakse puhtale esemeklaasile, määritakse teise esemeklaasi servaga laiali, kuivatatakse õhus, fikseeritakse 2—3 min. küllastatud sublimaadilahuses või formaliin-alkoholi segus (10,0 formaliini + 90° alkoholi), loputatakse veega puhtaks ja värvitakse Giemsa ehk mõne teise värvimismeetodiga. Samuti tuleb valmistada teine preparaat kontrolliks terve inimese vereseerumiga. Mõlemais preparaatides loetakse ära 100

leukotsüüdis viibivat mikroobi ja saadud arvud näitavad haige ja terve inimese vereseerumi fagotsütaarjõudu. Jagame haige inimese seerumiga saadud mikroobide arvu (100 leukotsüüdis) terve inimese seerumiga saadud arvuga, siis saame opsoniinide indeksi.

WRIGHT'i meetodit on viimsel ajal mitmeti modifitseeritud, kuid selle peale vaatamata on see katse väga subjektiivne ja annab muutlikud resultaadid.

Juba 1895. aastal nägid DENYS ja LECLEF, et streptokokkidega immuniseeritud jänese vereseerum kiirendab streptokokkide fagotsütoosi in vitro, kuna normaalseerum seesugust toimet ei avaldanud. MENNES konstateeris sama nähtust pneumokokkidega, SAWTŠENKO — recurrens'i spiroheetidega ja recurrensihaige vereseerumiga. NEUFELD ja RIMPAU nimetasid sääraseid immuun-opsoniine — bakteriotropiinideks.

Bakteriotropiinide uurimiseks Neufeldi järele võetakse leukotsüütide suspensioon, lisatakse juurde inimese vereseerumit, lastakse viibida 20 min. 37° C. soojuses, sadestatakse leukotsüüdid tsentrifugeerimise teel ja pestakse nad 0,85% NaCl-lahusega seerumist puhtaks. Kui juurde lisada pestud leukotsüütide suspensioonile streptokokke, siis näeme, et säärasel korral ei suurene fagotsütoos. Laseme aga streptokokid viibida ühes immuunseerumiga, peseme nad vereseerumist puhtaks ja lisame juurde leukotsüüte, siis leiame silmapaistva fagotsütoosi. See katse näitab, et immuunseerum ei stimuleeri leukotsüütide tegevust, nii kui arvavad METŠNIKOV ja BORDET, vaid muudab mikroobid leukotsüütidele vastuvõtlikuks.

Bakteriotropiinid on termostabiilsed; nad kannatavad 56° C. soendamist 30 min. jooksul. Need on spetsiifilised antikehad, mis oma tegevuseks ei tarvita komplementi. Tropiinid tekivad, kui me immuniseerime organismi mikroobidega (bakteriotropiin), erütrotsüütidega (hemotropiin) või seemnerakkudega (spermotropiin). Iseäranis spetsiifilised on bakteriotropiinid meningitis cerebrospinalis epidemica suhtes, kus tropiinide katset tarvitatakse diagnostiliseks otstarbeks. Mida virulentsemad on mikroobid, seda väiksem on opsoniini ja tropiini toime nende peale ja seda vähem on fagotsütoos.

Bakteriotropiinide katset toimetatakse NEUFELD'i järele järgmiselt: Leukotsüütide saamiseks süstitakse meriseale kõhukoopasse umbes 5 sm^3 puljongi, millele juurde lisatakse väike hulk aleuronaati. Päev hiljemini tapetakse siga, kõhukoobast loputatakse korduvalt 0,85% NaCl-lahusega (iga kord 4—8 sm^3). Kõhukoopa loputamise vedelik ühes ekssudaadiga kogutakse prooviklaasi. Ekssudaadi koaguleerimise kõrvaldamiseks lisatakse sellele juurde natr. citricum'i lahust. Leukotsüüte sisaldav vedelik lastakse mõni minut seista, et fibriinikiud ja teised osakesed põhja langeksid, pealmine osa valatakse teise prooviklaasi ja tsentrifugeeritakse. Sadet pestakse 2—3 korda 0,85% NaCl-lahusega. Kauakestev intensiivne tsentrifugeerimine vigastab leukotsüüte; sellepärast peab neid sadestama veetsentrifuugis (4—5 min.). Reaktsiooniks on kõlvulised leukotsüüdid, kui neil näha on mikroskoobi all niidisarnased või jämedamad ebajalakesed (pseudopoodid). Leukotsüütidest valmistatakse suspensioon 0,85% NaCl-

lahuses. Inimese vere leukotsüüte võib saada, nagu seda ülalpool kirjeldasime. Leukotsüütide suspensiooni võib hoida 48 tunni jooksul jääkapis, ilma et nad oma tegevust kaotaksid.

Mikroobide suspensiooni valmistamiseks võetakse 1—2 aasatäit 20-tunnilist agaarikultuuri ja hõõrutakse ühetaoliseks suspensiooniks 1 sm^3 puljongi ja 0,85% NaCl-lahuses (āā). Elusate mikroobide asemel võib tarvitada surmatud kultuuri.

Uuritavast seerumist valmistatakse pärast $^1/_2$-tunnilist inaktiveerimist (58° C.) järgmised lahjendused 0,85% NaCl-lahuses: 1:5, 1:20, 1:100 kuni 1:1000 peale. Prooviklaasidesse valatakse ühesugune hulk (0,1 sm^3) lahjendatud seerumit, mikroobide ja leukotsüütide suspensiooni. Lihtsam on võtta 1 tilk mikroobide suspensiooni, 1 tilk lahjendatud seerumit ja 2 tilka leukotsüütide suspensiooni. Segud mahutatakse termostaati 37° C. soojusesse 15 min. kuni 2 tunnini. Kontrolliks valmistatakse samasugused segud 0,85% NaCl-lahusest ja terve inimese vereseerumist. Pärast termostaadis viibimist tsentrifugeeritakse segud ja sademest valmistatakse värvitud preparaadid, nagu seda kuulsime opsoniinide uurimise puhul. Kõige vähemat hulka seerumit, kus fagotsütoosi veel on leida, nimetatakse bakteriotropiini tiitriks. Kui katseks tarvitatakse kõrgema kontsentratsiooniga seerumilahuseid, siis peab võtma sama loomatõu leukotsüüte, sest võõras vereseerum võib takistada fagotsütoosi.

Agglutiniinid.

Kui me immuniseerime looma teatud mikroobidest valmistatud vaktsiiniga ja segame sel teel saadud spetsiifilise seerumi sama mikroobide suspensiooniga, siis näeme, et alguses ühtlases suspensioonis tekivad aja jooksul helbed ehk terakesed, mis klaasi põhja langevad, ja pealmine vedelik muutub täielikult selgeks. Sadet mikroskoobi abil uurides näeme, et terakesed kujutavad kokkukleepunud mikroobe. Säärast mikroobide kokkukleepumist nimetatakse agglutinatsiooniks ja ollust, mis seda protsessi toimetab, agglutiniiniks.

Agglutinatsiooni panid esimestena tähele CHARRIN ja ROGER, kes leidsid, et b. pyocyaneus, kasvades spetsiifilises immuunseerumis, ei anna ühetaolist segast kultuuri, nii kui normaalses seerumis, vaid mikroobid langevad vedela söötme põhja ja pealmine osa jääb selgeks. Sama pilti nägid METŠNIKOV, ISSAJEV ja BORDET vibrioonide ja pneumokokkide kultuurides. Agglutiniinide põhjalik kirjeldus ilmus 1896. a. GRUBER ja DURHAM'i poolt. WIDAL ja SICARD kasutasid esimestena agglutinatsiooni reaktsiooni praktiliselt typhus abdominalis'e diagnoosiks.

Immuniseeritud loomadel leiame agglutiniini vereseerumis, koemahlas, ekssudaatides, silmavees, uriinis, kuid ei leia seda süljes ja liq. corebrospinalis'es. Spetsiifilised immuun-agglutiniinid tekivad vastava antigeeniga immuniseerimise järel, kusjuures silma paistab, et antigeeni süstimine verde tekitab rohkem agglutiniine kui teised immuniseerimismeetodid. Normaalses seerumis leiduvad väga mitmekesised agglutiniinid, kuid vähemal hulgal kui immuunseerumis (normaal-agglutiniinid). Immuniseeritud loomade seerum agglutineerib vastavaid

mikroobe ka siis, kui seerumeid lahjendame (1 : 100, 1 : 1000 peale ja rohkem), kuna normaalseerum harilikult lahjendatult 1 : 50 enam agglutineerivat toimet ei avalda. Ainult üksikuil juhtumusil agglutineerib normaalseerum lahjendatult 1 : 200 peale mõnd mikroobitõugu (b. coli). Normaalseerumi agglutiniinid ei ole spetsiifilised. Spetsiifiliseks nimetatakse agglutiniini, kui seerumi nõrgad lahjendused (1 : 1000—1 : 10 000) agglutineerivad ainult homoloogilisi, kuid mitte heteroloogilisi mikroobe.

Agglutinatsiooni kiirus oleneb agglutiniinide kontsentratsioonist ja temperatuurist. Suurema agglutiniinide kontsentratsiooniga seerumi lahjendused agglutineerivad kiiresti mikroobe, kuna nõrgad lahjendused selleks rohkem aega nõuavad. Agglutiniinid avaldavad kõige energilisemat tegevust 37° C. soojuses; mõnele mikroobitõule on agglutinatsiooni temperatuuri optimum 55° C. (b. typhi, meningococcus).

Agglutiniinide tekkimiskohaks organismis peetakse põrna (PFEIFFER, DIEUDONNÉ), kondiüdi, mahlanäärmeid, leukotsüüte (BORDET) ja veresoonte endoteelrakke (KRAUS ja SCHIFFMANN). Agglutiniinide hulk oleneb antigeeni agglutinogeenseist omadusist. Ühtede mikroobidega immuniseerimise järel (b. typhi, v. cholerae asiat.) tekib suurel hulgal agglutiniini (tiiter 1 : 10 000—1 : 100 000), kuna teiste mikroobidega (kokid, b. coli) immuniseerimine agglutiniinide tiitri ainult 1 : 500—1 : 1000 peale tõstab. Agglutiniinid ei surma mikroobe, söötmele juurdelisatult ei takista nad mikroobide kasvu. Immuniteedis ei etenda agglutiniinid nähtavasti suuremat osa, sest elusas organismis ei ole märgata agglutinatsiooniprotsessi. Agglutinatsioon ei ole üks immuniteedi reaktsioonidest, vaid ta on ennem infektsiooni reaktsioon.

Agglutiniinid on nähtavasti ligidalt sugulased fermentidega ja kolloididega. Nad lahustuvad vees, ei dialüseeru, neid sadestavad alkohol, $MgSO_4$, $(NH_3)_2SO_4$ ja Na_2SO_4. Agglutiniinide peale ei või vaadata kui seerumiglobuliinide peale (WENT). Agglutiniinide sadestumine ühes globuliinidega oleks adsorptsiooniprotsess, mille juures globuliinid adsorbentide osa etendavad ja milleks kaasa aitavad mitmekesised mineraalsoolad.

Peale üksikute erandite (düsenteria ja meningococcus'e agglutiniinid) on agglutiniinid termostabiilsed. Nad kaotavad oma toimivuse 65—70° C. soojuses. Agglutiniinid on resistentsed kuivamisele ja roiskumisele. Trüpsiin, pepsiin ja papaiotiin purustavad agglutiniini 24 tunni jooksul. Happed ja leelised nõrgestavad seerumi agglutineerivat omadust.

Agglutinatsiooniprotsessi mehhanismi ei suuda praeguse aja hüpoteesidest ükski rahuldavalt seletada. BORDET leidis, et NaCl suurt osa etendab agglutinatsiooni reaktsioonis. On seerum ja mikroobid vabad NaCl-st, siis liitub küll agglutiniin mikroobidega, kuid agglutinatsioon ei ilmu enne, kui segule NaCl juurde lisatakse. Selle põhjal tuleks agglutinatsiooni kui füüsikalise protsessi peale vaadata, kus soolad osmootilist rõhumist, pinnapinevust ja ioonisid muudavad ja sellega agglutinatsiooni reaktsiooni sarnastavad kolloidide reaktsiooniga. GRUBER arvas, et spetsiifiline seerum tekitab mikroobide kesta pundumist ja limastumist, mille tagajärjel mikroobid kokku kleepuvad. Keegi ei ole veel konstateerinud mikroskoobi abil säärast mikroobide

rakkude limastumist. KRAUS ja PALTAUF arvavad, et agglutiniinide toimel tekib mikroobide ümber sade, mis mikroobe sunnib mehaaniliselt sadestuma.

Agglutiniinid viibivad pärast infektsioonilise haiguse põdemist ja kunstlikku immuniseerimist kuude või aastate jooksul organismis. Spetsiifilised agglutiniinid tungivad platsenta kaudu loote organismi. Rinnapiimas leidub rikkalikult agglutiniini.

Kunstlikult võib saada kõrge tiitriga agglutineerivat seerumit, kui loomale korduvalt injitseerime vastavat antigeeni (kõige parem verde). Väikese hulga seerumi saamiseks on immuniseerimiseks kõlvulised jänesed, suurema hulga valmistamiseks hobused ja eeslid. Immuniseerimiseks injitseeritakse loomale 3—4 korda iga 8—10 päeva järel elusaid, nõrgestatud või surmatud mikroobide suspensiooni kord-korralt suuremal hulgal. 8—10 päeva pärast viimast injektsiooni võetakse verd seerumi saamiseks või tapetakse loom, kui tarvis on rohkem seerumit. Steriilselt kogutud vereseerum kuivatatakse vaakuum-aparaadis, kuiv pulber mahutatakse klaasampullidesse ja hoitakse kinnijoodetult pimedas külmas kohas. Kuiva seerumi agglutineeriv toime püsib 1—2 aasta jooksul. Vedelat inaktiveeritud seerumit võib kauema aja jooksul alal hoida kinnijoodetud ampullides.

Iga loom ei anna head agglutineerivat seerumit; sellepärast peab verd proovima agglutiniinide suhtes enne lõplikku vere võtmist. Ainult kõrge tiitriga (1 : 10 000—1 : 100 000) seerumid on väärtuslikud.

JAGGI leidis, et mikroobidega immuniseeritud loomade organismis võib, pärast seda kui agglutiniinid verest juba on kadunud, esile kutsuda nende uuesti-ilmumist veres, kui loomale injitseeritakse deuteroalbumoosi ehk nat. nucleinicum'i. Sellest näeme, et mittespetsiifiline ärritus võib immuniseeritud looma organismis esile kutsuda spetsiifiliste antikehade vabanemist.

Immuniseeritud looma vereseerumis võib leida peale spetsiifiliste agglutiniinide veel sääraseid agglutiniine, mis agglutineerivad immuniseerimiseks tarvitatud mikroobidega ligemas suguluses seisvaid mikroobe. Tarvitame immuniseerimiseks näiteks b. typhi kultuuri, siis leiame seerumis suuremal hulgal agglutiniine, mis agglutineerivad b. typhi ja vähemal hulgal neid agglutiniine, mis b. paratyphi agglutineerivad. Seesugust agglutinatsiooni nimetatakse grupi-agglutinatsiooniks (koagglutiniin, hetero-agglutiniin). WIDAL, ABRAMI, JOLTRAIN ja BRISSAUD demonstreerisid grupi-agglutinatsiooni sporotrihoosi-haige vereseerumiga. See seerum agglutineerib hästi sporotrichum'i eoseid, kuid ta sisaldab ka koagglutiniine, mis agglutineerivad mitmekesiseid eoseid: oospora, endomyces albicans, oidium, trichophyton jne. Sama nähtust võime leida paljudel teistel mikroobidel.

Koagglutiniinide tekkimine oleneb loomatõust. Kõige rohkem tekib neid hobuse veres, vähem jäneste ja harvemini inimeste veres.

DURHAM seletab grupi-agglutinatsiooni järgmiselt: iga agglutinogeen (antigeen) seisab koos mitmest elemendist (partsiaal-agglutinogeenid). Kui kahel agglutinogeenil on mõned elemendid sarnased, siis saame immuniseerimise järel pea-agglutiniinide kõrval veel osa-

lised agglutiniinid (partsiaal-agglutiniinid), milledest oleneb grupi-agglutinatsioon ja mis on nõrgem kui pea-agglutinatsioon. NÈGRE ja RAYNAUD näitasid, et mõned grupi-agglutiniinid kaovad seerumist, kui seerumit soendatakse 55° C. temperatuuris 50 min. jooksul.

KUHN, WOITHE ja GILDMEISTER leidsid, et organismist isoleeritud mikroob, näiteks b. coli kõhutüüfuse-haige väljaheiteist, agglutineerub haige seerumi toimel samuti või veel paremini kui infektsiooni tekitaja b. typhi. Säärast mikroobide omadust nimetatakse para-agglutinatsiooniks. Mikroob kaotab seesuguse omaduse, kui me teda kauema aja jooksul kasvatame kunstlikus söötmes.

Tihti näeme, et värskelt organismist (b. typhi) või veest (v. cholerae) isoleeritud mikroobid halvasti agglutineeruvad. Kasvatame aga neid pikema aja jooksul kunstlikul söötmel, siis võivad nad hästi agglutineeruda. Agglutineerumine oleneb sagedasti söötmest, milles mikroob kasvab, ja kasvutemperatuurist. 80° C. soojus, happed, leelised ja küllastatud soolalahused vähendavad mikroobide agglutineerumist. Teisest küljest näeme, et mikroobide sage ümberkülvamine, merisigade organismist läbiviimine (passažid), söötmetele mitmekesiste ainete juurdelisamine (b. typhi ja b. dysenteriae Shiga-Kruse kultuurile 0,2 : 100 peale acid. carbol.) ja sümbiootiline kasv võivad tõsta mikroobi agglutineeruvat omadust.

Mikroobide agglutinatsiooni võivad tekitada peale spetsiifiliste agglutiniinide mitmekesised keemilised substantsid: sublimaadilahus, safraniinilahus 1 : 1000, acid. lacticum, acid. aceticum, perhydrol, ammonium sulfuricum'i lahused (MALVOZ, BLACHSTENS). Arusaadav, et säärane agglutinatsioon ei ole spetsiifilise iseloomuga. Harvadel kordadel võib näha, et 0,85% NaCl-lahus kutsub esile agglutinatsiooni. Seesuguse omaduse kaotavad mikroobid harilikult 80° C. soendamise järel.

Agglutinatsiooni reaktsiooni tarvitatakse harilikult kaheks otstarbeks: 1) spetsiifilise seerumi abil mikroobide differentseerimiseks ja 2) tuntud mikroobide abil spetsiifiliste agglutiniinide konstateerimiseks veres. Mõlemail kordadel võib tarvitada mikroskoobilist või makroskoobilist agglutinatsiooni reaktsiooni.

Mikroskoobilist agglutinatsiooni tarvitatakse siis, kui käepärast on väike määr kultuuri (üksikud pesad) või seerumit. Selle reaktsiooni printsiip on järgmine: täielikult puhas katteklaas pannakse mustaksvärvitud korgist aluse peale (harilik keskmise suurusega kork), klaasi peale võetakse üks tilk lahjendatud seerumit, plaatinanõela otsaga võetakse väike hulk 24 tunni vanust kultuuri ja hõõrutakse seerumitilgas ühtlaseks suspensiooniks. Suspensioon ei tohi sisaldada liiga palju mikroobe, sest siis on raske otsustada resultaatide üle. Samasugused suspensioonitilgad valmistatakse kontrolliks füsioloogilise lahusega ja normaalseerumiga. Siis võetakse õõnega esemeklaasid, õõne ümbrus määritakse vaseliiniga, esemeklaas litsutakse vastu katteklaasi nii, et suspensioonitilk jääks õõne keskpaika. Tilk ei tohi kokku puutuda õõne põhjaga. Esemeklaas pööratakse ümber ühes selle külge kleepunud katteklaasiga ja rippuvat tilka vaadatakse mikroskoobi all keskmise suurenduse abil (okulaar 3, objekt. 6). Kui suspensioon on ühtlane ja ilma kultuuritükkideta, siis mahutatakse

klaasid termostaati 37° C. ja resultaate vaadatakse 10, 20, 30 ja 45 minuti järel mikroskoobis. Täielikult positiivse reaktsiooni korral näeme kokkukleepunud mikroobe väikeste kogudena ja vabalt liikuvaid mikroobe ei ole enam näha. Keskmiselt positiivse reaktsiooni korral näeme paigalseisvaid mikroobide kogusid ja üksikuid liikuvaid mikroobe. Nõrga reaktsiooni korral on näha palju liikuvaid mikroobe ja üksikud väikesed paigalseisvad grupid. Negatiivse reaktsiooni puhul liiguvad kõik mikroobid nii kui kontrollitilkades. Mikroobidega, kel puudub iseseisev liikumine, ei anna mikroskoobiline reaktsioon selget pilti. Seisab preparaat kauemat aega, siis langevad mikroobid tilga alumisse ossa ja simuleerivad positiivset reaktsiooni.

Makroskoobiliseks agglutinatsiooni reaktsiooniks on tarvilikud mikroobide ühtlane suspensioon ja seerumite lahjendid. Tehniliselt on kõige raskem homogeense suspensiooni saamine. Mõned mikroobid kasvavad puljongis nii, et nad annavad ühtlase suspensiooni (b. typhi, paratyphi, b. dysenteriae, b. coli jne.). Sääraste mikroobide värsket (24 tundi) puljongikultuuri võib tarvitada agglutinatsiooni reaktsiooniks. Elusate mikroobide asemel võib tarvitada surmatud mikroobe, mis on praktiliselt tähtis, sest sel kujul võime mikroobe kuude jooksul tagavaraks alal hoida. Mikroobide suspensiooni saamiseks lisatakse 24-tunnilise puljongi kultuurile juurde 0,5% acid. carbolic. ja kurnatakse läbi paberist filtri, et eraldada suuremaid tükikesi. Sel teel saadud mikroobide suspensiooni peab alal hoidma jääkapis ja iga kord tarvituse eel hoolega segi loksutama. Mikroobide surmamiseks on soovitav formaliin, mida puljongikultuurile juurde lisatakse (1 : 100).

Puljongikultuur ei anna iga mikroobiga ühtlast suspensiooni, sellepärast tarvitatakse suspensiooni saamiseks 18—24 tunni vanust agaarikultuuri. Homogeense suspensiooni valmistamist toimetatakse järgmiselt: prooviklaasi võetakse 0,85% NaCl-lahust, plaatina-aasaga võetakse agaari pinnalt mikroobide kultuuri, hõõrutakse laiali ülalpool füsioloogilise lahuse pinda klaasi seina vastu; klaasi keeratakse, nii et füsioloogiline lahus laialihõõrutud mikroobidest osa ära uhaks; klaasi külge jäänud osa hõõrutakse uuesti plaatina-aasaga ja uhetakse uuesti ära füsioloogilise lahusega. KOLLE ja PFEIFFER soovitavad tarvitada agglutinatsiooni reaktsiooniks puljongikultuuri asemel ainult agaarikultuure. Agaarikultuurist valmistatud suspensioonis võib mikroobe surmata samade meetoditega, kui ülalpool kuulsime. Täpsate resultaatide saamiseks peab tarvitama ainult elusaid mikroobe 18—24-tunnilisest agaarikultuurist.

Makroskoobiliseks agglutinatsiooni reaktsiooniks võetakse väikestesse prooviklaasidesse uuritava seerumi lahjendeid füsioloogilise lahusega (0,5 sm^3 — 1 sm^3) ja kontrolliks normaalse seerumi lahjendeid. Igale klaasile lisatakse juurde teatud hulk mikroobide suspensiooni ja loksutatakse segi. Kui kontrolliklaasides ei ole näha tükikesi (pseudo-agglutinatsioon), mida KUHN-WOITHE agglutinoskoobi abil võib kontrollida, siis mahutatakse klaasid 2 tunniks termostaati 37° C. soojusesse. Kõrgem temperatuur (50—55° C.) kiirendab b. typhi ja mõne teise mikroobi agglutinatsiooni. Toatemperatuuris ilmub agglutinat-

sioon 4—8 tunni järel. Agglutinatsiooni korral ilmuvad mikroobide + seerumi segus helbed või terakesed, mis hiljemini klaasi põhja langevad, ja pealmine vedelik jääb selgeks. Agglutinatsiooni tekkimist võib kontrollida varustamata silmaga, suurendusklaasiga (luubiga) või agglutinoskoobiga.

Kui agglutinatsiooni reaktsiooni tarvitatakse mikroobide differentseerimiseks, siis võetakse teatud immuunseerum lahjendatult füsioloogilise lahusega ja tehakse mikroskoobiline või makroskoobiline agglutinatsiooni reaktsioon uuritava mikroobi suspensiooniga. Kui uuritavad mikroobid annavad agglutinatsiooni ühe spetsiifilise seerumiga, siis on nad identsed nende mikroobidega, keda tarvitati immuniseerimiseks seerumi valmistamisel.

Teisel juhtumusel võime, tehes agglutinatsiooni tuntud mikroobide suspensiooniga, kindlaks määrata uuritava seerumi iseloomu (seroloogiline diagnoos). Seda meetodit tarvitatakse paljude infektsiooniliste haiguste diagnoosiks.

Spetsiifiliste agglutiniinide leidmist ja nende tiitri kindlaksmääramist haige veres, Widali reaktsioon, toimetatakse järgmiselt: haigelt võetakse verd, eraldatakse seerum ja seerumist valmistatakse mitmesuguse kontsentratsiooniga lahjendid 0,85% NaCl-lahuses (1:10, 1:20, 1:30, 1:50, 1:100 jne.). Nendega tehakse agglutinatsioon ühe või teise mikroobiga, olenedes sellest, missugust infektsiooni me antud juhtumusel oletame. Reaktsiooni tehes peab silmas pidama mikroobide suspensiooni hulka, mida me juurde lisame seerumilahjenditele, sest vastavalt sellele väheneb võetud seerumilahjendi kontsentratsioon.

Maksimaalset lahjendit, mis võetud mikroobe agglutineerib, nimetatakse agglutineeruva seerumi tiitriks. Kui me tarvitame agglutinatsiooni reaktsiooni haiguse diagnoosiks, siis peame kindlaks määrama, missugust mikroobi agglutineerib kõige nõrgema kontsentratsiooniga seerumilahjend; seda mikroobi tuleb pidada infektsiooni tekitajaks.

Mikroskoobilist agglutinatsiooni reaktsiooni tarvitatakse rohkem orienteerumiseks, kuna täpsate resultaatide saamiseks peab alati tarvitama makroskoobilist reaktsiooni. Widali reaktsiooniks tarvitatakse harilikult väikesi prooviklaase (0,5 sm läbimõõt, 8 sm kõrgus), kuhu valatakse $^1/_2$—1 sm^3 uuritava seerumi mitmesuguseid lahjendeid ja kontrolliks 0,85% NaCl-lahust; lisatakse juurde mikroobide suspensiooni või võetakse üks aasatäis 18—24-tunnilist agaarikultuuri, hõõrutakse ettevaatlikult klaasi seina küljes laiali ühtlase suspensiooni saamiseks, nii kui ülal kuulsime. Prooviklaasid lastakse seista 37° C. soojuses 2 tundi või toasoojuses 12—14 tundi. Kui agglutinatsioon ei ilmu 2 tunni jooksul 37° C. soojuses, siis peab klaasisid veel hoidma 12—14 tundi toatemperatuuris. Resultaatide üle otsustatakse kas varustamata silmaga, suurendusklaasi abil või selle tarvis valmistatud KUHN-WOITHE agglutinoskoobiga. Kontrolliklaasis peab suspensioon jääma homogeenseks, vastasel korral on reaktsioon kõlbmatu. Resultaadid võivad olla: 1) klaasi põhjas sade, pealmine vedelik selge — täielik agglutinatsioon; 2) sade põhjas, pealmine vedelik vähe segane — mittetäielik agglutinatsioon; 3) väike sade, peal-

mine vedelik segane — nõrk reaktsioon; 4) sade puudub, suspensioon samasugune kui kontrolliklaasis — negatiivne reaktsioon.

GAEHTGENS soovitab agglutinatsiooni reaktsiooni resultaatide kiiremaks saavutamiseks tsentrifugeerida 10 minuti jooksul prooviklaasisid suspensiooniga ja siis sade segi loksutada (kiire meetod). Kontrolliklaasis muutub suspensioon selle tõttu täielikult homogeenseks, kuna nendesse klaasidesse, kus reaktsioon on positiivne, jäävad nähtavad helbed. Võtame igast klaasist ühe tilga ja vaatame neid mikroskoobis (rippuv tilk), siis võime resultaatide üle kiiresti otsustada. Puljongikultuurid ei ole kõige kõlvulisemad Widal'i reaktsiooniks, sest nendes viibivad fosforisoolad, mis ise võivad mikroobide agglutinatsiooni tekitada. Müügil olevad mikroobide suspensioonid ja ekstraktid (Fickeri diagnostikum j. t.) on väga sagedasti kõlbmatud agglutinatsiooni reaktsiooniks ja nende tarvitamisest peab võimalikult loobuma.

Mõne mikroobi kultuurist on raske valmistada ühtlast suspensiooni. Tuberkuloosibatsillide kultuuri peab enne puruks hõõruma uhmris ja siis kauema aja jooksul loksutama NaOH-lahuses. Samuti nõuavad b. diphtheriae, sporotrichum j. t. spetsiaalseid meetodeid homogeense suspensiooni valmistamiseks.

Agglutiniini spetsiifilise iseloomu konstateerimiseks tarvitatakse Castellani katset, või agglutiniinide absorptsiooni, või saturatsiooni. Näiteks uuritav haige seerum võib agglutineerida b. typhi ja b. paratyphi; siis tõuseb küsimus, missugust infektsiooni põeb organism.

Castellani leidis, et kui me segame agglutineerivat seerumit homoloogiliste mikroobidega (b. typhi+tüüfusehaige seerum), siis kaotab seerum agglutineeriva omaduse niihästi homoloogiliste kui ka heteroloogiliste mikroobide suhtes. Segame aga agglutineeriva seerumi heteroloogiliste mikroobidega (b. paratyphi+tüüfuseseerum), siis kaotab see agglutineeriva omaduse ainult heteroloogiliste mikroobide suhtes ja ei kaota seda homoloogiliste mikroobide suhtes. Kui organism on infitseeritud ühel ajal kahesuguste mikroobidega, siis näeme, et seerumi segamine ühe mikroobitõuga kaotab ainult need agglutiniinid, mis seda mikroobi agglutineerivad, ja ei puutu teise viiruse agglutiniini. Sellest näeme, et Castellani katse abil on võimalik vahet teha pea-agglutiniinide ja para-agglutiniinide vahel, samuti on võimalik selle katsega diagnostitseerida segainfektsiooni.

Näiteks, meil on seerum, mis agglutineerib lahjendatult 1:200 b. typhi ja b. paratyphi. Seesugusest seerumist valmistatakse 0,85% NaCl-lahusega lahjendid 1:50, 1:100 ja 1:200. Igaühest valatakse kahte prooviklaasi 1—2 sm^3. Ühele seeriale lisatakse juurde 4—6 aasatäit b. typhi ja teisele b. paratyphi kultuuri. Suspensioonid mahutatakse 30 minutiks termostaati 37° C. soojusesse. Selle järel lisatakse igale klaasile uuesti juurde 1—2 aasatäit vastavate mikroobide kultuuri ja klaasid hoitakse termostaadis 30 minutit. Säärast protseduuri korratakse 3—4 puhku. Lõpuks sadestatakse mikroobid kõikides klaasides tsentrifugeerimise abil ja selge pealmine vedelik valatakse pipettidega teistesse klaasidesse. Nüüd lisatakse juurde nendele see-

rumitele, kus alguses viibisid b. typhi, üks aasatäis b. paratyphi ja nendele, kus alguses olid b. paratyphi, 1 aasatäis b. typhi kultuuri. Klaasid mahutatakse 2 tunniks termostaati ja selle järel vaadatakse resultaate.

Agglutineeruvad nüüd ainult b. typhi, siis on seerum saadud typhus abdominalis't põdevalt haigelt; agglutineeruvad aga ainult b. paratyphi, siis on tegemist paratyphus'e infektsiooniga. Leiame aga mõlemate mikroobiliikide agglutinatsiooni, siis on tegemist segainfektsiooniga. Castellani katse annab kindlad resultaadid ainult ühte gruppi kuuluvate mikroobidega (typhus — coli grupp).

Võib juhtuda, et suure kontsentratsiooniga seerumilahjendid ei anna agglutinatsiooni, kuna nõrgema kontsentratsiooniga lahjendid annavad reaktsiooni. Sellepärast on tarvilik alati reaktsiooni teha mitmesuguste lahjenditega.

MICHAELIS uuris hapete agglutineerivat toimet paljude mikroobide suhtes ja leidis, et mõnele mikroobitõule on tarvilik teatud happe kontsentratsioon agglutinatsiooni optimumiks. Happe kontsentratsioon määratakse kindlaks H-ioonide kontsentratsiooniga; sellepärast võiks öelda, et ühe mikroobitõu agglutinatsiooni optimumi saamiseks on tarvilik teatud H-ioonide kontsentratsioon.

Happe agglutinatsiooni toimetatakse järgmiselt: 24 tunni vanuse agaarikultuuri pealt pestakse mikroobid ära füsioloogilise lahusega ja suspensiooni lahjendatakse destilleeritud veega. Puljongikultuurist saadud mikroobe peab enne pesema füsioloogilise lahusega. Suspensioon kurnatakse läbi paberfiltri. 3 osale suspensioonile lisatakse juurde 1 osa lahjendatud hapet, loksutatakse segi ja mahutatakse termostaati. Teatava aja järel vaadatakse resultaate. Happe segu valmistab GEORGI NaOH-st ja äädikhappest mitmesuguses kontsentratsioonis. BENIASCH valmistab selleks otstarbeks piimahappe lahused. Happeagglutinatsioon on sedavõrt tundlik, et seda võib tarvitada mikroobide identifitseerimiseks.

Laboratooriumi võib tarbekorral uurimiseks saata paberi peal kuivatatud haige verd. 1—2 tilka verd võetakse filtreerimispaberile, lastakse ära kuivada, mahutatakse puhta purgikese või prooviklaasi sisse, pannakse korgiga pealt kinni ja saadetakse uurimiseks. Uurimise puhul vabastatakse veritähni ümbrus paberist, verega kaetud paberiosa lõigutakse tükkideks, mahutatakse prooviklaasi destilleeritud vee sisse, hoitakse 1—2 t. termostaadis 37° C. ja saadud vedelikku tarvitatakse agglutinatsiooni reaktsiooniks (1 tilk verd = $^1/_{30}$—$^1/_{40}$ sm^3). Võtame ühe tilga verd ja 1 sm^3 aq. destill., siis saame umbes lahjendi 1 : 30—1 : 40 peale.

Kui me immuniseerime looma võõraste erütrotsüütidega, siis tekivad tema veres hemagglutiniinid. Need antikehad tekivad harilikult varemini kui hemolüsiinid. Hemagglutiniinid on spetsiifilised. Neil on antigeensed omadused ja nad tekitavad immuniseerimise tagajärjel antihemagglutiniini. Kui me immuniseerime looma sama loomaliigi erütrotsüütidega, siis saame veres isoagglutiniinid.

Normaalsest vereseerumist leiame hemagglutiniine, mis agglutineerivad homoloogilisi ja osalt ka heteroloogilisi erütrotsüüte. OSBORNE,

MENDEL ja HARRIS leidsid, et ritsiin ja abriin avaldavad hemagglutineerivat toimet. Need hemagglutiniinid on seotud ritsiini ja abriini albumiiniosaga. LANDSTEINER ja RAUBITSCHEK konstateerisid, et oad, herned ja läätsed sisaldavad mittemürgilist hemagglutiniini.

ABEL ja FORD leidsid seentes (amanita muscaria ja amanita solitaria) hemagglutiniini, mida nad glükosiidiks pidasid. Taimeagglutiniinid (fütoagglutiniinid) on antigeense omadusega ja tekitavad immuniseerimise järel antiagglutiniini.

Pretsipitiinid.

Kui võtame b. typhi kultuuri puljongis, kurname selle läbi Chamberland'i kurna ja lisame filtraadile juurde tüüfuse immuunseerumit, siis tekivad segus helbed ja väikesed terakesed, mis aja jooksul sadestuvad. Samad resultaadid saame v. cholerae, b. pestis ja paljude teiste mikroobide kultuuridega. Seesugust nähtust pani esimesena tähele KRAUS 1897. a. ja nimetas seda pretsipitatsiooni reaktsiooniks. Sadet, mis selle reaktsiooni puhul tekib, nimetatakse p r e t s i p i t a a d i k s ja substantsi, mis reaktsiooni esile kutsub, pretsipitiiniks. TŠISTOVITŠ ja BORDET leidsid, et hobuse vereseerumi, kana vere ja piima injektsiooni järel tekib jänese veres ollus, mis segatult vastava antigeeniga annab pretsipitatsiooni reaktsiooni. Selgus, et pretsipitiinid tekivad veres niihästi mikroobide, taimede kui ka loomade valkude injektsiooni järel.

WASSERMANN ja SCHÜTZE soovitasid pretsipitatsiooni reaktsiooni valkude differentseerimiseks. UHLENHUTH, WASSERMANN ja SCHÜTZE võtsid pretsipitatsiooni reaktsiooni tarvitusele kohtulikus arstiteaduses, peaasjalikult veritähnide uurimiseks. Samal ajal hakati pretsipitatsiooni reaktsiooni tarvitama toiduainete tervishoiulistel uurimistel. VLADIMIROV, DEDJULIN ja ASCOLI hakkasid tarvitama seda reaktsiooni infektsiooniliste haiguste (malleus, anthrax) diagnoosiks.

Spetsiifiliste pretsipitiinide saamiseks peab antigeeni — pretsipitinogeeni — loomale injitseerima parenteraalsel teel organismi: verde, naha alla või kehakoobastesse. GANGHOFNER, LANGER ja teised leidsid, et pretsipitiinid tekivad veres, kui me noortele loomadele antigeeni sisse söödame. Sama resultaadi saame, kui vanu loomi 2—3 päeva jooksul nälgida laseme ja siis antigeeni sisse söödame. Nii kui näha, pääseb antigeen noorte ja nälgivate loomade soolte seinte läbi kergemalt ja vähem muutunud kujul verde kui vanadel loomadel harilikus tingimuses. KRAUS ja LEVADITI leidsid pretsipitiinid normaalses vereseerumis (normaalpretsipitiinid), kuid need ei avalda nii spetsiifilist toimet kui immuunpretsipitiinid. Alguses peeti immuunpretsipitiine täielikult spetsiifilisteks, kuid pea selgus, et siin tegemist on ainult relatiivse spetsifiteediga. Immuunpretsipitiini valmistavad kõige suuremal hulgal soojaverelised loomad (jänesed kõige kiiremalt), kuna külmaverelised loomad selles taha jäävad.

Pretsipitiinide tekkimise koht organismis ei ole veel teada. KRAUS ja LEVADITI arvavad, et neid produtseerivad peaasjalikult leukotsüüdid. Nähtavasti tekivad pretsipitiinid ka koha peal: pritsime

antigeeni verde, siis tekib kõige rohkem pretsipitiine veres, pritsime aga seda kõhukoopasse, siis leiame kõhukoopa sekreedist kõige suuremal hulgal pretsipitiine.

Soojuses, mis ulatub üle 60° C., kaotavad pretsipitiinid oma pretsipiteeriva toimivuse, kuna antigeeniga fikseerumise omadus neile alale jääb. Seesuguseid muutunud pretsipitiine nimetatakse pretsipitoidideks. Pretsipitiinide toimivust vähendavad happed, leelised, formaliin, pepsiin ja trüpsiin. Keemilise loomu poolest seisavad pretsipitiinid suguluses globuliinidega (pseudoglobuliinidega). Pretsipitaat, mis tekib reaktsiooni puhul, on valk-ollus. Ta seisab koos sedavõrt peentest osakestest, mis kõige tihedama kurna läbi pääsevad. Pretsipitaat sulab lahjades hapetes ja leelistes.

Pretsipitatsiooni reaktsiooni mehhanism ei ole teada. Uuemate vaadete järele on pretsipitatsioon sarnane kolloidide sadestumise reaktsiooniga.

Pretsipitinogeenide (antigeenide) immuniseeriv toime oleneb valkaineist. Kui võtame seerumi, lihaekstrakti, taimevalkude segu või mikroobide ekstrakte ja eraldame nendest kõik valk-ained, siis ei avalda nad immuniseerivat toimet ega tekita pretsipitiini.

Pretsipitiinide hulk oleneb antigeenist ja loomast, keda me immuniseerime. Mikroobide pretsipitiinide valmistamiseks pritsitakse jänesele verde või kõhukoopasse korduvalt mikroobe, nende kultuuri filtraati või mikroobide ekstrakti. Antigeeni saamiseks kasvatatakse mikroobe mitme päeva või nädala jooksul puljongis. Kurnatakse läbi Chamberland'i küünla ja filtraati tarvitatakse immuniseerimiseks. Mikroobide ekstrakti valmistamiseks võib agaarsöötme pinnalt mikroobid eraldada ja neid kauema aja jooksul hoida 0,85 % NaCl-lahuses. Mida vanemad on kultuurid ja mida kauemini neid leotatakse 0,85% NaCl-lahuses, seda rohkem saame antigeeni. Mikroobide pretsipitinogeene võib sadestada alkoholiga või väävelhappe-ammooniumiga; nad on püsivad soojuse, pepsiini ja trüpsiini toimele. Teised pretsipitinogeenid, nii kui vereseerum, lihaekstraktid, ekssudaadid jne., on vähem püsivad pepsiini, trüpsiini, soojuse, hapete ja leeliste toimele.

Näiteks, kui me immuniseerime oinast jänese vereseerumiga, siis pretsipiteerib oina seerum tugevalt jänese seerumit ja nõrgemalt merisea seerumit. Samuti on lugu mikroobide pretsipitiinidega. Antimeningokokkide seerum pretsipiteerib intensiivselt meningokokkide autolüüsi ekstrakti ja nõrgemalt paljude teiste mikroobide ekstrakte. DOPTER näitas, et spetsiifiliste pretsipitiinide kõrval leiduvad ka grupiehk kopretsipitiinid. Grupipretsipitatsiooni reaktsiooni üle selgusele jõudmiseks tarvitas WEICHARDT pretsipitiinide absorptsiooni reaktsiooni, mis on sarnane Castellani katsega agglutiniinide kohta. Näiteks, kui inimese vereseerumiga immuniseeritud jänese seerum pretsipiteerib ahvi vereseerumit, siis võetakse immuunseerum, lisatakse juurde $^1/_{10}$ osa ahvi seerumit, tsentrifugeeritakse ja filtreeritakse, et vedelikku sademest vabastada. Seda korratakse vähemalt kaks korda. Saadud filtraat pretsipiteerib ainult inimeseseerumit. Weichardt'il läks korda säärase katsega differentseerida koguni ühe inimese verd teise inimese verest. Igatahes peab silmas pidama, et pretsipitiinid

avaldavad kõige spetsiifilisemat toimet nende loomade organismist saadud valkude peale, kes üksteisest fülogeneetiliselt kaugel seisavad.

Pretsipiteeriva seerumi valmistamine on sagedasti seotud suurte raskustega. Iga loom ei anna head pretsipitiini; sellepärast peab ühel ajal mitut looma immuniseerima.

Mikroobide pretsipitiinide valmistamiseks võib looma immuniseerida kultuuride filtraadiga. PICK soovitab filtraadist sadestada mikroobide pretsipitinogeeni. Selleks lisatakse filtraadile juurde 6-kordne hulk 95° alkoholi, filtreeritakse läbi paberi, kogutakse sade filtrile ja kuivatatakse toatemperatuuris. Samuti võib pretsipitinogeeni sadestada küllastatud väävelhappe - ammooniumiga. Saadud sadet pestakse korduvalt veega ja sulatatakse enne süstimist füsioloogilises lahuses. Analoogiliselt võib pretsipitinogeeni saada looma- ja taimerakkudest ja -kudedest.

Vereseerumit, mida tarvitatakse immuniseerimiseks, peab steriilselt koguma ja tagavaraks hoidma. Verd võetakse inimesel tõmbsoone punktsiooni teel (v. mediana), või kogutakse seda sünnituse puhul nabanööörist; ka värskest koolnust võetud verd võib tarvitada seerumi saamiseks. Enne injektsiooni soendatakse seerumit prooviklaasiga soojas vees (38—40° C.).

Immuniseerimiseks kõige paremad on jänesed. Bakterite pretsipitiini saamiseks süstitakse jänesele ülaltähendatud mikroobide ekstrakti iga 3 päeva järel kõhukoopasse. 10 päeva pärast kolmandat injektsiooni leiame verest kõige suuremal hulgal pretsipitiine. Samuti võib immuniseerida naha alla või verde süstimise teel.

Vereseerumiga immuniseerimiseks võetakse noored, terved ja hästi toidetud jänesed (valged on paremad). Turult ostetud loomad ei ole kõlvulised, sest võib juhtuda, et neid juba varemini mõnesugusteks katseteks on tarvitatud. Immuniseerimise kestusel peab looma hästi toitma ja puhtas soojas ruumis hoidma. Immuniseeritakse ühel ajal 5—10 jänest, sest igast jänesest ei saa kõlvulist pretsipiteerivat immuunseerumit. Seerumit süstitakse jänesele kõrva-tõmbsoonde (1—2 sm^3) või kõhukoopasse (5—10 sm^3). Süstima peab üldiselt 4—5 korda, iga 2—3 päeva järel. 6—7 päeva pärast viimast süstimist võetakse kõrvast verd (2—3 sm^3) ja proovitakse seerumi pretsipiteerivat toimet. Selleks lahjendatakse antigeeni (seerumit) 0,85% NaCl-lahusega 1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 20 000 peale; igast lahjendist võetakse puhtasse, kuiva, kitsasse prooviklaasi 0,9 sm^3 ja lisatakse juurde igaühte 0,1 sm^3 immuunseerumit (pretsipitiini). Klaaside taha mahutatakse tükk musta paberit, et pretsipitaat oleks paremini näha. Pretsipitaat tekib kas silmapilkselt või 3—5 minuti jooksul. UHLENHUTH peab kõlvuliseks ainult niisugust seerumit, mis 5 min. jooksul annab antigeeni lahjenduses 1 : 20 000 pretsipitatsiooni alguse. Samal ajal proovitakse ka immuunseerumi spetsifiteeti. Selleks võetakse mitmesuguste loomade normaalseerumit, lahjendatakse 1 : 1000 peale, võetakse prooviklaasidesse 0,9 sm^3 igaühest ja lisatakse juurde 0,1 sm^3 immuunseerumit. Tekib sade ainult selles klaasis, kus viibib antigeeniks tarvitatud vereseerum (1 : 1000), siis võib pretsipiteerivat seerumit spetsiifiliseks pidada. Kontrolliks võetakse

ühte klaasi 0,9 sm³ 0,85% NaCl-lahust ja lisatakse juurde 0,1 sm³ immuunseerumit, kus ei tohi sadet tekkida, kui seerum on kõlvuline. Näitavad eelproovid, et immuunseerum on küllalt toimiv ja spetsiifiline, siis lastakse jänest 12—24 tundi nälgida (ilma vee ja söögita); et selgemat seerumit saada, kloroformeeritakse, vabastatakse aseptiliselt art. carotis; veri kogutakse steriilsesse kolbi ja hoitakse 24 tundi jääkapis. Selle järel kogutakse seerum klaaspipettidesse ja mõlemad pipeti otsad joodetakse tule peal kinni. Pipettides peab seerum seisma mõne päeva. Siis valatakse seerum 1—15 sm³ ampullidesse ja säilitatakse pimedas külmas kohas.

Täpsate resultaatide saavutamiseks pretsipitatsiooni reaktsiooni abil peab uuritavast ainest ekstraktid (antigeen) valmistama. Kohtulikus arstiteaduses tarvitatakse seda reaktsiooni veritähnide, spermatähnide jne. uurimiseks, kus kõlvulise ekstrakti saamine on sagedasti seotud suurte raskustega. Riiete küljest peab välja lõikama need kohad, kus leidub veri- või spermatähne. Need osad lõigutakse puruks ja hoitakse 12—24 tunni jooksul toasoojuses või jääkapis 0,85% NaCl-lahuses. On uuritavad tähnid vanad, siis lisatakse füsioloogilisele lahusele juurde 0,25% soodat. Kui aine on kuivanud puu- või raud-asjade külge, siis peab selle steriilse terariistaga ära kraapima ja ülaltähendatud lahustes leotama. Saadud ekstrakti peab hoolega filtreerima, et ta selge oleks. Reaktsiooniks peab tarvitama aine lahjendit 1:1000. Seda võib järgmiselt ligikaudu kindlaks määrata: ekstraktidele lisatakse juurde üks tilk 25% NHO_3 ja keedetakse; kui lahuses on munavalget 1:1000 peale, siis muutub ekstrakt opalestseeruvalt segaseks. Tarbe korral peab ekstrakti lahjendama. Alguses peab kindlaks tegema, kas pretsipiteeriv seerum annab tõesti pretsipitaadi riide, puu jne. külge kuivatatud veritähnist saadud ekstraktiga. Seda proovi demonstreerib järgmine tabel:

Klaas	pretsipitiin	normaalseerum	ekstrakt	0,85% NaCl	result.
1	0,1	—	0,9	—	Sade 5—20 min.
2	—	0,1	0,9	—	selge
3	0,1	—	—	0,9	selge

Klaase ei tohi loksutada ja reaktsioon peab ilmuma toasoojuses 20 min. jooksul või varemini. Kui on tarvis kindlaks teha, kas pesu küljest leitud veritähnid sisaldavad inimese verd või ei, siis toimetatakse katse UHLENHUTH'i ja WEIDANZ'i järele järgmiselt:

Klaas nr. 1: Uuritava veritähni ekstrakti 0,9 + 0,1 antiseerumit = sade.
„ nr. 2: „ „ „ 0,9 + 0,1 jänese normaalseerumit = selge.
„ nr. 3: Inimese seerumit (1:1000) 0,9 + 0,1 antiseerumit = sade.

Klaas nr. 4: Heteroloogilist seerumit (1 : 1000) 0,9 + 0,1 antiseerumit = selge.
„ nr. 5: 0,85% NaCl-lahust 0,9 + 0,1 antiseerumit = selge.
„ nr. 6: Substraadi ekstrakti 0,9 + 0,1 antiseerumit = selge.

Sellest katsest näeme, et nr. 1 klaasis asub sama veri, mis on nr. 3 klaasis, see tähendab, inimese veri.

Kui uuritavat materjali on vähe, siis imetakse kapillaarse klaastoru sisse 1—2 tilka veritähni ekstrakti ja 1—2 tilka immuunseerumit ja toru otsad suletakse vahaga. Pretsipitaat tekib kõige kiiremini vedelikkude kokkupuutumise kohal (valkjas segane rõngas).

Kui immuniseerime jänest mikroobide valguga, siis saame veres mikroobile vastavad pretsipitiinid. Katseks lisatakse teatava hulga steriilsele mikroobide ekstraktile juurde kord-korralt vähenev hulk (0,5; 0,3; 0,2; 0,1; 0,05) immuunseerumit.

ASCOLI soovitas pretsipitatsiooniks nõndanimetatud «rõnga» proovi: 6 sm kõrgusesse ja 0,5 sm laiusesse prooviklaasi võetakse immuunseerumit, lisatakse kapillaarpipetiga ettevaatlikult antigeeni juurde ja lastakse seista. Vedelikkude kokkupuute-kohal tekib pretsipitaadirõngas. Infektsiooni diagnoosiks tarvitatakse pretsipitatsiooni reaktsiooni ainult üksikuil juhtumusil (malleus, anthrax, meningitis cerebrosp. epidemica, echinococcus).

Pretsipitatsiooni reaktsioon leiab laialist tarvitust toiduainete võltsimise kindlaksmääramisel. Selleks peavad tagavaraks olema immuunseerumid kõiksuguste lihaliikide tarvis. Lihaekstrakti võib järgmiselt valmistada: võetakse tükk liha (värske, külmunud, suitsetatud või soolatud) või lihaprodukti, lõigutakse puruks, lisatakse juurde (1 : 50 värskele, 1 : 25 soola- või suitsulihale) 0,85% NaCl-lahust, mis sisaldab 0,5% acid. carbol. Segu hoitakse 24 tundi jääkapis, loksutatakse sagedasti segi, lõpuks filtreeritakse ja filtraat tarvitatakse reaktsiooniks. Ligisuguluses seisvate loomade liha on pretsipitatsiooni reaktsiooni abil raske differentseerida ja saadud resultaadid on sagedasti kahtlased. Huvitav on, et kõikide loomade silmaläätse valgud on sarnased pretsipitatsiooni suhtes. Samuti näitab pretsipitatsiooni reaktsioon, et silmaläätse valgud erinevad sama looma vere ja teiste kudede valkudest.

ASCOLI ja VALENTI leidsid 1911. a., et siberi katku immuunseerum annab pretsipitatsiooni reaktsiooni siberi katku haigete loomade organitest keetmise teel saadud ekstraktiga, kuna teised antigeenid keetmise läbi seesuguse omaduse harilikult kaotavad. Keetmise teel saadud antigeeni nimetatakse termostabiilseks bakterite antigeeniks, reaktsiooni ennast nimetatakse *termopretsipitatsiooniks*. Seesuguse antigeeni valmistamiseks võetakse haige looma peeneks lõigutud organ, lisatakse juurde 5—10 korda suurem hulk 0,85% NaCl-lahust, keedetakse umbes 2 minuti jooksul, filtreeritakse läbi paberi või asbesti ja filtraati tarvitatakse pretsipitatsiooni reaktsiooniks. Termopretsipitatsiooni reaktsioon on leidnud juba tarvitust sigade punatõve, gaasigangreeni, paratüüfuse, tuberkuloosi, katku, tähnilise soetõve ja iseäranis pneumokokkide infektsiooni diagnoosiks.

Pretsipitatsiooni reaktsioon on üks tundlikumaist bioloogilistest reaktsioonidest, mis eksituste ärahoidmiseks tarvitab mitmekesiseid kontrolle ja suurt ettevaatust, iseäranis kui seda tarvitatakse kohtulikuks ekspertiisiks.

Komplemendi fikseerimise reaktsioon.

BORDET ja GENGOU leidsid 1901. a., et komplement, liitudes spetsiifilise ambotseptoriga ja antigeeniga, aktiveerib ambotseptori tegevust. Oma klassiliseks katseks võtsid Bordet ja Gengou b. typhi kultuurist valmistatud suspensiooni (antigeen), lisasid sellele juurde inaktiveeritud tüüfuse immuunseerumit (ambotseptor) ja merisea seerumit (komplement); saadud segus võis näha mikroobide sulamist (lysis). Selle järel lisasid nad segule juurde pestud erütrotsüüte ja homoloogilist hemolüsiini. Säärases segus ei olnud märgata hemolüüsi. Bordet ja Gengou järeldasid sellest, et bakteriolüütilise protsessi aegu on komplement täielikult fikseeritud. Kordame sama katset tüüfusebatsillidega ja heteroloogilise (koolera) immuunseerumiga, siis järgneb küll hemolüüs, kuid ei ole näha mikroobide sulamist.

Hemolüütiline süsteem on komplemendi fikseerimise reaktsioonis ainult indikaatoriks, mis teeb antigeeni, spetsiifilise ampotseptori ja komplemendi liitumise silmale nähtavaks.

Komplemendi fikseerimise reaktsioon omandas kiiresti suure tähtsuse bioloogias. Tarvitades reaktsiooniks ühte või teist antigeeni on võimalik kindlaks teha, kas viibib uuritavas vereseerumis vastav spetsiifiline ambotseptor, mis näitab infektsiooni iseloomu. Ümberpöördult võib tuntud immuunseerumi abil antigeeni (viiruse) loomust kindlaks määrata. Praegusel ajal tarvitatakse Bordet-Gengou reaktsiooni mitmekesiste infektsioonide diagnoosiks.

Komplemendi fikseerimise reaktsiooni tarvis võeti alguses antigeenina mikroobide suspensiooni, kuid WASSERMANN ja BRUCK leidsid, et mitte ainult mikroobid, vaid ka nende ekstraktid on kõlvulised antigeeniks.

Suure praktilise tähtsuse omandas BORDET ja GENGOU reaktsioon pärast seda, kui WASSERMANN, NEISSER ja BRUCK (1906. a.) seda tarvitama hakkasid süüfilise diagnoosiks. Sellest ajast peale sai Bordet-Gengou reaktsioon üldiselt tuttavaks Wassermanni (lühendatult Wa. R.) reaktsiooni nime all. Seda reaktsiooni tarvitatakse praegusel ajal mitte ainult diagnostiliseks otstarbeks, vaid selle abil on võimalik kontrollida ka süüfilise ravitsemise tagajärgi.

Antigeeniks võeti alguses Wassermanni reaktsioonis süüfilisega infitseeritud loote maksa ekstrakti, sest seesugune maks sisaldab suurel hulgal haiguseviirust (spirochaeta pallida). Pea selgus (LANDSTEINER), et Wassermanni reaktsioonis võib tarvitada antigeeniks härja, inimese ja merisea südamelihaste ekstrakti või mitmekesiseid lipoidolluseid (mittespetsiifiline antigeen).

Wassermanni reaktsiooniks on tarvilikud järgmised komponendid:
1. Antigeen. Spetsiifilise antigeeni valmistamiseks võetakse süüfilisega infitseeritud loote maks, uuritakse seda spiroheetide sisalduse

suhtes ja tarvitatakse ainult säärast maksa, mis suurel hulgal spiroheete sisaldab. Maks lõigutakse tükkideks, hõõrutakse uhmris puruks steriilse liivaga, saadud mass mahutatakse pudelisse, valatakse peale 96° alkoholi, nii et 1 g maksamassi peale tuleks 50 sm³ alkoholi. Segu lastakse seista 48 tundi toatemperatuuris, mahutatakse siis üheks ööks termostaati 37° C., loksutatakse 24 tunni jooksul loksutamisaparaadis ja lastakse veel seista 8—12 tundi termostaadis. Kurnatakse läbi paberfiltri, nii et filtraat täielikult selge oleks. Filtraati tarvitatakse antigeeniks. Vee-ekstrakti valmistamiseks võetakse iga grammi süüfilise-maksamassi peale 4 sm³ 0,85% NaCl-lahust, mis sisaldab 0,5% acid. carbolic., loksutatakse 24 tunni jooksul, tsentrifugeeritakse ja pealmist selget osa tarvitatakse antigeeniks.

Mittespetsiifilise antigeeni valmistamiseks võetakse harilikult süda (merisea, härja, inimese oma), vabastatakse see verest ja rasvast ning hõõrutakse uhmris puruks; iga grammi südamemassi peale võetakse 5 sm³ 95° alkoholi, lastakse seista mõni tund 60° C. soojuses, filtreeritakse läbi paberi ja saadud filtraati tarvitatakse antigeeniks.

KAPSENBERG soovitab valmistada antigeeni südamelihaste kuivast pulbrist, mida kaua aega võib muutumata alal hoida. Selleks võetakse inimese või looma süda, vabastatakse rasvast ja verest (pressitakse linase rätiku sees), lõigutakse väikesteks tükkideks ja kuivatatakse klaasplattide peal 35—50° C. soojuses, et vesi võimalikult kiiresti ära auraks, enne kui roiskumisprotsessid algavad. Kuivanud lihased hõõrutakse uhmris võimalikult peeneks pulbriks, sõelutakse läbi tiheda sõela ja saadud pulbrit hoitakse rõskuse eest kaitstult pruunist klaasist pudelikeses. Rõskuse mõjul kaotab pulber oma väärtuse. Antigeeni ekstrakti valmistamiseks võetakse 30—40 milligrammi pulbrit 5 sm³ 96° alkoholi peale, loksutatakse 10 minuti jooksul ja kurnatakse läbi paberi. Ekstrakti võib pulbrist ex tempore valmistada. Avaldab ekstrakt hemolüütilist toimet, siis peab pulbrit uuesti kuivatama ja uut ekstrakti valmistama. Ekstrakti lahjendatakse ex tempore 1 : 5 peale 0,85% NaCl-lahusega ja reaktsiooniks võetakse 1 sm³. Iga uut ekstrakti (antigeeni) peab enne lõplikku tarvituselevõtmist kauemat aega (4—6 näd.) võrdlema juba tuntud antigeeniga ja kui resultaadid on ühesugused, siis on ekstrakt kõlvuline. Antigeeni peab alal hoidma pimedas jääkapis kindla korgiga klaasis.

Kui võtame reaktsiooniks suurel hulgal antigeeni, siis võib see ise ilma ambotseptori abita komplementi fikseerida. Reaktsiooniks ei tohi rohkem antigeeni võtta, kui pool osa kõige suuremast hulgast, mis teatud hulga komplementi ei fikseeri. Selleks peab iga antigeeni enne tarvitamist titreerima. Titreerimist demonstreerib järgmine tabel: (162. lhk.).

Segud hoida 30 min. veevannis 37° C. soojuses, neid korduvalt segi loksutades. Sellest tabelist näeme, et 0,4 sm³ on kõige suurem antigeeni hulk, mis võetud komplemendi hulka ei suuda siduda; sellepärast peab Wassermanni reaktsiooniks võtma 0,2 sm³ ehk veel vähem antigeeni. Peab tähendama, et ka seesugusel antigeeni hulgal (0,2 sm³) on antikomplementaarne toime, kuid niivõrt väike, et seda arvesse ei võeta harilikkudel uurimistel. Täpsamate reaktsioo-

nide korral peab vastava titreerimise abil kindlaks määratama komplemendi hulk, mida võetud antigeen ise suudab fikseerida.

Klaas nr.	antigeeni	komplementi 1 : 10	hemolüütil. ambots. 2× tiiter	erütrotsüüte 5% suspens.	0,85% NaCl	resultaadid
1	0,1 sm³	1 sm³	1 sm³	1 sm³	0,9 sm³	hemolüüs
2	0,2 „	1 „	1 „	1 „	0,8 „	hemolüüs
3	0,3 „	1 „	1 „	1 „	0,7 „	hemolüüs
4	0,4 „	1 „	1 „	1 „	0,6 „	hemolüüs
5	0,5 „	1 „	1 „	1 „	0,5 „	osaline hemolüüs
6	0,6 „	1 „	1 „	1 „	0,4 „	0

2. Komplemendi saamist toimetatakse nii, kuis ülalpool kuulsime. Teda lahjendatakse steriilse 0,85% NaCl-lahusega 1 : 10 peale ja titreeritakse iga kord enne tarvitamist.

3. Uuritav vereseerum. Uurimiseks võetakse verd harilikult punktsiooni abil v. mediana'st. 3—5 sm³ verest jätkub tarviliku hulga seerumi saamiseks. Kui ei ole võimalik veeni punkteerida, siis võib verd saada sõrme otsa või kõrvalehte Franke nõelaga või lantsetiga pistetud haavast. Et veri haavast kiiremini eralduks, võib sõrme enne haavapistet kuumas vees hoida. Veri kogutakse prooviklaasi ja mahutatakse $^1/_2$ tunniks termostaati 37° C., siis vabastatakse koaguleerunud veri nõelaga klaasi seinte küljest ja klaas mahutatakse jääkappi, kus seerum eraldub. Tsentrifugeerimise abil võib kiirendada seerumi saamist. Seerum kogutakse pipetiga steriilsesse prooviklaasi ja inaktiveeritakse $^1/_2$ tunni jooksul 56° C. soojuses veevannis. Steriilselt võib seerumit külmas kohas päevade kaupa alal hoida, kuid peab tähendama, et reaktsiooniks peab võimalikult värsket seerumit tarvitama.

Postiga laboratooriumi uurimisele saatmiseks mahutatakse inaktiveeritud seerum, liq. cerebrospinalis jne., steriliseeritud kuiva klaasikesse ja kaetakse see kindla steriilse korgiga. Veel parem on võtta immuunseerumite alt vabanenud ampull, see puhtaks pesta ja piirituselambitulel steriliseerida. Aine mahutatakse klaaspipetiga jahtunud ampulli ja pannakse pealt kinni. Uurimiseks peab saatma materjali mitte vähem 1,0 sm³. Üksikuil kordadel peab Wassermanni reaktsiooni tegema inaktiveerimata seerumiga ja teiste vedelikkudega, kuid siis peavad need täielikult värsked olema, reaktsiooni tegemise päeval patsiendilt võetud.

4. Hemolüütilise ambotseptori valmistamisest oli kõne ülalpool. Wassermanni reaktsiooniks võetakse 3—4-kordne ambotseptori tiiter. Kui hemolüütilist seerumit hoitakse steriilselt ampullides külmas pimedas kohas, siis on ta kaua püsiv ja tema titreerimist peab ainult mõne aja järel kordama.

5. Erütrotsüüdid. Harilikult valmistatakse oina erütrotsüütidest 5% suspensioon 0,85% NaCl-lahuses, nii kui ülalpool kuulsime. Ambotseptori lahust ja erütrotsüütide suspensiooni võib teineteisest lahus reaktsiooniks tarvitada, kuid parem on erütrotsüüte alguses sensibiliseerida. Selleks võetakse 5% erütrotsüütide suspensioon, millele sama hulk hemolüütilise ambotseptori lahust juurde lisatakse. Segatakse hoolega segi ja lastakse seista 1—2 tundi (mitte rohkem) jääkapis või 30 min. termostaadis; selle järel tsentrifugeeritakse segu ja eraldatakse pealmine vedelik. Erotrotsüütide sademele lisatakse juurde niipalju 0,85% NaCl-lahust, et suspensioon oleks 2,5%, mida siis kaks kord rohkem kui 5% erütrotsüütide suspensiooni reaktsiooniklaasidesse juurde lisatakse. Erütrotsüütide sensibiliseerimine on tarvilik hemolüütilise ambotseptori mõju kõrvaldamiseks komplemendi fikseerimise reaktsiooni käigu peale. 0,85% NaCl-lahus, samuti ka pipetid ja klaasid, mida Wassermanni reaktsiooniks tarvitatakse, peavad olema steriilsed ja puhtad kõrvalisist aineist.

Kui on valmis kõik komponendid, mida Wassermanni reaktsiooniks tarvis läheb, siis alatakse peakatset. Selleks peab valmis olema tarvilik hulk täiesti puhtaid ja kuivi pipette (1 sm^3 jagatud $^1/_{100}$), ühesuurused steriilsed kuivad prooviklaasid ja steriilsed kuivad kolvikesed ainete lahjendite valmistamiseks. Prooviklaasid märgitakse numbritega ja seatakse valmis statiivi. Gradueeritud pipettidega mõõtes peab iga kord pipetti ainult niipalju vedelikku imema, kui ühe prooviklaasi jaoks tarvis läheb. Imeme pipetti mitme prooviklaasi tarvis jätkuva hulga vedelikku, siis on sellest raske välja lasta seda hulka, mida tarvis läheks ühele prooviklaasile.

Alguses valmistatakse antigeenist niisugune lahjend 0,85% NaCl-lahusega, mis sisaldaks 1,0 sm^3 tarviliku hulga antigeeni, mis eelkatse abil kindlaks määrati. Antigeeni lahjendit peab alati vähe rohkem valmistama, kui seda matemaatilise väljaarvutamise järele tarvis läheks.

Uuritavat vereseerumit võetakse harilikult 0,2 sm^3 iga proovi tarvis, mis iseenesest ei avalda suurt antikomplementaarset mõju. Kontrolliks võetakse aga 0,4 sm^3 vereseerumit (kahekordne hulk), mis reaktsiooniks võetavat komplemendi hulka ei tohi fikseerida, kui seerum kõlvuline on reaktsiooniks. Täpsam oleks reaktsioon, kui uuritavat seerumit alguses niisama kui antigeeni titreeritakse, et teada oleks, kui suure hulga komplementi seerum fikseerib. Komplement lahjendatakse steriilse 0,85%-NaCl-lahusega 1 : 10 ja iga proovi tarvis võetakse $2^1/_2$ hulk, mis 1 sm^3 5% erütrotsüütide suspensiooni hemolüüsiks tarvis läks. Näiteks, kui 1 sm^3 5% erütrotsüütide suspensiooni hemolüüsiks oli tarvis 0,04 sm^3 lahjendamata või 0,4 sm^3 lahjendatud komplementi, siis peab iga proovi tarvis võtma 0,1 sm^3 lahjendamata või 1,0 sm^3 lahjendatud komplementi. Wassermanni reaktsiooni peab alati vähemalt kahe isesuguse antigeeniga tehtama. Samuti peab alati ühel ajal reaktsiooni tehtama kontrolliks kindlalt süüfilisehaige ja normaalse vereseerumiga.

Järgmine tabel näitab, kui palju ja missuguses järjekorras peab võtma iga komponenti:

Prooviklaasi sisaldus	uuritav seerum			normaalne seerum			süüfilise seerum			kontrollid		
Prooviklaasi number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Seerum lahjend. 1 : 5 peale sm^3	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	2,0	—	—	—
Antigeen I lahj. sm^3	1,0	—	—	1,0	—	—	1,0	—	—	1,0	—	—
Antigeen II „ „	—	1,0	—	—	1,0	—	—	1.0	—	—	1,0	—
Komplement lahjend. 1 : 10 sm^3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
0,85% NaCl-lahus sm^3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,0	1,0	2,0

$^1/_2$ tunniks veevanni 37° C. või 1 tunniks termostaati 37° C.

Sensibiliseeritud erütrotsüütide suspensiooni $2^1/_2$% sm^3	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Pärast sensibiliseeritud erütrotsüütide suspensiooni juurdelisamist mahutatakse prooviklaasid segudega $^1/_2$ tunniks veevanni 37° C. või 1 tunniks termostaati 37° C. soojusse. Õigem on valvata, kuni prooviklaasides nr. 3, 6 ja 9 täielik hemolüüs tekib, ja siis veel hoida kõik klaasid 37° C. soojuses ülaltähendatud aja jooksul. Selle järel võib näha hemolüüsi resultaate. Lõplikkude andmete saamiseks peab prooviklaasid segudega mahutama 12—24 tunniks jääkappi, et sulamata erütrotsüüdid klaaside põhja langeksid. 37° C. soojuses viibimise ajal peab prooviklaase segudega korduvalt kergelt loksutama, kuna nad jääkapis liikumata peavad seisma. Kokkuhoidmise mõttes võib Wassermanni reaktsiooniks võtta poole osa ülaltähendatud komponentide hulgast, kuna veel vähemate osade tarvitamine soovitav ei ole, sest nende mõõtmine on raske ja mitte küllalt täppis.

Erütrotsüüte võib peale ülaltähendatud meetodi veel sel teel sensibiliseerida, et me segi segame ambotseptori lahuse sama hulga erütrotsüütide suspensiooniga ja segu $^1/_2$ tundi 37° C. soojuses hoiame, millest siis igale prooviklaasile 2,0 sm^3 juurde lisame. Vähem soovitav on meetod, kus hemolüütilise ambotseptori lahjend eraldi erütrotsüütide suspensioonist juurde lisatakse (kummastki 1,0 sm^3 igale prooviklaasile).

Kui on tarvis uurida mitut seerumit, siis võetakse prooviklaase nr. 1, 2 ja 3 nii mitu rida, kui palju on uuritavaid seerumeid.

Sisaldab uuritav seerum süüfilise ambotseptori, siis liitub see antigeeniga ja komplemendiga, mille tõttu viimane ei avalda oma tegevust indikaatoriks võetud hemolüütilise süsteemi puhul. Seesugusel korral ei ilmu hemolüüs ja Wassermanni reaktsiooni nimetatakse positiivseks. Puudub aga uuritavas seerumis süüfilise ambotseptor, siis jääb komplement vabaks, ta ühineb hemolüütilise süsteemiga, mille tagajärjel erütrotsüüdid täielikult ära sulavad, ja Wassermanni reaktsiooni nimetatakse sel korral negatiivseks. Nende äärmiste või-

maluste kõrval võib tähele panna mitut ülemineku-astet, kus esineb ainult osaline hemolüüs. Wassermanni reaktsiooni resultaate tähendatakse harilikult järgmiste märkidega: 1. (++++) — täielikult positiivne reaktsioon, kus erütrotsüüdid viibivad sademena prooviklaasi põhjas ja pealmine vedelik on täielikult värvita. 2. (+++) — positiivne reaktsioon; erütrotsüüdid põhjas, vedelik nende peal nõrgalt punakas. 3. (++) — nõrk reaktsioon, umbes $^3/_4$ erütrotsüütidest prooviklaasi põhjas, $^1/_4$ nendest on ära sulanud, pealmine vedelik punane. 4. (+) — väga nõrk reaktsioon; prooviklaasi põhjas vähe erütrotsüüte, pealmine vedelik täielikult punane. 5. (—) — negatiivne reaktsioon; vedelik veripunane, sademes puuduvad erütrotsüüdid. Sagedasti on raske otsustada, kas Wa. R. on nõrgalt positiivne või negatiivne; siis märgitakse resultaat (±), mis näitab, et tegemist on kahtlase seerumiga, millega reaktsiooni lühema või pikema aja järel peab kordama. Kui uuritav seerum on süüfilisehaige oma, siis oleks eelmise tabeli järele hemolüüs nr. 3., 4., 5., 6., 9., 10., 11. ja 12. prooviklaasis ja hemolüüs puuduks nr. 1., 2., 7. ja 8. prooviklaasis. On aga uuritav seerum terve inimese oma, siis oleks hemolüüs ka nr. 1. ja 2. prooviklaasis.

Kui uuritav vereseerum takistab hemolüüsi (nr. 3. klaas), siis peab sama isiku verd 1—2 nädala järel uuesti uurima. Wa. R. tarvitades peab suurt rõhku panema kontrollide peale ja igal kahtlasel juhtumusel reaktsiooni kordama.

Peale vereseerumi võib Wa. R. teha haigelt saadud liq. cerebrospinalis'ega, piimaga, pleura-, perikardiumi ja peritoneumi trans- ja ekssudaatidega ja vesisonga (hydrocele) vedelikuga.

Wassermanni reaktsiooni originaalmeetodit, kus tarvitati antigeeniks süüfilise lootemaksa ekstrakti, on mitu autorit katsunud modifitseerida. LANDSTEINER, MÜLLER ja PÖTZL leidsid, et antigeeniks võib tarvitada Wa. R. puhul normaalsete organite ekstrakti. PORGES, MEIER ja SACHS tõendasid, et antigeeniks võib tarvitada letsitiini ja natr. oleinic. emulsiooni. Sellega kadus arvamine, et Wa. R. puhul võib ainult spetsiifiline antigeen süüfilisehaige seerumis viibiva ambotseptoriga liituda. Sama omadust leiame ka mittespetsiifilistel antigeenidel, mis näitab, et Wa. R. ei ole, sõna täies ulatuses, süüfilisele spetsiifiline reaktsioon.

SACHS oletas, et seerumi inaktiveerumise tagajärjel võib puruneda süüfilise ambotseptor, mille tõttu Wa. R. võib negatiivseks muutuda. Igas värskes vereseerumis viibib komplement, mille põhjal STERN soovitas võtta Wa. R. tarvis aktiivse uuritava seerumi, ilma merisea seerumit (komplementi) juurde lisamata. Selle modifikatsiooni puhul tuleb silmas pidada, et aktiivne seerum võib anda positiivse Wa. R. ka siis, kui ta ei ole süüfilisehaige oma; teiseks on komplemendi hulk inimese vereseerumis väga muutlik, mis Wa. R. täpsust vähendab.

Katsed tõendavad, et iga vereseerum sisaldab võõra erütrotsüütide hemolüsiine; sellepärast soovitas BAUER teha Wa. R. ilma spetsiifilise hemolüsiinita. Ülaltähendatud modifikatsioonid hõlbustavad tehniliselt Wa. R., kuid vähendavad seejuures märksa reaktsiooni väärtust; sellepärast peab nende modifikatsioonide tarvitamisega ettevaatlik olema.

NOGUCHI soovitab tarvitada Wa. R. puhul indikaatoriks inimese erütrotsüütide suspensiooni ja hemolüütilist ambotseptorit, mis saadakse inimese erütrotsüütidega immuniseerimise teel. Selle modifikatsiooniga oleks kõrvaldatud vereseerumis viibivate normaalsete hemolüsiinide toime, sest inimese seerum ei sisalda hemolüsiini inimese erütrotsüütidele. Peab tähendama, et inimese erütrotsüütidega on raske saada hästi toimivat hemolüsiini.

Peale nende leiame kirjanduses hulga teisi modifikatsioone, mis katsuvad Wa. R. kättesaadavaks teda praktilisele arstile (Dungerni meetod). Sellega satume seisukorda, kus igaüks töötab oma meetodiga ja saadud resultaadid lähevad üksteisest lahku. Soovitav oleks, et iga kord oleks ära tähendatud, missugust meetodit Wa. R. puhul tarvitati.

Käesoleval ajal ei ole veel võimalik ligemalt otsustada Wassermanni reaktsiooni loomu üle, kuid niipalju on kindel, et siin ei ole tegemist spetsiifilise antigeen + antikeha reaktsiooniga, vaid mittespetsiifilise lipoidide reaktsiooniga. Sellega võib seletada nähtust, et Wa. R. annab positiivse tagajärje paljude teiste haiguste puhul peale süüfilise. Nende haiguste alla kuuluvad: lepra, framboesia tropica, scarlatina, malaria, recurrens, typhus exanthematicus, pestis, beriberi, cachexia ja mõned teised. Sagedasti on Wa. R. positiivne pärast narkoosi.

Kõige selle peale vaatamata on Wa. R. suure praktilise tähtsusega süüfilise diagnoosiks, sest ülaltähendatud haigusprotsesside ja süüfilise vahel on kerge vahet teha kliinilise pildi põhjal.

Komplemendi fikseerimise reaktsioon omandab kordkorralt suurema tähtsuse serodiagnostikas. Uuemad uurimused on tõestanud, et soolte ussid tekitavad organismis antikehasid, mida Bordet-Gengou reaktsiooni abil võib tõendada, tarvitades antigeeniks parasiitide ehk nugiliste ekstrakti. Praktiliselt tarvitatakse komplemendi fikseerimise reaktsiooni sagedasti echinococcus'e haiguse diagnoosiks. Antigeeniks tarvitatakse säärasel korral punktsiooni abil saadud echinococcus'e põie vedelikku ehk echinococcus'e põie seinast valmistatud alkoholi ekstrakti (0,4 sm^3). Viimsel ajal leiab Bordet-Gengou reaktsioon laiemat tarvitust tuberkuloosi diagnoosiks, kusjuures antigeeniks võetakse mitmel viisil valmistatud tuberkuloosibatsillide ekstrakte.

NEUFELD ja HAENDEL leidsid, et valgu (antigeeni) organismi süstimise järel tekivad veres ollused, mis fikseerivad komplementi ja mida nimetatakse «Bordet antikehadeks». Ei ole veel kindlasti teada, kas «Bordet antikehad» on sarnased ambotseptoritega või kujutavad nad täiesti isesugust ollust, millel on antikomplementaarne toime. Seda silmas pidades soovitavad NEISSER, SACHS ja MORESCHI Bordet-Gengou reaktsiooni tarvitada valkude differentseerimiseks pretsipitatsiooni reaktsiooni asemel. Ambotseptoriks tarvitavad nad selles reaktsioonis valguga immuniseeritud jänese seerumit. Tähendatud reaktsioon leiab viimsel ajal tähelepanu kohtulikus arstiteaduses.

Immuniteedi mehhanism.

Vähe on küsimusi, mis nii palju vaidlusi oleksid esile kutsunud, kui küsimus immuniteedi mehhanismist. Vaatamata hulga teooriate peale, mis sellel alal on loodud, jäävad paljud küsimused lõplikult selgitamata. Toome siin lühidalt ainult need teooriad, mis rohkem huvi pakuvad.

Esimesel kohal võiks tähendada PASTEUR'i ja KLEBS'i teooriat, mis oletab, et mikroobid tarvitavad infitseeritud organismis ära kõik need ained, mis neile tarvilikud on sigimiseks. Tungivad samad mikroobid korduvalt organismi, siis ei leia nad organismis vastavat toitu ja ei sigi. See teooria ei suuda ära seletada loomulikku immuniteeti.

CHAUVEAU arvas, et mikroobid jätavad infektsiooni järel organismi substantsi, mis mikroobide kasvu takistab.

GRAVITZ oletas organismi rakkude harjumist mikroobidega.

Humoraalse teooria järele on immuniteet tingitud vere ja teiste organismi vedelikkude omadustest. Nad kas surmavad mikroobe või avaldavad kahjulikku mõju nende mikroobide peale, kelle vastu organism on vaktsineeritud. Selle teooria poolehoidjad arvavad, et organismi rakud ei võta osa immuniteedi tekkimisest. FODOR (1886) pani esimesena tähele, et vere-ringvoolu injitseeritud mikroobid kaovad sealt kiiresti ära. Sellest järgneb, et verel on bakteritsiidsed omadused. BUCHNER (1889) arvas, et vere bakteritsiidne omadus oleneb isesugusest substantsist, mida ta aleksiiniks nimetas. See teooria ei suuda ära seletada kõiki immuniteedinähtusi. Näiteks: külvame b. anthracis't refraktäärse või nende mikroobidega immuniseeritud looma verde (in vitro), siis sigivad nad seal kiiresti. Teisest küljest näeme, et jänese veri surmab kiiresti b. anthracis'e, kuid jänes on väga vastuvõtlik anthrax'ile.

Humoraalne teooria leidis suurt poolehoidu pärast seda, kui BEHRING ja KITASATO konstateerisid, et teetanuse ja difteria toksiiniga immuniseeritud loomade vereseerumil on antitoksiline toime. Nimetatud autorid seletasid immuniteeti järgmiselt: immuniseeritud loomade vereseerum sisaldab ollust, mis toksiine neutraliseerib, samuti kui happe ühinemine lehelisega annab neutraalse soola. See nõndanimetatud antitoksiline teooria ei suuda ära seletada kõiki immuniteedinähtusi. VAILLARD leidis, et nende loomade veri, kes on refraktäärsed teetanuse ja difteria vastu, ei ole antitoksilise toimega ja ei neutraliseeri teetanuse ja difteria toksiini in vitro. BEHRING, ROUX ja CALMETTE näitasid oma katsetega, et toksiini ja antitoksiini liitumise peale ei või vaadata kui keemilise protsessi peale, mille tagajärjel tekib neutraalne ja kahjuta substants. Toksiin võib vastavais tingimusis sellest ühendusest vabaneda ja mürgilist toimet organismi peale avaldada.

Tsellulaarse immuniteedi teooriaga on ligidalt seotud METŠNIKOV'i nimi. Tema oli esimene (1883. a.), kes katsete abil kindlaks tegi, et leukotsüüdid õgivad mikroobe ja seedivad neid oma rakuprotoplasmas. Pääseb korraga palju mikroobe organismi, siis ei suuda leukotsüüdid neid kõiki hävitada ja organism saab

infektsiooni. METŠNIKOV oletas fagotsütoosi ainult rändavail rakkudel-leukotsüütidel. VÕSSOKOVITŠ näitas 1886. a., et ka endoteeliumi rakkudel on fagotsütaarne tegevus. Suure tähtsusega on selles suhtes GOLDMANN'i, ASCHOFF'i, KOCH'i ja teiste arvates maksa ja põrna endoteelrakud. EWANS, BOWMANN, WINTERINITZ, BERRY, ROSENTHAL j. t. tõestasid oma katsetega, et fagotsütaarne omadus on üldine endoteelrakkudele. Selgus, et fagotsüüdid valivad oma toitu: ühed neist õgivad üht mikroobiliiki, teised jälle teist liiki. METŠNIKOV arvas, et mikroobide lahustumine fagotsüüdis sünnib isesuguse fermendi (cytasa) toimel. Uuemate uurimiste tagajärjel selgus, et ühed fagotsüüdid (mikrofaagid ja polünukleaarid) sisaldavad proteolüütilist fermenti, kuna teised (makrofaagid ja lümfotsüüdid) sisaldavad lipolüütilist fermenti. Ühed mikroobid avaldavad liikuvate fagotsüütide peale positiivset kemotaktilist toimet ja meelitavad neid enese poole, teised mikroobid avaldavad negatiivset kemotaktilist toimet ja tõukavad fagotsüüte endist eemale.

Fagotsütaarne reaktsioon on kolmeastmeline: 1) leukotsüütide väljarändamine vere kapillaaridest ja nende liginemine mikroobide pesale; 2) mikroobide õgimine ja 3) mikroobide hävimine fagotsüüdis. Täielikust immuniteedist võib ainult siis rääkida, kui fagotsüütide tegevus avaldub kõigis tähendatud kolmes astmes. Kui fagotsüüt ainult õgib mikroobe, kuid ei suuda neid seedida ega surmata, nii kui seda tähele võib panna tuberkuloosibatsillidega, siis ei või mõjuvast immuniteedist juttu olla. METŠNIKOV'i ja tema õpilaste uurimused on näidanud, et loomulik immuniteet on kahtlemata seotud fagotsütoosiga. BORDET' katsed demonstreerivad seda väga piltlikult. Kui süstime merisea kõhukoopasse nõrga virulentsiga streptokokke, siis koguneb sinna suur hulk fagotsüüte (mikrofaage), kes mikroobe õgivad ja neid seedivad. Merisiga jääb sel korral ellu. Süstime aga suure virulentsiga streptokokke merisea kõhukoopasse, siis leiame küll fagotsütoosinähtuse, kuid osa streptokokke jääb vabaks, need hakkavad sigima ja tekitavad surmava üldinfektsiooni. Kui me suurendame kunstlikult fagotsütoosi reaktsiooni, siis kasvab organismi vastupidavus infektsioonile. Süstime meriseale kõhukoopasse 10 sm^3 lihapuljongi, mis esile kutsub leukotsüütide kogunemist nimetatud koopasse, siis näeme, et seesugune merisiga on kõhukoopasse süstitud virulentseile mikroobidele vastupidavam kui normaalne merisiga. Ümberpöördult leiame, et säherdusel meriseal, kelle kõhukoopasse niisugust ollust süstiti, mis on negatiivse kemotaktilise toimega (oopium), kahaneb vastupidavus infektsioonile.

METŠNIKOV'i fagotsütaarne teooria leidis suurt poolehoidu, kuid ka mitte vähe vastaseid.

Ka tsellulaarne teooria ei suuda üksi ära seletada kõiki immuniteedinähtusi. Uue aja uurimused on tõestanud, et organismi immuniteet oleneb niihästi organismi vedelikkudest kui ka koe rakkudest ja fagotsüütidest. Praegusel ajal ei ole enam võimalik humoraalteooriat lahutada täielikult tsellulaarteooriast, sest organismi vedelikkude omadused olenevad organismi rakkudest ja rakkude funktsioonid on jälle seotud ümbritsevate mahlade omadustega.

Suurt poolehoidu leidis EHRLICH'i füüsikokeemiline immuniteediteooria, mis baseerub hüperregeneratsiooni seadustel ja mille abil võimalik oli ära seletada hulka immuniteedi nähtusi. Ka selle teooria kohta peab tähendama, et tal on oma puudused, kuid didaktiliseks otstarbeks paistab ta silma kui üks lihtsamaist ja kohasemaist.

Ehrlich'i teooria järele kujutab elusa protoplasma molekul aatomite kogu. Molekuli tsentraalse osa aatomite grupp on tarvilik rakule elamiseks, kuna «äär-ahelikud» on retseptoriteks, mis rakku seovad välisilmaga; need korraldavad vastavate toiduainete fikseerimist ja nende assimilatsiooni ning on kaitsjaks võõraste olluste vastu. Äär-ahelikud peavad olema väga mitmesugused, et võimaldada molekuli suurearvulisi ja mitmekesiseid reaktsioone. Äär-ahelikkude ja tsentraalse osa (tuuma) vahekorda võib samuti ette kujutada, kui aromaatilistes ühendites mitmekesiste gruppide ja bensooltuuma vahekorda. Äär-ahelikud ühinevad ainult vastavate valkudega (antigeenidega). FISCHER võrdleb äär-ahelikkude ja antigeeni vahekorda lukuga. Nii kui keerulist lukku võib pöörata ainult vastava võtmega, samuti võivad äär-ahelikud (retseptorid) ühineda ainult neile vastava valk-ollusega. Seda osa retseptorist, mis ühineb antigeeniga, nimetatakse haptofoorseks grupiks. Need ained, mis on rakule toiduks kõlvulised, lähevad kohe pärast retseptoritega ühinemist protoplasmasse ja assimileeruvad, kuna võõrad ollused, mida rakk toiduks ei või tarvitada, ühinevad küll retseptoritega, kuid vabanevad siis ühes retseptoritega tuuma küljest. Vabanenud retseptorite asemele tekivad uued, võõrale ollusele spetsiifilised retseptorid. Uusi retseptoreid tekib aga märksa rohkem, mis kokkukõlas on WEIGERT'i bioloogilise seadusega: iga vigastatud rakk regenereerub ärrituse toimel nii, et kadumaläinud osa asemele tekib rohkem uut ainet, kui kaduma läinud osa ise oli (hyperregeneratio). Suurel arvul tekkinud uued retseptorid vabanevad tuumast, satuvad organismi mahladesse ja liiguvad ühes nendega. Seesuguseid vabalt ringivaid retseptoreid nimetatakse antikehadeks ehk immuunkehadeks. Pääseb nüüd organismi spetsiifiline valk-ollus (antigeen), siis ühineb ta vabade retseptoritega, mis teda kahjutuks teevad, enne kui ta kokku puutub elusa rakuga. Vabad retseptorid (antikehad) on spetsiifilised, nad toimivad ainult nende antigeenide peale, mis neid esile kutsusid.

Kui organismi tunginud antigeen ei leia seal vastavaid retseptoreid, siis ei avalda ta paha toimet organismi peale. Loomulikku immuniteeti võiks nii ette kujutada, et organismi rakkudel puuduvad retseptorid, mis antigeeni (toksiini, mikroobe) suudaksid siduda. EHRLICH'i teooria abil võib ära seletada püsivat koe immuniteeti, mis kaua aega edasi kestab, peale seda, kui vereseerumis enam leida ei ole immuunkehasid. Immuniseeritud organismi rakud ei tõuka endist eemale vabu retseptoreid, kuid nad võivad kiirelt reageerida spetsiifilise ärrituse peale. Seesugusesse organismi pääsev antigeen (toksiinid, mikroobid) ei leia küll veres vastavaid vabu retseptoreid, kuid ta leiab koerakkudes tarvilisel hulgal spetsiifilisi retseptoreid, mis antigeeni kahjulikku toimet maha suruvad.

Ehrlich oletab, et retseptorid on mitmest kategooriast: 1) Esimese järgu retseptoritel on ainult üks haptofoorne grupp, mis anti-

geeniga võib liituda. Kui organismi rakkude peale toimib toksiin, siis tekivad vabad retseptorid, mis antitoksiini nime kannavad. Ehrlich'i arvates on toksiini molekulil kaks gruppi: mittetoksiline haptofoorne ja toksiline toksofoorne grupp. Toksiini haptofoorne grupp liitub retseptori haptofoorse grupiga. Kui retseptorid liiguvad vabalt veres (antitoksiinid), siis ühineb organismi pääsva toksiini haptofoorne grupp antitoksiini haptofoorse grupiga, mille tagajärjel toksofoorne grupp ei või enam mürgilist toimet avaldada koe rakkude peale, ja sellega on saavutatud organismi immuniteet toksiini vastu. Esimese järgu retseptorite hulka kuuluvad: antitoksiinid, antifermendid ja antikomplement. 2) Teise järgu retseptoritel on haptofoorse grupi kõrval veel üks tsümofoorne grupp. Haptofoorne grupp liitub antigeeniga, kuna tsümofoorne grupp oma tegevust avaldab ühe või teise reaktsiooni näol (agglutinatsioon, pretsipitatsioon). Teise järgu vabad retseptorid kujutavad agglutiniini ja pretsipitiini. 3) Kolmanda järgu retseptoritel on tsütofiilne ja komplementofiilne grupp. Rakust vabanenud kolmanda järgu retseptorid kujutavad antikeha ambotseptorit, mille tsütofiilne grupp liitub antigeeniga, kuna komplementofiilne grupp liitub komplemendiga. Antikehad, mis kujutavad kolmanda järgu vabu retseptoreid, lahustavad antigeeni (lüsiinid). Nende hulka kuuluvad hemolüsiinid, tsütolüsiinid, Bordet' antikehad ja opsoniinid.

Vaatamata selle peale, et EHRLICH'i teooria abil on võimalik arusaadavalt ja lihtsalt ära seletada palju immuniteedinähtusi, ei suuda ta siiski vastust anda kõigile küsimustele.

Uuemal ajal on tekkinud immuniteediteooriad, mis põhjenevad peaasjalikult kolloidide keemial. MADSEN ja ARRHENIUS ei olnud nõus Ehrlich'iga, et toksiinide ja antitoksiinide liitumine on sarnane kangete hapete ja leeliste liitumisega, mille tagajärjel tekib neutraalne ollus. Nemad oletasid, et toksiin ja antitoksiin liituvad nii kui nõrgad alused (NH_3) ja nõrgad happed ($B(OH)_3$), mille tõttu tekib neutraalne aine, kuid osa toksiinist ja antitoksiinist jääb siiski vabaks. Neutraalsest ainest on võimalik mõlemaid osasid (toksiini ja antitoksiini) lahutada. BORDET ja GENGOU vaatavad toksiini ja antitoksiini liitumise kui adsorptsiooni peale.

ABDERHALDEN ja paljud teised autorid sidusid immuniteedinähtusi mitmekesiste fermentide toimega. Abderhalden arvas, et võõras valk-ollus, pääsedes organismi parenteraalsel teel, tekitab seal fermente, mis sama valku suudavad purustada. Seesuguseid fermente nimetas Abderhalden kaitsefermentideks (Schutzfermente). Need tekivad veres, kui üks või teine antigeen parenteraalsel teel organismi pääseb. Abderhalden pidas kaitsefermente spetsiifilisteks ja soovitas nende uurimiseks dialüüsi reaktsiooni, mis omal ajal laialt tarvitusel oli bioloogilistes laboratooriumides. Põhjalikumad uurimused on näidanud, et Abderhaldeni reaktsioon ei ole kaugeltki spetsiifiline ega küllalt täppis. Samuti õnnestus paljudel autoritel (WOLLMANN, LABERNADIE, OSTROWSKI j. t.) täpsate meetoditega konstateerida, et kaitsefermentide tekkimine on väga muutlik. Ülaltähendatud asjaolusid silmas pidades ununeb Abderhaldeni reaktsioon viimsel ajal kiiresti ja ühes sellega kaob arvamine kaitsefermentide tähtsuse üle immuniteedi alal.

Anafülaksia.

Ülalpool kuulsime, et mikroobide ja nende toksiinide organismi pääsmise tagajärjel kasvab organismi resistents (immuniteet). Juba kohe pärast immuniseerimisviisi tarvituselevõtmist märgati, et sellest seadusest on erandeid. 1893. aastal leidis MAGENDIE, et valgu (antigeeni) korduv loomale verde süstimine temale surmavaks võib saada. BEHRING nägi 1893. a., et loomad, kes ilma suurema reaktsioonita kannatasid difteria ja teetanuse toksiini esimest pritsimist, pärast teist pritsimist, kus toksiini võeti koguni palju vähemal määral, said raske mürgistuse, mis lõppes sagedasti looma surmaga. Sama nähtust panid tähele 1894. a. FLEXNER, ARLOING ja COURMONT vereseerumi organismi süstimise järel. 1898. a. immuniseerisid RICHET ja HÉRICOURT koeri angerja vereseerumiga ja nägid, et koerad seejuures väga tundlikuks muutusid ja pärast korduvat seerumi süstimist surid.

1902. a. hakkas Ch. RICHET kavakindlalt uurima seda ülitundlikkuse-nähtust. Ta süstis loomadele aktiinidest saadud mürgilist valku (aktinokongestiini) ja leidis, et kolme nädala järel pärast esimest injektsiooni sama olluse korduv injektsioon (palju vähemal määral) loomadel esile kutsus hingeldamist, kõhulahtisust ning oksendamist, ja loomad surid lühikese aja jooksul. Ch. Richet nimetas säärast ülitundlikkust anafülaksiaks (anaphylaxia). Juba Ch. RICHET ja PORTIER panid tähele, et organismi anafülaktiline olek (hüpersensibiliteet) ei teki kohe pärast aktinokongestiini esimest injektsiooni, vaid selleks on tarvilik lõimetusejärk, mis kestab 2—3 nädalat. Samad autorid konstateerisid, et organismi hüpersensibiliteet võib püsida kauemat aega. Pea selgus, et organismi hüpersensibiliteedi võivad esile kutsuda väga mitmekesised valgud (vereseerum, organite ekstraktid, bakterid, kanamunavalge, piim, sperma, peptoon jne.). Sellest ajast alates leidis anafülaksia suurt tähelepanu bioloogias.

ARTHUS süstis jänestele naha alla korduvalt iga 4—5 päeva järel 5 sm^3 vereseerumit ja nägi, et 3—4 süstimise järel ilmus injektsioonikohale reaktsioon ödeemi näol; 5—6 süstimise järel võis tekkida injektsioonikohal aseptiline nekroos (Arthus'e fenomen). Kui jänesele, kes oli juba saanud 6—8 vereseerumi injektsiooni naha alla, süstida 2 sm^3 sama seerumit otsekohe verde, siis ilmuvad silmapilkselt rasked haigusesümptomid: rahutu olek, hingeldamine, kõhulahtisus, krambid, paraplegia, coma ja kiire surm. Elab aga loom üle säärase ägeda astme, siis tekib tal cachexia ja ta sureb 4—5 nädala järel. Arthus näitas, et anafülaktiline reaktsioon on spetsiifiline: piima organismi süstimine sensibiliseerib looma ainult piima vastu, kuid mitte vereseerumi vastu.

Th. SMITH, OTTO, ROSENAU ja ANDERSON leidsid, et merisead, kellele süstiti 4 päeva varemini hobustest saadud difteria immuunseerumit, surid kiiresti hingeldamisse ja krampidesse, kui neile injitseeriti hobuse normaalset vereseerumit.

Juba nende katsete najal selgus, et väike hulk seerumit sensibiliseerib merisiga paremini kui suur hulk. BESREDKA tõestas oma

katsetega, et anafülaktilise reaktsiooni esilekutsumiseks on kõige parem süstida seerumit meriseale intratserebraalsel teel.

Varssi pärast seda, kui immuunseerumeid hakati laialt tarvitama ravitsemise otstarbeks, märgati ka inimestel haigusesümptomeid, mis olid sarnased ülaltähendatud anafülaktiliste nähtustega. Seerumi reinjektsiooni järel, mida toimetatakse 7—8 päeva pärast esimest injektsiooni, ilmuvad sagedasti kas otsekohe või mõni tund hiljemini väga mitmekesised haigusesümptomid: punetus ja ödeem injektsioonikohal, liigestevalud ja -paistetus, näärmete paistetus, urticaria, näonaha ja keele pundumine, köha, albuminuria ja sagedasti palavik kuni 38—39°. Tähendatud korratused püsivad keskmiselt 24—48 tundi. Sümptomite kogu, mis ilmub võõra seerumi organismi süstimise tagajärjel, nimetasid PIRQUET, SCHICK ja MARFAN seerumihaiguseks. Seerumihaiguse sümptomid tekivad vahel juba pärast esimest seerumi injektsiooni. Seesugusel korral ilmuvad esimesed tunnismärgid 8.—10. päeval pärast süstimist: alguses punetus nõelapiste ümber, siis üle kogu keha, mis alati sügeleb, mahlanäärmete pundumine, temperatuur 38—39°, näonaha pundumine, liigestevalud, kerge albuminuria, leukotsüütide arvu vähenemine veres jne. Haigus võib kesta 2—3 nädalat ja ilmub ligikaudu 10—15 protsendile nendest, kellele seerumeid süstitakse.

On esimese ja teise injektsiooni vahet üle 12 päeva, siis tekivad seerumihaiguse sümptomid juba esimeste päevade jooksul pärast teist injektsiooni (kiire reaktsioon). Kestab aga esimese ja teise injektsiooni vahe rohkem 6 kuud, siis ilmuvad haigusesümptomid pärast lühikest lõimetusejärku 3.—5. päeval (kiirendatud reaktsioon). Kestis injektsioonide vahe $1^1/_2$—6 kuuni, siis nägi PIRQUET kahesugust reaktsiooni: alguses kiiret, siis kiirendatud reaktsiooni.

Haigusesümptomid, mis pärast immuunseerumite süstimist ilmsiks tulevad, on sagedasti väga ägedad ja rasked. Üksikuil kordadel võivad ilmuda kaunis hädaohtlikud kollapsinähtused juba kohe pärast injektsiooni. Kergemad või raskemad seerumihaigusenähtused tekivad väga sagedasti (90%), kui korduvalt injitseeritakse ühe ja sama loomaliigi seerumit. Surmajuhtumusi tuleb väga harva ette, kuid selle peale vaatamata on seerumihaigus mittesoovitav komplikatsioon, mida peab ära hoidma. Seerumihaigus oleneb nähtavasti mürgist, mis tekib seerumi ja antikeha liitumise tagajärjel. Seerumihaigus, mis ilmsiks tuleb pärast seerumi korduvat injektsiooni, kujutab tüübilist anafülaksiat.

Kui seerumi reinjektsiooni toimetatakse verde, siis võib konstateerida kohe süstimise järel või juba selle ajal üldist naha punetust, vahel ka tsüanoosi, exophthalmus't, angina pectoris't ja teisi sümptomeid, mis 10—15 minutit kestavad ja siis kaovad.

Reinjitseeritakse seerumit seljaaju kanalisse, siis võib konstateerida kahesuguseid nähtusi: 1) Ühel osal haigeist ilmub nõndanimetatud seerumimeningiit: 3—4 tundi pärast pritsimist ilmuvad seljavalud ja peavalu, ihu soojus tõuseb, ilmuvad meningiidi nähtused jne. Need nähtused kestavad harilikult 12 tundi ja ilmuvad iga uue injektsiooni järel suurema hooga. Nad kaovad täielikult, kui katkestatakse seerumi süstimine. Seejuures võib leida, et selja-aju vedelik muutub

kollakaks, mis oleneb kapillaarseist verevalumitest, ja ta sisaldab suurendatud hulgal polünukleaare. HUTINEL ja DARRÉ võrdlevad seesugust seljaaju-nahkade kohalist reaktsiooni Arthus'e fenomeniga. 2) Teistel juhtumustel kutsub seerumi reinjektsioon seljaaju kanalis esile ülalkirjeldatud anafülaksianähtused, mis kiiresti ilmuvad, sagedasti juba injektsiooni ajal. Nad võivad raske iseloomu omandada ja koguni surma põhjuseks saada.

Tehakse vahet loomuliku ja kunstliku anafülaksia vahel. Loomuliku (konstitutsionaalse) anafülaksia alla kuuluvad nähtavasti mitmesugused idiosünkrasiad, mis mitmekesiste toiduainete tarvituse tagajärjel mõnedel isikutel ilmsiks tulevad. HUTINEL näitas, et lehma piima tarvitamine kutsub mõnel rinnalapsel esile nähtused, mida võib pidada anafülaktiliseks reaktsiooniks: oksendamine, kõhulahtisus, ihusoojuse langemine, urticaria jne. Kanamunade, piimaproduktide, looma- ja sealiha tarvitamine toiduks võib esile kutsuda sama iseloomuga korratused (LESNÉ). Samuti võivad anafülaktilisi nähtusi põhjustada kalaliha, molluskid, vähid, maasikad ja rasvained. Toiduainete tagajärjel ilmunud anafülaksiat nimetatakse alimentaarseks anafülaksiaks.

Anafülaksiat, mis tekib pärast võõra valk-olluse organismi süstimist, nimetatakse kunstlikuks aktiivseks anafülaksiaks. Loomade tundlikkus anafülaksia suhtes on väga mitmekesine. Kõige tundlikumad on merisead, keda võib sensibiliseerida väikese määra võõra valguga ja kel korduv süstimine esile kutsub raske anafülaksia sümptomid või nad koguni surmab. Vähem tundlikud on jänesed ja koerad. Neile peab injitseerima suuremat hulka võõrast valku, et saavutada sensibiliseerimist ja silmapaistvaid anafülaksia sümptomeid. Inimeste juures võib sagedasti näha kergemaid anafülaksia sümptomeid valkude injektsiooni tagajärjel, kuna rasked sümptomid ja surm on väga haruldased nähtused.

Anafülaktiliseks antigeeniks (anafülaktogeeniks) võivad olla: loomade, taimede ja bakterite valgud (vereseerum, organite ekstraktid, piim, organite rakud, kana-munavalge, taimeseemnete leotis, bakterid ja nende ekstraktid). Keemilised ja füüsilised tegurid: kestev soendamine, keetmine, happed, fermendid jne., mis loomuliku valgu omadusi muudavad, vähendavad antigeeni anafülaktogeenset toimet. Peale võõra valgu võib ka oma valgu parenteraalne organismi pääsmine esile kutsuda kergemaid või raskemaid anafülaktilisi sümptomeid (autoanaphylaxia).

Huvitav on nähtus, et silmaläätse valk toimib nii kui täiesti võõras valk-ollus anafülaksia esilekutsumise suhtes (UHLENHUTH).

Anafülaktogeen avaldab kõige suuremat toimet, kui ta parenteraalsel teel organismi pääseb (naha alla, verde, kehakoobastesse). Seedekanali seinte läbi pääseb võõras valk muutumatult verde ainult üksikuil juhtumusil. See on võimalik, kui mao ja soolte limanahk on vigastatud. Andes loomadele antigeeni per os, on raske neid sensibiliseerida ja esile kutsuda anafülaktilist reaktsiooni. Uuemad uurimused on näidanud, et seedekanali limanahka võib ärritada sapi sisseandmisega, mille järel anafülaksia esilekutsumine antigeeniga per os

on märksa kergem. Üksikuil juhtumusil võib näha, et inimese organism on sensibiliseeritud ühe või teise valgu vastu, mille tarvitamine per os anafülaktilise reaktsiooni kiiresti esile kutsub. Näiteks, meil oli tegemist haigega, kellel ilmusid kiiresti pärast piima, piimaproduktide ja kanamuna tarvitamist per os rasked anafülaktilised sümptomid, kuna teised valk-ollused (liha, kalad jne.) mingisugust reaktsiooni esile ei kutsunud.

Mida tundlikum loom, seda vähema anafülaktogeeni-hulgaga võib teda sensibiliseerida, samuti ka raskeid anafülaksia sümptomeid esile kutsuda. Sensibiliseeritud meriseale jätkub 0,00001 sm^3 vereseerumist anafülaksia sümptomite esilekutsumiseks. Sensibiliseeritud merisea surmamiseks peab aga kuni 0,01—0,1 sm^3 seerumit süstima. Mida tundlikum on loom, seda lühem on ka inkubatsiooniperiood ehk preanafülaktiline aste: meriseal 5—10 päeva, jänesel 10—12 päeva, koeral 2—3 nädalat. Inkubatsiooniperioodi kestus on väga muutlik ja oleneb märksa injitseeritud antigeenihulgast. Väga suured ja väga väikesed antigeenihulgad pikendavad märksa preanafülaktilist astet. Organismi hüpersensibiliteedi kestus on väga muutlik. Merisigadel võib ta kesta 1—3 aastani. Inimestel kestab ta harilikult 6 kuuni, kuid võib kesta ka aastaid.

Anafülaksia põhikatset korraldatakse järgmiselt: meriseale süstitakse verde 0,001—0,01 sm^3, naha alla 0,1 sm^3 värsket steriilset hobuse või teise looma vereseerumit. Parem on süstida korduvalt väikesed doosid 1-—2-päevaste vaheaegadega. Esimesi süstimisi nimetatakse sensibiliseerivaiks või prepareerivaiks injektsioonideks. 14 päeva hiljemini süstitakse meriseale sama antigeeni anafülaktilise reaktsiooni esilekutsumiseks. Selleks on tarvis süstida naha alla 5—6 sm^3, verde (kõige kindlam meetod) 0,01—0,1 sm^3, intratserebraalselt ja intraperitoneaalselt 0,25 sm^3 seerumit. Sensibiliseeritud meriseale reinjitseeritud anafülaktogeen põhjustab patoloogiliste nähtuste kompleksi, mida nimetatakse anafülaktiliseks šokiks. Naha alla süstimise tagajärjel ilmub šokk 10—30 min. jooksul ja sümptomid võivad seejuures lokaalseks jääda: ödeem, nekroos. Verde- ja subduraalse süstimise tagajärjel ilmuvad üldised sümptomid juba mõne sekundi jooksul.

Anafülaktilise šoki sümptomid on väga mitmekesised. Üldjoontes oleksid nad järgmised: loom on rahutu, kraabib puuri põrandat, köhib, ta on uimane, hingamine on šoki alguses kiirendatud, pärast muutub aeglasemaks ja jääb lõpuks seisma. Ihutemperatuur langeb kiiresti, kui šoki esilekutsumiseks injitseeriti suur hulk antigeeni, võib aga konstantseks jääda või koguni tõusta, kui süstiti vähem hulk antigeeni. Vere rõhumine langeb, südame tegevus nõrgeneb, ilmuvad kusi ja väljaheited, millele surm järgneb.

Sektsioonis leiduvad järgmised patoloogilised muutused: kopsu alveoolid on laienenud, nende seinad õhukesed ja kohati katki, kopsu verekapillaarid on tühjad, bronhid kitsad, mao ja soolte limanahkadel paistavad silma hüperemia, verevalumid ja erosioonid. Säärase patoloogilise pildi põhjal arvasid KRAUS ja BIEDL, et merisiga sureb šoki korral õhupuuduse kätte, mille tekitab bronhide lihaste kramp. Šoki ajal võib leida vähemaid või suuremaid muutusi veres (peaasja-

likult leukopeniat) ja uriinis albumiini. Sensibiliseeritud meriseal võib tähele panna, et üksikud koed (peaasjalikult siledad lihased) on tundlikud antigeenile. Kui me toimime näiteks sensibiliseeritud merisea soolte või emaka peale vastava antigeeniga, siis reageeruvad need kokkutõmbumisega. Seda fenomeni ei lähe korda leida igalt sensibiliseeritud merisealt.

Kui süstime sensibiliseeritud merisea vereseerumit parenteraalsel teel normaalsele meriseale, siis omandab viimane hüpersensibiliteedi (OTTO ja FRIEDEMANN). Seesugune ülekantav hüpersensibiliteet ehk passiivne anafülaksia ilmub umbes 24 tunni järel pärast anafülaktiseeriva seerumi injektsiooni. Passiivne anafülaksia püsib jänestel ainult lühikest aega, kuna ta merisigadel mitmed nädalad võib püsida. Merisigadele tekitab passiivset anafülaksiat sensibiliseeritud jänese vereseerum, kuna, ümberpöördult, sensibiliseeritud merisea vereseerum jänest harilikult ei sensibiliseeri (OTT, DÖRR, RAUBITSCHEK).

ROSENAU ja ANDERSON leidsid, et anafülaksia on siirduv emalt lootele. Rinnapiimaga anafülaksia edasiandmist ei ole veel märgatud.

OTTO, ROSENAU, ANDERSON ja BESREDKA panid tähele, et sensibiliseeritud loomad, kes anafülaktilise šoki järel ellu jäävad, ei ole enam tundlikud sama anafülaktogeeni vastu, kui seda injitseeritakse lühema aja järel pärast šokki. Säärast nähtust nimetatakse antianafülaksiaks või õigemini ananafülaksiaks. BESREDKA süstis sensibiliseeritud meriseale kõhukoopasse mittesurmava doosi anafülaktogeeni, 1—2 tundi hiljemini süstis ta samale loomale peaajusse surmava doosi ja leidis, et anafülaktiline šokk ei ilmunud. Autor saavutas sel teel immuniteedi anafülaktilise šoki vastu. Seesugune antianafülaktiline olek, mida saavutatakse ühe injektsiooni teel, on vähe mõjuv ja ta kaitseb looma ainult 1—2-kordse surmava doosi vastu. Mõjuva antianafülaksia saavutamiseks soovitas BESREDKA korduvat vaktsineerimist. Selleks süstitakse sensibiliseeritud loomale 3—4 korda 5-minutiliste vaheaegadega antigeeni veenisse, alates väikese doosiga ja suurendades iga järgmist doosi. Niisuguse meetodiga vaktsineeritud merisiga kannatas 100—1000-kordse surmava antigeenidoosi injektsiooni, ilma et šokk oleks ilmunud.

Antianafülaksia ilmub kohe (10—15 min.) pärast antigeeni süstimist verde ja hiljemini (2—4 tundi) pärast selle naha alla ja kõhukoopasse süstimist. Korduva vaktsineerimise teel saadud antianafülaktiline olek võib püsida merisigadel mitme kuu jooksul, kuna ta jänestel ainult 3—4 päeva kestab. BESREDKA soovitab tarvitada ülaltähendatud vaktsineerimist ka inimeste kohta, kui on karta seerumi anafülaksiat, iseäranis siis, kui immuunseerumit on tarvis süstida seljaaju-kanalisse. Selleks otstarbeks süstitakse väike hulk seerumit enne terapeutilise doosi injektsiooni, ja nimelt: 4 tundi enne, kui vaktsineeritakse naha alla süstimisega, ja 2 tundi enne, kui vaktsineeritakse seljaaju-kanali kaudu. Kui tahetakse vaktsineerida veenisse süstimise teel, siis soovitab BESREDKA süstida alguses $^1/_4$ sm^3 seerumit, 10 minuti järel veel kord 1 sm^3, ja 15 minuti järel võib juba süstida terapeutilist doosi.

RICHET leidis, et sensibiliseeritud loomades on võimatu esile kutsuda anafülaktilist šokki narkoosi ajal. Koguni surmava anafülaktogeenidoosi süstimine ei tekita anafülaksiat. Sama toimet avaldab alkohol sensibiliseeritud organismi peale.

Anafülaksia spetsifiteedi küsimuse üle on palju vaieldud. RICHET peab seda absoluutselt spetsiifiliseks. ROSENAU ja ANDERSON arvavad, et anafülaksia spetsifiteet on relatiivne. ARTHUS tõendab, et anafülaksia ei ole spetsiifiline. Uuemad uurimused on tõestanud, et mitte ainult spetsiifiline antigeen, vaid ka paljud teised orgaanilised ained (peptoon) võivad sensibiliseeritud loomas esile kutsuda antianafülaksiat. Samuti on teada, et paljud kolloidsed ja kristalloidsed substantsid võivad teataval mõõdul ära hoida anafülaktilise šoki tekkimist. Selleks ei ole neid tingimata tarvilik parenteraalselt organismi juhtida, vaid neid võib ka per os tarvitada (mittespetsiifiline vaktsineerimine). On ka juba korda läinud antianafülaktilist seerumit valmistada, mis inimest ja looma kaitseb anafülaktilise šoki vastu (passiivne antianafülaktiline immuniseerimine).

Kui on teada, missugune toiduaine tekitab sensibiliseeritud inimeses anafülaksia sümptomeid, siis võib organismi sel teel desensibiliseerida, et me patsiendile 1 tund enne sööki sama ainet väikesel määral per os anname. Sagedasti on aga raske otsustada, missugune toiduaine on anafülaksia põhjuseks; siis võib šokinähtuste kõrvaldamiseks 1 tund enne sööki per os 0,5 g peptooni anda (PAGNIEZ ja PASTEUR VALLERY-RADOT), mis kui mittespetsiifiline antigeen organismi desensibiliseerib.

Vaatamata selle peale, et anafülaksia- ja antianafülaksia-nähtused on bioloogias ammu tuntud, ei tea me veel tänapäevani suuremat midagi nende mehhanismi kohta. Alguses vaadati anafülaksia kui isesuguse mürgistuse peale. RICHET arvas, et antigeeni esimene injektsioon tekitab organismis mittemürgilise olluse toksogeniini, mis teise süstimise järel antigeeniga ühinedes annab mürgilise olluse — apotoksiini. Viimane kutsub esile anafülaktilise šoki sümptomid. ACHARD ja FLANDISE näitasid, et apotoksiin fikseerub peaasjalikult närvitsentrumites.

FRIEDEMANN ja CITRON (1909) said anafülaksiat esilekutsuva mürgi in vitro, kui nad segasid antigeeni spetsiifilise antikehaga ja komplemendiga. Friedemann tarvitas oma katsete puhul antigeeniks erütrotsüüte, Citron — vana tuberkuliini. FRIEDBERGER leidis, et seesugune mürk võib tekkida igasugusest valk-ollusest in vitro, kui selle peale toimida inaktiveeritud homoloogilise immuunseerumiga ja komplemendiga. Tema nimetas säärast mürki anafülatoksiiniks.

BESREDKA arvas, et antigeeni esimese süstimise järel tekib organismis anafülaktiline antikeha (sensibilisiin), mis osalt on seotud ergurakkudega ja osalt viibib vabalt veres. Süstime sensibiliseeritud organismi uuesti sama antigeeni (sensibilisinogeeni), siis ühineb see sensibilisiiniga ja tekitab anafülaktilise šoki. Passiivse anafülaksia võimalus räägib selle poolt, et sensibiliseeritud organismis viibivad vabad antikehad.

VAUGHAN ja WICHLER arvavad, et valk-olluse (antigeeni) esimese injektsiooni järel tekib organismis ferment (tsümogeen). Teise injekt-

siooni järel toimib see ferment valgu molekuli peale, mille tagajärjel mürk vabaneb. Sellel mürgil on suur affiniteet närvi rakkudele ja ta kutsub esile anafülaksia sümptomid.

WIDAL, JOLTRAIN ja BÉNARD panid tähele, et anafülaktilise šoki sarnased nähtused ilmuvad pärast mitmekesiste soolade lahuste verdesüstimist: arsenobensool, natr. bicarbon., natr. chlorat. lahused jne. 1913. aastal konstateerisid WIDAL, ABRAMI ja BRISSAUD, et anafülaktiline šokk võib tekkida külmetumise tagajärjel. Haemoglobinuria paroxysmalis, mis tekib külmetumise tagajärjel ja sagedasti võib korduda, on väga sarnane anafülaksiaga. Autorid leidsid sel puhul vereseerumis kolloidide tasakaalu muutuse, mis šoki põhjuseks võib olla. Nende arvates ei ole anafülaktiline šokk toksilise, vaid puhtfüüsilise iseloomuga.

RICHET, BIEDL, KRAUS ja ARTHUS leidsid anafülaktilise šoki puhul järgmised vere ja veresoonte muutused: vererõhu langemist, leukopeniat, leukotsüütide formuli muutust, vere hüübimise muutust jne. WIDAL, BRISSAUD ja JOLTRAIN nimetasid säärast nähtust «crise hémoclasique». Organismi kolloidide füüsilise tasakaalu muutust anafülaktilise šoki puhul nimetasid WIDAL, ABRAMI ja BRISSAUD «colloidoclasie'ks». Nende arvates ei ole anafülaksia intoksikatsioon, vaid vereseerumi ja koe kolloidide tasakaalu muutus.

KOPACZEWSKI ja LUMIÈRE arvavad, et anafülaktilise šoki põhjuseks on kolloidide osakeste agglomeratsioon, mis kopsu kapillaarid ummistab. Lumière arvab, et agglomereerunud kolloidide osakesed ärritavad peaaju veresoonte endoteeli, millele järgneb veresoonte laienemine. Agglomeratsiooni nähtused ei ole veel kindlaks tehtud in vivo; sellepärast kannab nende arvamine hüpoteetilist iseloomu.

KRITŠEVSKI ja tema kaastöölised lõid nõndanimetatud metaballodispers-teooria anafülaktilise šoki seletamiseks. Selle teooria järele on anafülaktilise sümptomite kompleksi põhjuseks osalt vere, peaasjalikult aga raku protoplasma, kolloidide dispersioonikraadi muutused, mis lühikese aja jooksul võivad organeid vigastada ja surma enesega kaasa tuua.

Vaatamata hulga teooriate peale ei ole veel lõplikult teada anafülaksia mehhanismi iseloom. Peab arvama, et siin niihästi keemilised kui ka füüsilised protsessid osa etendavad.

Vaktsinoterapia ja vaktsinoprofülaktika.

Juba aastasadade eest tarvitati rõugehaigete mädavistrikkudest saadud mäda rõugetepanemiseks, mille järel inimene rõugehaigust kergemal kujul põdes ja püsiva immuniteedi omandas. See meetod (variolatio) leidis 1721. a. palju poolehoidjaid Inglis- ja Saksamaal. Pea selgus, et variolatio on kardetav ja et ta võib rõugetaudi koguni levitada. 1798. aastal soovitas JENNER rõugete vastu immuniseerimiseks lehmarõugete mäda (vaccina), mis inimesele kardetav ei ole, kuid talle püsiva immuniteedi annab rõugete vastu. Sellest ajast peale leidis kunstlik rõugepanemine suurt poolehoidu.

Hiljemini tehti katseid rõugepanemisega immuniseerimiseks süüfilise vastu (syphilisatio), kuid ilma tagajärjeta.

PASTEUR võttis tarvitusele kaitserõugete panemise elusate, kuid nõrgestatud virulentsiga mikroobidega ja nimetas seda meetodit «vaccinatio'ks». Praegusel ajal tarvitatakse aktiivseks immuniseerimiseks elusaid ja surmatud mikroobe ja mikroobide toksiine. Kui haiguse tekitaja on tundmatu, siis tarvitatakse vaktsineerimiseks haigest organismist võetud koevedelikke ehk organitest saadud materjali.

Aktiivne immuniseerimine vaktsineerimise teel põhjeneb sellel, et bioloogilisi muutusi, mis organismis ilmuvad infektsioonilise haiguse põdemise ajal, võib esile kutsuda kunstlikult, kui me injitseerime tervesse organismi infektsiooni idusid või nende produkte. Vaktsineerimise järel põeb organism vastavat infektsiooni kergel kujul, kuid selle tagajärjel tekib püsiv immuniteet. Nii on teada, et kergete ambulatoorsete infektsiooniliste haiguste järel võib tekkida sama püsiv immuniteet kui raskete kliiniliste sümptomitega haige organismis. Sellega oleks kunstliku aktiivse immuniseerimise ülesandeks väikese vigastusega püsiva ning mõjuva immuniteedi saavutamine.

Vaktsiini valmistamiseks on tarvilik vastavate mikroobide puhaskultuur. Ei ole veel lõplikult teada, kas vaktsiini antigeensed omadused olenevad mikroobi tüvest ja selle virulentsist. Selle peale vaatamata soovitatakse vaktsiini valmistamiseks tarvitada virulentseid tüvesid, mis kõige ligemal seisavad loomuliku infektsiooni tekitajale. Degenereerunud mikroobe, kelle morfoloogilised ja bioloogilised omadused juba on muutunud, ei ole soovitav tarvitada vaktsiini valmistamiseks. Ühest mikroobi tüvest valmistatud vaktsiini nimetatakse monovalentseks. Katsed tõestavad, et mitmest tüvest valmistatud vaktsiinid (polüvalentsed vaktsiinid) soovitavamaid resultaate annavad vaktsineerimise puhul kui monovalentsed vaktsiinid. Immuunoprofülaktiliseks otstarbeks on soovitav vaktsiini valmistada selle mikroobi tüvest, mida isoleeriti haigeist sama taudi ajal, mille vastu tahetakse immuniseerida. Infitseeritud organismi ravitsemiseks valmistatakse vaktsiin sama mikroobi tüvest, mis isoleeriti haige enese organismist (autovaktsiin).

Autovaktsiini valmistamiseks isoleeritud mikroobi kohta peab selgusele jõudma, kas ta on infektsiooni tekitajaks või on ta juhuslik kaaslane infektsiooni tekitajaile. Selleks peab mikroobide isoleerimist kahtluse korral mitu korda toimetama. Samuti peab korduvate ümberkülvamiste abil kindlaks tegema, et isoleeritud kultuur sisaldab ainult üht mikroobiliiki (puhaskultuur). Sagedasti on tarvilik immuniseerida korraga mitmesuguste infektsiooniliste haiguste vastu (typhus abdom., dysenteria, cholera asiat.). Säärasel korral võib vaktsiini valmistamise puhul segada vastavate mikroobide suspensioonid (segavaktsiin).

Vaktsiini valmistamiseks kasvatatakse mikroobide kultuurid peaasjalikult kõvadel söötmetel (agaar). Ainult nendel juhtumustel, kui mikroob (streptococcus) kõval söötmel pahasti kasvab, tarvitatakse kultuuriks vedelat söödet. Lõplikult ei ole veel teada, kui suurel määral oleneb mikroobi immuniseeriv omadus söötmest, kuid ligikaudu võib oletada, et seesugune sööde, millel mikroob kõige paremini kasvab, vastab kõige rohkem loomulikkudele tingimustele ja on kõige kohasem mikroobide kasvatamiseks vaktsiini tarvis. Söötme koosseis

võib avaldada mõju ka mikroobi antigeensete omaduste peale, nii kui ta seda teeb mikroobi morfoloogiliste ja bioloogiliste omaduste peale. Väikese määra vaktsiini valmistamiseks kasvatatakse mikroobikultuuri prooviklaasides. On aga tarvilik saada korraga suur hulk vaktsiini, siis peab kultuuri kasvatama söötme suurel pinnal. Selleks tarvitatakse isesuguseid laia põhjaga kolbisid ja tasse (KOLLE, ROUX ja SOYKA nõud). Ei ole neid riistu käepärast, siis võib väga hea tagajärjega tarvitada kandilisi pudeleid (100—400 sm^3).

Sula agaar valatakse laiali ülaltähendatud riista ühele pinnale ja lastakse hanguda. Vastavast kultuurist valmistatakse mikroobide suspensioon, sellest valatakse pipetiga 2—3 sm^3 laiale agaaripinnale, mis riista liigutades laiali aetakse (külv), ja külvatud riistad mahutatakse kasvuks termostaati. Kultuuri kasvatatakse harilikult 37° C. soojuses 24 tunni jooksul. Saadud kultuurile valatakse peale steriliseeritud 0,85% NaCl-lahust, umbes $^1/_2$—1 sm^3 ühe kantsentimeetri kultuurpinna kohta. Riista kergelt keerutades ja liigutades uhetakse mikroobid agaaripinnalt lahti. Kui mikroobid on kõvasti agaaripinnal kinni, siis võib neid kõvera otsaga klaaskepikese varal sealt lahti hõõruda. Sel teel saadud mikroobide suspensioon kurnatakse läbi steriilse siidrätiku või mitmekordse marli (sööte osakeste eraldamiseks) steriilse kolvi sisse.

Selle järel peab kindlaks määrama, kui palju mikroobe sisaldab saadud suspensioon, milleks tarvitatakse mitmekesiseid meetodeid. Praegusel ajal on tarvitusel mikroobide kaalu ja nende arvu kindlaksmääramine.

Kaalu äramääramiseks võetakse pipetiga teatav hulk (15—20 sm^3) saadud suspensioonist tsentrifugeerimisklaasi, mille raskus on teada, ja tsentrifugeeritakse niikaua, kui kõik mikroobid sadestuvad. Siis eraldatakse pealmine vedelik ja sadet pestakse paar korda steriilse 0,85% NaCl-lahusega. Lõpuks eraldatakse pipetiga pesemisvedelik ja määratakse kindlaks mikroobide märja sademe raskus. Saadud kaalu põhjal võib välja arvata, kui palju märga mikroobide sadet sisaldab kogu mikroobide suspensioon. Et tsentrifugeerimiseks võetud mikroobid kaduma ei läheks, siis lisatakse sademele juurde 0,85% NaCl-lahust niipalju, kui alguses suspensiooni võeti, ja segatakse see algsuspensiooniga.

Mikroobide arvu kindlaksmääramiseks suspensioonis on mitu meetodit olemas. Kõige lihtsam on mikroobide lugemine Thoma-Zeiss'i kambris. Selleks lahjendatakse suspensioon 0,85% NaCl-lahusega 1 : 1000 peale ja loksutatakse hästi segi. Et mikroobide liikumine ei takistaks nende lugemist, siis lisatakse lahjendatud suspensioonile juurde sublimaati (1 : 10.000). Sel teel saadud suspensioonist võetakse tilk Thoma-Zeiss'i kambrisse ja loetakse, nii kui seda toimetatakse erütrotsüütide lugemisel.

Mikroobide arvu suspensioonis võib võrrelda mõne tuntud suspensiooniga, näiteks erütrotsüütide arvuga veres. Selleks võetakse WRIGHT'i pipetti sõrme otsast verd ja sama palju uuritavat mikroobide suspensiooni, segatakse segi, segust määritakse õhuke kiht klaasi peale, kuivatatakse õhus, fikseeritakse (sublimaadilahusega) ja värvitakse Loeffler'i sinisega; siis loetakse mikromeetrilise okulaari abil

mitmes vaateväljas mikroobide ja erütrotsüütide arv. Meil on teada, et 1 mm^3 verd sisaldab keskmiselt 5 miljonit erütrotsüüte. Lugedes selgus, et 500 erütrotsüüdi peale tuli 750 mikroobi; siis oleks mikroobide arv 1 sm^3 suspensioonis:

$$\frac{5\,000\,000\,000 \times 750}{500} = 7{,}5 \text{ miljardit.}$$

Silmas pidades, et erütrotsüütide arv on muutlik, saame selle meetodiga ainult ligikaudse mikroobide arvu. Peale selle on vere saamine sagedasti raskendatud ja väga tülikas, mispärast see meetod praegusel ajal laialist tarvitust ei leia.

FRIES võttis 50 sm^3 0,85% NaCl-lahusesse, mis sisaldas 5% acid. carbol., metsapähkli suuruse tüki müüdavat pärmi (saccharomyces cerevisiae) ja loksutas hoolega segi ühes klaaspärlitega ühtlase suspensiooni saamiseks, luges Thoma-Zeiss'i kambris pärmseente rakkude arvu ära ja lahjendas suspensiooni nii, et neid 20—30 miljonit 1 sm^3 peale tuli. Seesugust suspensiooni võib hulga aja jooksul alal hoida väikestes klaasides ühes klaaspärlitega külmas kohas ja tarbekorral mikroobide arvu määramiseks algsuspensioonina tarvitada. Selleks võetakse hoolega segi loksutatud mikroobide suspensioonist 0,2 sm^3 ja segatakse 2 sm^3 segi loksutatud pärmseente suspensiooniga. Segust võetakse Pasteuri pipetiga üks tilk esemeklaasi peale, määritakse laiali, lastakse ära kuivada, fikseeritakse ja värvitakse Ziehl'i lahjendatud (1:10) karboolfuksiiniga. Siis loetakse võrguga okulaari abil mitmes vaateväljas mikroobide ja pärmseente rakkude arv ning arvutatakse, kui palju mikroobe sisaldab 1 sm^3 võetud suspensiooni:

$$x = \frac{2}{0{,}2} \times \frac{\text{a bakterit}}{\text{b pärmseent}} \times K.$$ (K näitab pärmseente rakkude arvu 1 sm^3 algsuspensioonis.)

Pärast mikroobide hulga kindlaksmääramist töötatakse suspensioon läbi vastavalt sellele, missugust vaktsiini soovitakse saada (elusatest, nõrgestatud või surmatud mikroobidest), lahjendatakse siis steriilse 0,85% NaCl-lahusega soovitava kontsentratsioonini, lisatakse juurde üht või teist desinfitseerivat ainet ($^1/_2$% karboolhapet, $^1/_4$% lüsooli), valatakse steriilseisse ampullidesse või klaasikestesse, kaetakse pealt õhukindlalt kinni ja hoitakse külmas pimedas kohas. Vaktsiini võib kaua aja jooksul alal hoida, kuid praktiliseks otstarbeks tarvitatav vaktsiin ei tohi üle 6—8 kuu vana olla.

Aktiivseks immuniseerimiseks tarvitatakse vaktsiini, mis sisaldab elusaid, nõrgestatud või surmatud mikroobe.

Elusaid virulentseid mikroobe sisaldava vaktsiiniga on võimalik immuniseerida niisugustel kordadel, kui injitseeritud mikroobid ei sigi pritsimiskohal ega tekita kardetavaid haigussümptomeid. Näiteks, kooleravibrioonide süstimine verde või naha alla ei tekita harilikult üldist infektsiooni. Koolera-infektsioon tekib siis, kui virulentsed vibrioonid pääsevad soolte limanahkade pinnale. FERRAN oli esimene, kes tarvitas elusaid kooleravibrioone inimeste immuniseerimiseks. HAFFKIN immuniseeris inimesi Indias elusate kooleravibrioonidega ja

sai häid tagajärgi. Loomade immuniseerimiseks on paljud autorid elusaid mikroobe tarvitanud. Silmas pidades, et elusaid mikroobe sisaldava vaktsiini tarvitamine on hädaohtudega seotud, kusjuures injitseeritud mikroobid organismis mõnedel juhtumustel infektsiooni võivad tekitada, ja et seesugused vaktsiinid puuduliku ettevaatuse korral taudi levimise põhjuseks võivad saada, ei leia see immuniseerimismeetod enam suuremat poolehoidu.

Selle järel, kui PFEIFFER'i ja KOLLE katsed tõestasid, et surmatud mikroobide organismi süstimine tekitab samuti immuniteeti kui elusate mikroobide injektsioon, leidsid praktilist tarvitust vaktsiinid, mis surmatud või nõrgestatud mikroobe sisaldasid. Nii kui ülalpool kuulsime, tarvitas juba JENNER inimeste immuniseerimiseks lehmarõuge lima, mis inimesele vähe virulentne. PASTEUR oli esimene, kes nõrgestatud virulentsiga mikroobe laiemalt tarvitama hakkas vaktsineerimiseks.

Mikroobe võib surmata ja nende virulentsi vähendada füüsiliste, keemiliste ja bioloogiliste meetodite abil. Soendamise tagajärjel kahaneb mikroobide virulents. Samuti kahaneb mikroobide virulents nende kasvatamise tagajärjel kasvu optimumist kõrgemas temperatuuris. Mikroobide kuivatamine kahandab nende virulentsi. See nähtus andis võimaluse Pasteur'ile marutõve vaktsiini valmistamiseks, kus infitseeritud jänese selja-aju lühema või pikema aja jooksul kuivatatakse ning sellest valmistatud emulsiooniga inimesi ja loomi immuniseeritakse. Karboolhappe, Lugoli lahuse, glütseriini juurdelisamine mikroobide suspensioonile vähendab nende virulentsi. Samuti võib vaktsiiniks tarvitada viirust, mille virulentsi vähendatakse korduvate passaažide abil läbi vähe vastuvõtliku looma organismi.

Kõige laialisemat tarvitust leiavad käesoleval ajal vaktsiinid, mis sisaldavad surmatud mikroobe. Mikroobide surmamiseks tarvitatakse peaasjalikult nende kuumutamist, mida ettevaatlikult peab toimetama, sest kõrge temperatuuri mõjul tekivad mittespetsiifilised ja ärritava toimega mikroobide produktid, mille tagajärjel kahanevad mikroobide antigeensed omadused. Kuumutamise abil vaktsiini steriliseerimist toimetatakse vesivannis, kusjuures kolvis viibiva mikroobide suspensiooni pind peab olema 2—3 sm sügavamal vanni veepinda. Vesivanni temperatuur ning kuumutamise kestus, mis tarvilikud mikroobide surmamiseks, olenevad mikroobide resistentsist. Katsete abil on kindlaks tehtud, et mikroobide surmamiseks peab nende suspensiooni kuumutama 1 tunni jooksul järgmistes temperatuurides: vibrio cholerae asiat. 53° C., streptococcus ja staphylococcus 60° C., b. coli 65° C., gonococcus 40° C.

Pärast kuumutamist proovitakse vaktsiini steriilsust. Selleks külvatakse üks tilk vaktsiiniagaari või astsiidiagaari peale ja kasvatatakse termostaadis 24—48 tunni jooksul. Ilmub kasv, siis peab vaktsiini uuesti kuumutama ja steriilsuseproovi uuesti kordama. Kuumutamise ajal peab vaktsiini korduvalt loksutama. Steriilne vaktsiin lahjendatakse steriliseeritud 0,85% NaCl-lahusega soovitava kontsentratsioonini, valatakse ampullidesse ja need joodetakse tulel kinni. Seepeale mahutatakse ampullid vesivanni ja soendatakse veel kord 30 minuti jooksul ülaltähendatud temperatuurides. Soovitakse steriliseeritud ning lahjendatud vaktsiini klaasides suuremal hulgal alal hoida, siis peab

konserveerimiseks juurde lisama $^1/_2$% acid. carbolic. või $^1/_4$% lüsooli. Vastasel korral võib vaktsiin korduva avamise järel mittesteriilseks muutuda. Ampullidesse valatakse niipalju vaktsiini, kui tarvis läheb üheks injektsiooniks.

Mikroobide surmamiseks ja vaktsiini steriliseerimiseks võib tarvitada mitmekesiseid keemilisi olluseid. Selleks on väga kohane 40% formaliin. Mikroobide suspensioonile lisatakse juurde 0,5—1% formaliini, kolb kaetakse steriilse kummikorgiga ja kork valatakse üle sula parafiiniga. Suspensioon lastakse seista 24 tundi 37° C. soojuses termostaadis. Selle järel sadestatakse mikroobid tsentrifugeerimise teel, sade pestakse formaliinist puhtaks 0,85% NaCl-lahusega. Lõplikul tsentrifugeerimisel saadud sademest valmistatakse soovitava kontsentratsiooniga suspensioon 0,85% NaCl-lahuses.

Kiiresti surmab mikroobe eetri aur, mis nähtavasti ei vähenda seejuures nende antigeenseid omadusi. Selleks ühendatakse suspensiooni sisaldav kolb klaastoru abil teise kolviga, mis eetrit sisaldab. Suspensiooniga kolvis ulatub klaastoru ots läbi korgi kuni kolvi põhjani, eetriga kolvis aga vähe allapoole korki. Kui me soendame eetrikolbi vesivannis 42—43° C. soojuses, siis läheb keeva eetri aur läbi suspensiooni ja surmab seal mikroobid 30—40 minuti jooksul. Suspensiooniga kolvist lastakse eetri aur teise klaastorukese läbi Liebig'i jahutuseaparaati ja kogutakse uuesti kolvisse eetri näol.

Sagedasti tekitab vaktsiini injektsioon organismis tülikat reaktsiooni. Selle kõrvaldamiseks ja püsiva immuniteedi saavutamiseks võtsid KOCH ja KOLLE tarvitusele meetodi, kus ühes vaktsiiniga injitseeritakse homoloogilist immuunseerumit. BESREDKA soovitab tarvitada püsiva immuniteedi saavutamiseks ja tülika reaktsiooni kõrvaldamiseks sensibiliseeritud vaktsiini. Selleks lisatakse elusate mikroobide suspensioonile juurde homoloogilist immuunseerumit ja lastakse seista 12 tunni jooksul. Agglutineerunud mikroobid sadestatakse tsentrifugeerimise teel ja sadet pestakse 0,85% NaCl-lahusega. Pestud sademest valmistatakse suspensioon steriilses 0,85% NaCl-lahuses, mis sisaldaks soovitava kontsentratsiooni mikroobe. Immuunseerumi mõjul muutuvad mikroobid vähem virulentseteks, kuid tekitavad selle peale vaatamata püsivat immuniteeti. Samuti võib sensibiliseerida ülaltähendatud meetodiga surmatud mikroobe.

Immuunoprofülaktiliseks ja immuunoterapeutiliseks otstarbeks valmistatud vaktsiini peab enne lõplikku ampullidesse või klaasidesse valamist lahjendama 0,85% NaCl-lahusega, nii et iga sm^3 sisaldaks soovitava hulga mikroobe. Seejuures tuleb silmas pidada, et igaks injektsiooniks võetav mikroobide hulk viibiks 0,5—1 sm^3 soolalahuses. Immuniseerimise aegu suurendatakse harilikult kord-korralt injitseeritavat mikroobide hulka; seepärast peab valmistama mitmesuguse kontsentratsiooniga vaktsiinilahjendid.

Katsed on tõestanud, et aktiivse immuniteedi saavutamiseks võib tarvitada mitte ainult mikroobirakke, vaid ka nende ekstrakte.

CONRADI hoidis mikroobid mõne päeva jooksul 37° C. soojuses 0,85% NaCl-lahuses, kurnas suspensiooni läbi bakterite filtri ja tarvitas filtraati vaktsiinina immuniseerimiseks.

WASSERMANN ja CITRON loksutasid mikroobide suspensiooni destilleeritud vees 2—4 päeva jooksul raputamisaparaadis, kurnasid selle läbi bakterite filtri ja tarvitasid filtraati vaktsiiniks.

LOEFFLER kuivatas mikroobe 2—3 tunni jooksul 120° C. soojuses, hõõrus nad pulbriks ja valmistas sellest suspensiooni vaktsineerimiseks.

MAUTÉ soovitab hoida mikroobe 1 : 10 NaOH 36° lahuses 12—24 tunni jooksul 37° C. soojuses, mille tagajärjel mikroobirakud ära sulavad. Saadud segu neutraliseeritakse lakmuse suhtes nõrga (2—5%) soolhappega, lisatakse juurde 0,5% acid. carbolici, valatakse ampullidesse või klaasidesse ja tarvitatakse immuniseerimiseks. Seesugune sulatatud mikroobide vaktsiin on väga kohane immuniseerimiseks veenisse süstimise teel.

Aktiivseks immuniseerimiseks tarvitatakse vaktsiinina sagedasti mikroobide toksiini. Toksiini mürgilist toimet organismi peale võib kunstlikult märksa vähendada, mille juures toksiini immuniseerivad omadused püsima jäävad. FRAENKEL saavutas seda difteria toksiiniga 60° C. soojuses kuumutamise abil, BEHRING ja KITASATO joodtrikloriidi juurdelisamise teel. GLENNY, HOPKINS ja RAMON panid tähele, et formaldehüüdi toimel muutub difteriatoksiin atoksiliseks, kuid see on kõlvuline immuniseerimiseks. Sel teel vaktsiini valmistamiseks (anatoksiin) lisandatakse difteriatoksiinile 1 : 1000—3.1000 müügil olevat 40% formaliini. Mida rohkem toksiin sisaldab valk-olluseid, seda rohkem peab lisandama formaliini. Toksiini ja formaliini segu hoitakse kindla korgiga klaasis 40—42° C. soojuses 2—7 päeva. Selle järel lastakse formaliin termostaadis 37° C. ära aurata läbi puuvillase korgi. Immuniseerimiseks tarvitatakse saadud anatoksiini lahjendatult pooleks 0,85% NaCl-lahusega. Vaktsineerimist alatakse väikese doosi injektsiooniga (0,2 sm^3 anatoksiini) ja suurendatakse seda kordkorralt kuni 2 sm^3 seguni (1 sm^3 anatoksiini). Sama meetodiga võib vaktsiini valmistada teetanuse- ja botulismitoksiinidest.

Mõnikord annab häid tagajärgi mädast valmistatud vaktsiiniga (autogeense vaktsiiniga) aktiivne immuniseerimine. Selleks kogutakse haigusepesast eralduv materjal (mäda, röga jne.), milles mikroobid ühe ülaltähendatud meetodiga ära surmatakse, ja saadud produkti injitseeritakse infektsiooni põdevale haigele. Peale selle võib mäda külvata vastavale söötmele ning kasvatada 24 tunni jooksul 37° C. soojuses, ja saadud kultuurist, kus kasvasid mitmekesised mädas viibivad mikroobid, valmistatakse hariliku meetodiga segavaktsiin. Säärased vaktsiinid on kohased nende infektsioonide ravitsemiseks, kus kindlaks ei saa teha, missugused mikroobid infektsioonis pea-osa etendavad.

Vaktsiinidega immuniseerimise teel saadud resultaadid ei olene mitte ainult vaktsiini väärtusest, vaid ka vaktsiini tarvitamise viisist, mille peale uuemal ajal suurt rõhku pannakse.

Vaktsiinidega immuniseerimist tarvitatakse profülaktiliseks ja terapeutiliseks otstarbeks. Vaktsiinide tarvitamise järel ei teki immuniteet kohe pärast vaktsiini injektsiooni, vaid lühema või pikema aja järel (inkubatsiooniperiood). Vaktsiinidega saadud immuniteet on püsiv (kuud ja aastad). Sellest näeme, et profülaktiliseks otstarbeks

peab vaktsiine siis tarvitama, kui soovitakse saavutada kauakestvat immuniteeti, näiteks taudide ajal. Samuti on vaktsiinid kohased terapeutiliseks otstarbeks subakuutsete ja krooniliste infektsioonide puhul, kuna kiiresti arenevate akuutsete infektsioonide korral on nende toime piiratud.

WRIGHT näitas, et kohe pärast vaktsiini pääsmist organismi kahaneb vereseerumis immuunkehade hulk (negatiivne faas). Tema arvas, et selles perioodis kasvab organismi vastuvõtlikkus infektsioonile, millest tekkis arvamine, et taudi ajal võib vaktsiini tarvitamine haiguse levimise põhjuseks saada. Uuemad uurimused on näidanud, et sellel ei ole praktilist tähendust. Pealegi ei olene immuniteet mitte ainult vereseerumis viibivate immuunkehade hulgast, vaid rohkem koerakkude immuniteedist. Negatiivsele faasile järgneb kiiresti positiivne faas, kus vereseerumis suurem hulk immuunkehasid leidub kui enne vaktsiini tarvitamist.

Vaktsiine tarvitades tuleb silmas pidada mikroobide hulka, mis iga kord organismi injitseeritakse. Seda hulka tähendatakse kas mikroobide arvuga või milligrammidega ühes sm^3 vaktsiinis. Kõikide mikroobide vaktsiini ei või ühesugusel hulgal tarvitada. Seda silmas pidades valmistatakse vaktsiinid mitmesuguse mikroobide hulgaga: stafülokokkide vaktsiin kolmesuguse kontsentratsiooniga — 100, 200 ja 500 miljonit kokki 1 sm^3, streptokokkide vaktsiin kahes kontsentratsioonis — 5 ja 10 milj. 1 sm^3, gonokokkide vaktsiin 5 ja 10 milj. 1 sm^3, tüüfuse vaktsiin 1000 ja 2000 milj. batsilli 1 sm^3 jne.

Praktika on näidanud, et püsivat immuniteeti võib saavutada, kui me vaktsiini korduvalt väikesel hulgal injitseerime. Seesuguse meetodi puhul kannatab organism vähe kõrvaliste reaktsioonide all, kuid immuniteedi tekkimiseks kulub võrdlemisi palju aega. Harilikult alatakse immuniseerimist väikese määra vaktsiini injektsiooniga ja suurendatakse doosi kord-korralt järgmiste injektsioonide puhul.

Vaktsiinidega immuniseerides peab jälgima neid reaktsioone, mis tekivad pärast vaktsiini organismi pritsimist. Need on: 1) kohaline reaktsioon — punetus, paistetus ning valu injektsioonikohal ja mahlanäärmete pundumine injektsiooni piirkonnas; 2) üldine reaktsioon — väsimus, peavalu, pööritus, okse, kõhulahtisus ja liigeste valu; 3) fookuse- ehk pesareaktsioon — haiguseprotsessi akuutseks muutumine lokaalsete infektsioonide korral. Viimast näeme furunkuloosi puhul, kus ilmub suurem punetus ja mäda eraldumine ühes valudega pärast vaktsiini süstimist. Reaktsiooni sümptomid kestavad 3—4 päeva ja on sagedasti sedavõrt rasked, et patsient peab 2—3 päeva voodis viibima. Suur reaktsioon on tülikas, kui taudi ajal soovitakse hulka inimesi korraga profülaktiliseks otstarbeks immuniseerida.

Varemalt arvati, et reaktsiooni suurusest oleneb järgnev immuniteet. Suurearvulised katsed loomade ja inimestega on tõestanud, et immuniteet tekib ka siis, kui vaktsiini süstimisele ei järgne silmapaistev kohaline ja üldine reaktsioon. Suur reaktsioon on kahjulik organismile: ta nõrgestab organismi ja suurendab vastuvõtlikkust infektsioonile, mis kardetav võib olla taudide ajal vaktsineerimisel.

Iseäranis kardetav on suur reaktsioon nõrkadele ja haigetele isikutele, mida arvesse peab võtma, kui vaktsiini süstitakse neeruhaigeile, südamehaigeile, tiisikusehaigeile jne. Vaktsiini injektsiooni ei tohi enne korrata, kui eelmise injektsiooni reaktsioon on kadunud. Vaktsiinitundlikkus oleneb organismi individuaalsetest omadustest; sellepärast peab vaktsiini ettevaatlikult doseerima ja immuniseerimise meetodit individualiseerima. Üldaltähendatud ettevaatuste korral ei ole vaktsiinidega immuniseerimine organismile kahjulik.

Vaktsiini süstitakse harilikult naha alla (subkutaanselt). Selleks valitakse kohad, kus nahk on liikuvam ja riided vähem rõhuvad (selja peale, rinnale, kõhunaha alla jne.). Käsivarre- ja reienaha alla süstimine takistab suurema reaktsiooni korral liikumist ja töötamist. Teistel kordadel peab vaktsiini naha sisse süstima (intrakutaanselt), mis parema immuniteedi esile kutsub kui teised meetodid. Heade tagajärgedega võib tarvitada vaktsiini süstimist lihastesse (intramuskulaarselt).

Kiiresti kutsub immuniteedi esile vaktsiini süstimine verde (intravenoosselt). See meetod nõuab suurt ettevaatust, sest injektsioonile võib järgneda suur reaktsioon, ja see meetod on tehniliselt raskesti läbiviidav, kui korraga suurt rahvahulka tahetakse immuniseerida.

BESREDKA näitas esimesena, et vaktsiiniga võib organismi immuniseerida tagajärjekalt hingetoru (trachea) kaudu. Ta leidis, et sel teel võib ilma suurema reaktsioonita 50 korda rohkem vaktsiini organismi juhtida kui naha alla süstimisega. Hingamisteede limanahk resorbeerib kiiresti vaktsiini, millele järgneb püsiv immuniteet. See meetod on seotud tehniliste raskustega.

ALLEN, CALMETTE, BRETON ja BLAGE soovitasid vaktsiini tarvitada per os või per rectum. BESREDKA tarvitas vaktsiini heade tagajärgedega per os düsenteria, typhus abdomin. ja koolera vastu immuniseerimiseks. Et vaktsiin kiiremini resorbeeruks, selleks ärritatakse seedimisteede limanahka alguses loomasapist valmistatud pillide sissevõtmisega. Hulgalised katsed tõestavad, et selle meetodiga võib saavutada häid resultaate. Ta on väga praktiline ning immuniseeritavaile vastuvõetav. See meetod leiab viimsel ajal tarvitust massilise immuniseerimise otstarbeks taudide ajal.

Uuemal ajal soovitatakse vaktsiini tarvitada kompresside näol. Selleks võetakse puuvilla või marlit, tehakse märjaks vastava vaktsiiniga ja applitseeritakse haigusekoha peale. Seda meetodit tarvitatakse terapeutiliseks otstarbeks paljude lokaliseeritud infektsioonide puhul (furunculosis, acne, vaginititis, abscessus etc.).

Viimsel ajal leiab suurt tähelepanu vaktsiini organismi pääsmise tee tähtsus. BESREDKA arvab, et puudulik vaktsiinidega immuniseerimine oleneb osalt sellest, et me ei oska vaktsiiniga toimida vastava organi kaudu, mis immuniteedi saavutamises pea-osa etendab.

Mitmel viisil on katsutud niisuguseid vaktsiine valmistada, mis võimalikult väikest mürgilist toimet avaldaksid organismi peale, kuid seejuures püsiva immuniteedi esile kutsuksid. THOMSON katsus hapete abil vaktsiini mürgilisest toimest vabastada. Samaks otstarbeks tarvitatakse sappi, antiformiini, soodat, formaliini jne.

Organismi võib immuniseerida ühel ajal mitmesuguste vaktsiinidega. CASTELLANI hakkas tarvitama esimesena 1902. a. vaktsiini inimeste immuniseerimiseks, mis sisaldas tüüfuse- ja paratüüfuse-batsille. VINCENT võttis tarvitusele vaktsiini, mis sisaldas b. typhi, b. paratyphi A ja B. Ilmasõja ajal tarvitasid GLOTKOVA, VOSKRESSENSKI ja MARTSINOVSKI «tetravaccini», mis sisaldas tüüfuse-, paratüüfus A, paratüüfus B batsille ja kooleravibrioone. Sääraste vaktsiinide tarvitamine on suureks kergenduseks, kui on tegemist hulgalise immuniseerimisega ja kui soovitakse immuniseerida profülaktiliseks otstarbeks korraga mitme infektsioonilise haiguse vastu.

Vaktsiinidega immuniseerimise abil saavutatud spetsiifilise profülaktika suure tähtsuse üle ei ole käesoleval ajal enam palju tarvis rääkida. Peab ainult kahetsema, et spetsiifiline profülaktika ei ole veel võimalik iga infektsioonilise haiguse puhul. Suur statistiline materjal rõugete, koolera, katku, kõhutüüfuse, düsenteria j. t. taudide käigu üle on heaks tunnistuseks, et vaktsiinide tarvitamine võimaldab nende infektsioonide profülaktikat ja kergendab taudide vastu võitlust.

Aktiivne immuniseerimine vaktsiinidega omandab pea iga päevaga suurema tähtsuse infektsiooniliste haiguste ravitsemises. Peab tähendama, et spetsiifiline terapia on praegusel ajal siiski väiksema praktilise tähtsusega kui spetsiifiline profülaktika.

PASTEUR oli esimene, kes vaktsiini tarvitas ravitsemise otstarbeks. 1890. a. hakkas R. KOCH tuberkuloosi ravitsema b. tuberculosis'e produktidega (tuberkuliin). BEUMER ja PEIPER katsusid esimestena ravitseda kõhutüüfust spetsiifilise vaktsiiniga. WRIGHT töötas välja vaktsiinidega ravitsemise meetodid, ja sellest ajast peale leidis v a c c i n o t h e r a p i a laialist tarvitust infektsiooniliste haiguste puhul.

WRIGHT leidis, et vere opsoniini indeks kahaneb infektsiooni alguses. Tema katsus opsoniinide hulka suurendada aktiivse immuniseerimise abil. Kui vaktsiini süstimine suurendab opsoniini indeksi, siis on ühes sellega märgata kohaliste ja üldiste haigusesümptomite paranemist. Wright nägi vaccinotherapia's peaasjalikult opsonino-therapia't, kuid uuemad uurimused on tõestanud, et aktiivne immuniteet ei olene ainult opsoniinist, vaid kõikidest immuunkehadest ja koeimmuniteedist, mis tekivad vaktsiini organismi süstimise järel. Wright nõudis, et vaktsiinidega ravitsemise ajal peab kontrollima opsoniini indeksi. See oli raskuseks, mis vaktsiinoterapia praktilist väärtust märksa kahandas. Pea selgus, et reaktsioonid, mis ilmuvad organismis vaktsiini injektsiooni järel, on sama heaks näpunäiteks vaktsiini tarvitamiseks, kui opsoniini indeksi uurimine. Vaktsiinoterapiat alatakse niisuguse vaktsiinihulgaga, mis annab ainult väikese kohalise reaktsiooni. Kui on kadunud eelmine reaktsioon, siis võib injitseerida korduvalt suuremat vaktsiinihulka. Kui reaktsioon oli suur, siis peab korduvaks injektsiooniks tarvitama sama või vähemat vaktsiinihulka.

Ägedate infektsiooniliste haiguste puhul peab vaktsiinoterapiat algama ettevaatlikult väikese hulga vaktsiiniga ja seda pikkamööda suurendama. Krooniliste haiguste puhul võib juba algusest peale suuremat vaktsiinihulka tarvitada. HOBLER, REITER, ALLEN j. t. näitasid, et autovaktsiinid avaldavad paremat terapeutilist toimet kui hetero-

vaktsiinid ehk nõndanimetatud «stockvaccin'id». Värsked vaktsiinid on toimivamad kui kaua seisnud vanad vaktsiinid.

Terapeutiliseks otstarbeks tarvitatakse praegusel ajal kahesugust vaktsiini: 1) bakterite vaktsiini ja 2) bakterite proteiinide vaktsiini. Bakterite vaktsiini ülesandeks on organismi enesekaitse mobiliseerimine võitlemiseks infektsiooni tekitajatega. Selle vaktsiini tarvitamise tagajärjel tekib mikroobidevastane immuniteet. Paljude infektsiooniliste haiguste puhul ei ole aga mikroobid otsekoheselt haiguseprotsesside põhjuseks, vaid nende elutegevuse mitmesugused produktid, mis organismis liiguvad ja teda vigastavad. Seesugustel juhtumustel ei avalda mikroobide vaktsiin soovitavat terapeutilist toimet, vaid siin peab tarvitama niisugust vaktsiini, mis sisaldab mikroobide mürgilisi produkte (bakterite proteiinide vaktsiin). Viimaste hulka kuuluvad mitmekesised tuberkuliinid, mikroobide ektotoksiinid jne.

Vaktsiinoterapia omandas lühikese aja jooksul tähtsa koha teiste terapeutiliste meetodite hulgas. Ta on spetsiifiline ravitsemisviis ja seega kõige ideaalsem infektsiooni vastu võitlemiseks. Kui vaktsiinoterapiat tarvitatakse ettevaatlikult ja väljatöötatud meetodi järele, siis ei ole ta hädaohtlikum kui enamus harilikkudest arstirohtudest. BENOIT tuli oma kauakestvate uurimiste põhjal otsusele, et vaktsiinoterapia annab paremaid resultaate infektsiooniliste haiguste ravitsemises kui mitmesugused arstirohud; sellepärast võib teda pidada teadusliseks ravitsemisviisiks.

Spetsiifilisest vaktsiinoterapiast võiks eraldada «bakteriotherapia't». Me kuulsime ülalpool, et üks mikroobiliik, kasvades in vitro koos teise mikroobiliigiga, võib teise mikroobiliigi kasvu takistada või ta koguni surmata. Samuti võib ka organismis (in vivo) üks mikroobiliik teise liigi kasvu ja elutegevust takistada. Juba ammu on märgatud, et roosi infektsioon (erysipelas) parandavat toimet avaldab lupus vulgaris'e ja vähihaiguse peale. Tuntud on ka juba pärmi parandav toime paisete (furunculosis) ja teiste infektsioonide puhul. B. pyocyaneus avaldab takistavat toimet b. anthracis'e, b. typhi, b. pestis'e, b. diphtheria, streptococcus pyog. ja paljude teiste mikroobide kasvu peale. See nähtus oli põhjuseks, et hakati b. pyocyaneus'e produkti pyocyanasa't tarvitama nende infektsioonide ravitsemiseks.

Palju huvi pakuvad bakterioterapias METŠNIKOV'i uurimused soolte infektsioonide alal. Ta leidis, et piimahappe käärimist tekitavate bakterite sissevõtmisega võib muuta soolte mikrofloorat ja parandada soolte haigusi. Seda võib saavutada hapendatud piima (lactobacillin) suurel hulgal söögiks tarvitamisega. Paljud autorid (LIEFMANN, PARROT, HERMANN, AGAPOV j. t.) proovisid seda meetodit kõhutüüfuse, düsenteria, koolerahaiguste ja batsillide kandjate ravitsemise puhul. Selgus, et piimahappe käärimise tekitajad mikroobid, peaasjalikult b. bulgaricum (per os) head terapeutilist toimet avaldavad nende infektsioonide puhul.

Ülalpool kuulsime, et paljud mikroobid ära sulavad in vitro bakteriofaagide toimel. Uuemal ajal on katsutud ravitseda bakteriofaagidega neid infektsioonilisi haigusi, kus viirus viibib peaasjalikult

sooltes (dysenteria, typhus abdom., cholera). Selleks võetakse vastavate bakteriofaagide kultuur ja injitseeritakse teatav hulk naha alla, ehk jälle antakse per os või klüstiiri näol per rectum. Saadud resultaadid on alles puudulikud, kuid huvitavad ja paljutõotavad.

Seeroterapia ja seeroprofülaktika.

1888. a. leidsid RICHET ja HÉRICOURT, et stafülokokkidega immuniseeritud koera vereseerumi süstimine normaalsetele loomadele immuniseerib viimaseid stafülokokkide infektsiooni vastu. 1890. a. teatasid BEHRING ja KITASATO, et difteria ja teetanuse toksiiniga kunstlikult immuniseeritud loomade vereseerumiga võib ravitseda difteria- ja teetanusehaigeid. Samuti võib terveid isikuid seesuguse seerumiga mittevastuvõtlikuks teha neile haigustele (passiivne immuniteet). EHRLICH tegi hulga katsete abil kindlaks, et ka taimede mürkidega aktiivselt immuniseeritud looma vereseerum neutraliseerib in vitro vastava mürgi ja loomadele organismi süstitult neid immuniseerib. Kõige selle juures selgus, et immuunsed vereseerumid on spetsiifilise toimega. Ehrlich ja HÜBENER panid tähele, et immuniteeti teetanuse ja difteria vastu võib ema oma rinnapiimaga lapsele edasi anda. Kõik need katsed, mida alguses peaasjalikult loomadega tehti, said kindlaks aluseks passiivsele immuniseerimisele, mis meie aja arstiteaduses seeroterapia näol suurt osa etendab.

Passiivse immuniseerimise korral süstitakse organismi valmis immuunkehasid, mille tõttu tekib immuniteet kohe pärast immuunseerumi organismi pääsmist ja kaob harilikult kiiresti (10—20 päeva). Sellest näeme, et nendel juhtumustel, kui soovitakse immuniteeti kiiresti saavutada, immuunseerumi tarvitamine on kõige kohasem.

Passiivseks immuniseerimiseks tarvitatakse kahesugust immuunseerumit: 1) antitoksilist seerumit, mis infektsiooni esilekutsuvate mikroobide valmistatud toksiini kahjutuks teeb ja mikroobide eneste peale spetsiifilist toimet ei avalda; 2) bakteritsiidseid või bakteriolüütilisi seerumeid, mis infektsiooni tekitajaid mikroobe surmavad, kuid nende toksiinide peale neutraliseerivat toimet ei avalda.

Bakteriolüütiliste seerumite injektsioonile terapeutiliseks otstarbeks võivad järgneda rasked mürgistusesümptomid või koguni surm, mille põhjuseks on bakteritest vabanenud endotoksiin. WASSERMANN leidis, et looma immuniseerides b. pyocyaneus'ega võib kahesugust immuunseerumit saada. Immuniseerides looma batsillidest vabastatud puljongikultuuriga saame antitoksilise seerumi, immuniseerime aga looma batsillide vaktsiiniga, siis saame immuunseerumi, mis surmab batsille, kuid ei neutraliseeri nende endotoksiini. Samuti võib difteriakultuuridega kahesugust immuunseerumit saada.

Uuemal ajal on palju katseid tehtud, et vabastada bakteritest endotoksiini ja et sellega immuniseerides antiendotoksilist immuunseerumit valmistada. Üksikuist patogeenseist mikroobidest (b. typhi, b. paratyphi, vibrio cholerae asiaticae) on juba vaba endotoksiini saadud, millega looma võib aktiivselt immuniseerida ja mõjuvat immuunseerumit saada. Katsed tõestavad (PFEIFFER), et endotoksiin

säärast spetsiifilist toimet ei avalda, nii kui see tuntud on difteria ja teetanuse antitoksiliste seerumite puhul. Praegusel ajal on juba tarvitusel mitmekesised bakteritsiidsed seerumid (antistafülokokkide, antimeningokokkide jne. seerum), kuid nende terapeutiline toime on väga muutlik ja jätab veel palju soovida.

Tarvitades bakteritsiidseid seerumeid terapeutiliseks otstarbeks peab silmas pidama, kas on tegemist akuutse või kroonilise infektsioonilise haigusega. Akuutsete haiguste puhul võib ka hea seerum vähe mõjuda, kui ta kokku ei puutu organismis viibivate mikroobidega. Et võimaldada seerumi kiiret kokkupuutumist infektsiooni viirusega, selleks peab seerumit süstima mitte ainult naha alla, nii kui see üldiselt tarvitusel on, vaid injektsiooni peab modifitseerima vastavalt infektsioonile. Näiteks, meningiaalsete infektsioonide puhul peab seerumit süstima intralumbaalselt, peritoneaalsete infektsioonide puhul intraperitoneaalselt, üldiste infektsioonide korral verde jne.

Krooniliste haiguste suhtes on arusaadav, et 1—2 seerumi-injektsiooni ei suuda haigust parandada. Seda võiks loota ainult siis, kui seerumit pikema aja jooksul korduvalt injitseeritakse. Seesugusel korral tekivad organismis aga antikehad niihästi seerumi kui ka seerumis viibivate immuunkehade vastu (antiambotseptorid), mis injitseeritava seerumi toimet kahandavad. Peale selle immuniseeruvad kordkorralt organismis viibivad bakterid ja muutuvad mittetundlikeks bakteritsiidsete immuunkehade vastu (seerumikindlad mikroobid). Ka anafülaktiliste nähtuste ilmumine on säärastel kordadel võimalik.

Suure praktilise tähendusega on antitoksilised seerumid, millede valmistamisviisidega ja tarvitamisega ligemalt peab tutvuma.

Antitoksiliste seerumite saamiseks on kõige kohasemad 5—10 a. vanused hobused. Enne immuniseerimist peab uurima, et hobused infektsioonilisi haigusi ei põeks. Tingimata peab neile enne immuniseerimist tegema malleiini ja tuberkuliini reaktsiooni. Kõlvulisteks tuleb arvata neid hobuseid, kellel need reaktsioonid täielikult negatiivse tagajärje annavad. Peale hobuste võib immuunseerumite valmistamiseks tarvitada eesleid, kitsi, jäneseid jne.

Immuniseerimiseks peab tarvitama hästi mürgilist toksiini, sest mida kõvem toksiin, seda väärtuslisem saab immuunseerum. Toksiini saame, kui kasvatame toksogeenseid mikroobe vastavas söötmes pikema aja jooksul. Difteria toksiini saamiseks kasvatatakse difteriabatsille 10—12 päeva jooksul 37° C. soojuses Martin'i lihapuljongis, mis peab täielikult vaba olema suhkrust. Teetanuse toksiini valmistamiseks kasvatatakse teetanusebatsille anaeroobseis tingimusis 10—12 päeva jooksul 37° C. soojuses vasika- ja härjalihast valmistatud Martin'i puljongis. Kultuurid kurnatakse läbi bakterikurna ja filtraati (toksiini) tarvitatakse immuniseerimiseks. Liiga kaua kestva kasvu tagajärjel tekib kultuuris autolüüsi tõttu hulk endotoksiine ja teisi mürgilisi produkte, mis esile kutsuvad kõrvalisi reaktsioone loomale süstimise korral ja immuniseerimist takistavad.

Toksiini valmistamiseks peab tarvitama toksogeenseid tüvesid, sest kõik tüved ei valmista soovitaval hulgal toksiini. Difteria toksiini valmistamiseks tarvitatakse harilikult New-Yorgis isoleeritud b. diph-

theria tüve, mis «Park-Williams bacillus nr. 8» nime kannab, või jälle Stokholmi tüve. Samuti peab valima toksogeenseid b. tetani, b. botulinus ja b. dysenteria Shiga-Kruse tüvesid toksiini valmistamiseks. Kunstlikult võib mikroobide toksogeenset omadust suurendada korduvate passaažide abil läbi vastuvõtliku looma organismi, samuti ka kasvatamise teel kolloodiumkotis jänese kõhukoopas.

Toksiini võib kauema aja jooksul alal hoida ja immuniseerimiseks tarvitada. Selleks mahutatakse toksiin mustast klaasist pudelisse, millele peale valatakse 1—2 sentimeetri paksune kiht toluooli, ja hoitakse pimedas külmas kohas. Samuti võib toksiini kauema aja jooksul alal hoida, kui ta ära kuivatatakse ja rõskuse eest kaitstult pimedas külmas kohas hoitakse. Immuniseerimiseks tarvitatakse harilikult seisnud toksiini, mis on konstantsem kui värske toksiin.

Enne immuniseerimist peab toksiini toimet proovima katseloomadel. Difteria toksiini prooviks tarvitatakse merisigu, teetanuse toksiini prooviks — valgeid hiiri ja merisigu, düsenteria toksiini prooviks — jäneseid jne.

Immuniseerimiseks süstitakse loomale toksiini harilikult naha alla või lihastesse, alates väikese toksiinihulgaga, mida kord-korralt suurendatakse. Toksiini peab iga kord niipalju süstima, et sellele ei järgneks suurt reaktsiooni. Korduvat injektsiooni võib ainult siis ette võtta, kui eelmise injektsiooni reaktsioon on täielikult kadunud. Kõige raskem on saada nõndanimetatud põhiimmuniteeti, s. t. immuniteeti surmava toksiinihulga vastu. Selleks peab esimesteks injektsioonideks tarvitatava toksiini toimet mitmekesiste keemiliste ainetega (Lugoli lahus, formaliin jne.) nõrgestama või jälle toksiini süstima segatult antitoksiiniga. Toksiini süstimisele järgneb looma organismis reaktsioon: temperatuuri tõus, kehakaalu kahanemine, nõrkus, suurem või vähem ödeem injektsioonikohal jne. Mõni loom vastab juba esimeste väikeste toksiinidooside injektsioonidele suure üldise ja kohalise reaktsiooniga. Seesugust tundlikku looma ei ole sagedasti võimalik immuniseerimiseks tarvitada ja ta peab kõrvaldatama. BEHRING nimetas paradoksaalseks reaktsiooniks niisugust nähtust, kui loom, kelle organismis viibib juba suurel hulgal antitoksiini, vastab toksiini süstimisele suure reaktsiooniga või koguni sureb selle tagajärjel.

Immuniseerimise kestvus on väga mitmekesine ja oleneb niihästi toksiinist kui ka looma organismi omadustest. Harilikult võib praktiliseks otstarbeks kõlvulist antitoksilist seerumit saada 2—3-kuulise immuniseerimise järel. Antitoksiinide tekkimist veres kontrollitakse iga 2—3 nädala järel. Selleks võetakse kaela tõmbsoonest 10—20 sm^3 verd, eraldatakse sellest seerum ja proovitakse viimase antitoksilist toimet. Antitoksiliste seerumite toimet hinnatakse toksiini-ühikutega, mida seerum suudab neutraliseerida. BEHRING nimetas difteria toksiini ühikuks (dosis letalis minima) kõige vähemat toksiinihulka, mis merisea surmab (250 g) mitte hiljemini kui 4 päeva pärast süstimist. Teetanuse toksiini ühikuks (d. l.) nimetatakse kõige vähemat toksiinihulka, mis tarvilik iga grammi hiire kaalu surmamiseks. Behring nimetas normaalseks difteria toksiiniks niisugust toksiini, mis 1 sm^3 sisaldab 100 minimaalset surmavat doosi.

Ülaltähendatud meetodiga proovitud difteriatoksiini abil võib antitoksilise seerumi väärtust järgmiselt kindlaks määrata: mitmesse prooviklaasi võetakse igaühte niisugune hulk toksiini, mis sisaldab 10 minimaalset surmavat doosi, lisandatakse kord-korralt suurenev hulk antitoksilist vereseerumit ja segu süstitakse meriseale naha alla. Kui toksiin oli segus neutraliseerimata, siis tekib injektsioonikohal 2—3 päeva jooksul ödeem, või loom sureb, kui vaba toksiini oli rohkesti. Kui injektsiooni kohal ei teki mingisugust reaktsiooni, siis oli kõik toksiin neutraliseeritud antitoksiiniga ja me võime kindlaks määrata kõige vähema hulga seerumit, mis võetud toksiini neutraliseerib. BEHRING ja EHRLICH nimetasid immuniteedi ühikuks (I. Ü.) seda antitoksiinihulka, mis neutraliseerib 100-kordse minimaalse surmava toksiinidoosi. Normaalseks immuunseerumiks nimetasid nad niisugust antitoksilist seerumit, millest 1 sm^3 neutraliseerib 100-kordse surmava toksiinihulga.

Toksiin on harilikult väga muutlik; sellepärast ei tarvitata seda enam praegusel ajal praktiliselt kui algühikut antitoksiini-hulga kindlaksmääramiseks immuunseerumites. EHRLICH soovitas aluseks võtta kindla väärtusega antitoksilise seerumi, kus teada on immuun-ühikute hulk. Säärane seerum kuivatatakse täielikult vaakuumaparaadis ja hoitakse kuivas pimedas kohas õhukindlais klaasides või ampullides (Standardserum). Standardseerumi ampull avatakse iga 2—3 kuu järel ja valmistatakse niisugune seerumi lahjend, mis sisaldaks 10 antitoksilist ühikut 1 sm^3. Sellest võetakse $^2/_3$ osa glütseriini ning $^1/_3$ osa 0,85% NaCl-lahust ja lisatakse juurde tarvilik hulk antitoksilist seerumit. Standardseerumi abil proovitud toksiiniga võib kontrollida antitoksilise seerumi väärtust.

Difteria toksiini ja antitoksiini titreerimine merisigadele süstimise teel on liiga kulukas ja nõuab palju aega. Et nendest puudustest mööda pääseda, katsusid paljud autorid (GEORGI, NICOLLO, CÉSARI ja DEBAINS) toimetada titreerimist mitmekesiste reaktsioonide abil in vitro. Lõpuks läks RAMON'il korda seda saavutada flokulatsiooni reaktsiooni abil. Ramon'i reaktsiooni aluseks on järgmine nähtus: kui me võtame prooviklaasidesse 20 sm^3 difteria toksiini, lisame sinna juurde difteria antitoksilist seerumit kord-korralt vähemal hulgal ja hoiame segud toasoojuses või 37° C. soojuses termostaadis, siis ilmub lühema või pikema aja jooksul segudes flokulatsioon. Flokulatsioon ilmub kõige enne selles klaasis, kus toksiin on täielikult neutraliseeritud antitoksiiniga ja kus puudub ka vaba antitoksiin.

Tundmatu väärtusega difteria seerumi titreerimist toimetatakse RAMON'i järele järgmiselt: mitme prooviklaasi sisse võetakse 20 sm^3 lahjendamata difteria toksiini, mille kohta on teada, et $^1/_{600}$ sm^3 surmab 250 g raskuse merisea mitte hiljemalt 4 päeva. Toksiinile lisandatakse kord-korralt vähemal hulgal lahjendamata uuritavat difteria seerumit: 2 sm^3, 1,5 sm^3, 1,3 sm^3, 1 sm^3, 0,9 sm^3, 0,6 sm^3, 0,3 sm^3 jne. ning loksutatakse segi. Segud hoitakse toasoojuses või termostaadis 37° C. soojusel. Tähendatakse ära see klaas, kus kõige enne ilmub makroskoobiliselt selge flokulatsioon (pretsipitatsioon). Ole-

tame, et flokulatsioon ilmus kõige enne selles klaasis, kus oli 20 sm^3 toksiini ja 0,7 sm^3 seerumit, see tähendab, 0,7 sm^3 seerumit neutraliseerib täielikult $600 \times 20 = 12\,000$ surmavat doosi toksiini ja 1 sm^3 seerumit neutraliseeriks

$$\frac{12\,000 \cdot 10}{0{,}7} = 17\,000 \text{ surmavat doosi.}$$

Ümberpöördult võib tuntud väärtusega difteria seerumiga (standardseerumiga) sama meetodiga titreerida tundmatu difteriatoksiini väärtust.

SCHOLZ nägi Ramon'i meetodis kaht puudust: 1) läheb reaktsiooniks tarvis suur hulk toksiini ja 2) lisatakse toksiinile juurde mitte ühesugune ruumala seerumit, mis võib toimida reaktsiooni täpsuse peale. Scholz soovitab flokulatsiooni reaktsiooniks võtta ainult 2 sm^3 toksiini igasse prooviklaasi ja juurde lisada 0,5 sm^3 mitmesuguse lahjendusega seerumit. Seerumi lahjendused valmistab ta 0,85% NaCl-lahusega nii, et 0,5 sm^3 nendest sisaldaks kord-korralt vähema hulga uuritavat seerumit. Segiloksutatud segud hoiab Scholz termostaadis 37° C. soojuses. 20 minuti järel häostuvad (tumenevad) segud ja $4^1/_2$ tunni järel ilmub harilikult selge flokulatsioon.

Toksiinide ja antitoksiinide titreerimine flokulatsiooni reaktsiooni abil on suure praktilise tähtsusega. Ta kiirendab resultaatide saavutamist ja on märksa vähem kulukas. Difteria seerumi titreerimiseks tarvitatakse seda meetodit juba paljudes seerumi-instituutides. RAMON'i ja SCHOLZ'i katsed näitavad, et sama meetodit võib tarvitada teetanuse toksiini ja antitoksiini titreerimiseks, kuid siin ei vasta flokulatsiooni reaktsiooniga saadud resultaadid täielikult nendele, mis on saadud loomadega. Võib olla, et siin on tegemist tehniliste puudustega, mida tulevikus võimalik kõrvaldada.

Kui titreerimine näitab, et toksiiniga immuniseeritud looma seerum sisaldab soovitava hulga antitoksiini, siis lastakse kas osa verd (v. jugularis) või kõik veri (art. carotis com.) välja, kogutakse steriilseisse silindreisse ja lastakse seista 13—15° C. soojuses või jälle külmas jääkapis 2 päeva. Hüübumise järel eraldunud seerum kogutakse steriilsete pudelite sisse ja lastakse seista külmas pimedas kohas, kus valguhelbed sadestuvad ja seerum selgeks muutub. Seerumile lisatakse juurde harilikult $^1/_2$% acid. carbolici, 0,4% trikresooli või $^1/_2$—1% kloroformi. Soovitavam on seerum valmistada ilma tähendatud konserveerivate ainete juurdelisamiseta, sest suurema hulga seerumi injektsiooni korral võivad nad mürgiliselt toimida organismi peale. Enne seerumi tarvituselevõtmist proovitakse veel kord tema antitoksilist jõudu ja steriilsust. Kõlvuline seerum kurnatakse veel läbi Chamberland'i filtri, et juhuslikult sissepääsnud mikroobe eraldada, ja valatakse siis steriilseisse ampullidesse, mis pealt kinni joodetakse. Etikettide peal peab olema tähendatud seerumi antitoksiline jõud immuunühikuis (I. Ü.), valmistamisaeg, kontrollikoht ja seerianumber, et iga kord võimalik oleks seerumit tarvituselt ära võtta, kui ta on kõlbmatu.

Mõned seerumi-instituudid on katsunud kontsentreeritud antitoksiini saada. PICK leidis, et difteria antitoksiin on seotud pseudoglobuliinidega. Seda silmas pidades sadestas ta seerumist antitoksiini ühes pseudoglobuliinidega ammonium sulfuricum'i abil. Ammon. sulfuric. eraldatakse sademest dialüüsi abil ja sade kuivatatakse ära, kusjuures antitoksiin oma toimivust kaua aega alal hoiab. Seesugune antitoksiini kontsentreerimine ei ole veel üldist tarvitust leidnud, sest kontsentreeritud antitoksiin sisaldab suure protsendi valku, mis aga lubatav ei ole. Antitoksilises seerumis ei tohi olla üle 12% valku.

Hea antitoksilise seerumi saamine on seotud paljude tehniliste raskustega. Silmas pidades, et antitoksilise seerumi terapeutiline ja profülaktiline toime oleneb peaasjalikult immuunühikute (I. Ü.) või antitoksiliste ühikute (A. Ü.) hulgast, peab väärtuslisteks tunnistama ainult neid seerumeid, mis sisaldavad võimalikult suurel hulgal antitoksiini (difteria seerum 500 A. Ü. 1 sm^3). Nõrka antitoksilist seerumit peaks injitseerima soovitava terapeutilise effekti saavutamiseks suurel hulgal, kuid sellele järgnevad sagedasti mittesoovitavad ja ka hädaohtlikud kõrvalised reaktsioonid (seerumihaigus, anafülaksia).

Immuunseerumeid tarvitatakse terapeutiliseks ja profülaktiliseks otstarbeks. Seroteraapia ja seroprofülaktika abil saavutatud resultaadid ei olene ainult seerumi väärtusest, vaid ka selle tarvitamise viisist. Vaatamata selle peale, et praegusel ajal ei ole veel võimalik valmistada immuunseerumeid iga infektsioonilise haiguse vastu, on siiski paljude haiguste (diphtheria, tetanus, botulismus, dysenteria, meningitis cerebrospin. epidemica jne.) vastu võitlemises immuunseerumitega paremaid resultaate saavutatud kui mõne teise abinõuga.

Immuunseerumitega ravitsemise viis on juba mitu ajajärku läbi elanud. Alguses tarvitati seerumeid ettevaatlikult ja neid injitseeriti ainult väikeste doosidena; siis hakati immuunseerumeid suurte doosidena injitseerima, mis sagedasti suured kõrvalised reaktsioonid esile kutsus. Anafülaksia kartus nõudis uuesti tagasihoidlikkust immuunseerumite tarvituses. Uuemal ajal, kus teed on leitud anafülaksiast mööda pääsmiseks, leiavad seerumid jälle laialist tarvitust niihästi arsti- kui ka loomaarstiteaduses.

Iga immuunseerumi tarvitamine nõuab vastavat individualiseerimist. Sagedasti nõutakse seerumilt rohkem, kui ta anda võib, ja selle läbi tekivad ekslikud vaated seerumite mõju üle. Kõik immuunseerumid ei ole ühesuuruse toimivusega. Kõige paremini toimivad antitoksilised seerumid, kuna bakteritsiidsed ja anti-endotoksilised seerumid on vähema toimega. Meil ei ole mingit õigust nõuda, et immuunseerum iga haige peale ühte ja sama mõju avaldaks. Iga infektsioonijuhtumus on enam-vähem omasugune, kus mitmekesised kõrvalised infektsioonid suuremat või vähemat osa etendavad peainfektsiooni iseloomu ja käigu peale. Nende kõrvaliste tegurite mõju mahasurumises ei suuda spetsiifiline seerum palju ära teha.

Anafülaksia kartus ei tohi takistada seerumite tarvitamist, peame ainult oskama ära hoida anafülaksia tekkimist, nii kui sellest juba ülalpool kuulsime. Üksikud surmajuhtumused, mis osalt ekslikult seerumi arvele kirjutatakse, ei tohi olla põhjuseks, et miljonite hai-

gete paranemist immuunseerumi toimel saavutamata jätta. Immuunseerumite tarvitamiseks on juba enam-vähem kindlad näpunäited ja nende terapeutiline toime on sagedasti hiiglasuur. Arsti ülesandeks on iga immuunseerumit vastavalt tarvitada ja abi loota seal, kus seerum suudab abi anda.

Nii kui ülal tähendatud, ei ole iga kord soovitav immuunseerumite tarvitamine profülaktiliseks otstarbeks. Seerumi süstimisega saavutatud passiivne immuniteet kestab ainult lühikest aega. Teiseks sensibiliseerib seerum organismi ja sellega tekib tõsiselt anafülaksia kartus, kui sunnitud oleme sama seerumit korduvalt süstima haiguse puhul terapeutiliseks otstarbeks. Näiteks, difteria epideemia ajal võib difteria antitoksilisest seerumist rohkem kasu loota siis, kui seda tarvitatakse terapeutiliseks otstarbeks, kuna seroprofülaktika ainult üksikuil juhtumusil võiks kasulikku tarvitust leida. Teisiti on lugu teetanuse puhul. Siin peab teetanuse antitoksiini võimalikult kohe tarvitama hakkama profülaktiliseks otstarbeks, kui kahtlust on selleks, et teetanuse infektsioon on organismi pääsnud (mitmesugused haavad, suured pinnud jne.). Hulgalised kliinilised tähelepanud ja eksperimendid näitavad, et antitoksilise seerumi toime on teetanuse puhul märksa piiratud neil juhtumusil, kus ilmuvad juba esimesed haigusesümptomid, ja veel vähem võib loota seerumi toimest neil juhtumusil, kus esinevad teetanuse sümptomid täiel kujul.

Kõige lihtsam seerumi tarvitamise viis on selle naha alla (subkutaanne) süstimine. Kuid naha-alusest koest ei resorbeeru seerum küllalt kiiresti; sellepärast ei ole see meetod kohane neil juhtumusil, kus on tarvilik seerumi kiiret toimet (raske intoksikatsiooni sümptomid). Seda meetodit võib soovitada profülaktiliseks immuniseerimiseks.

Kõige kiiremini toimib antitoksiline seerum verde (intravenoosse) süstimise järel, mida peab ka neil juhtumusil ette võtma, kui haige seisukord on raske (rasked difteria, katku, koolera, düsenteria jne. juhtumused). MORGENROTH soovitab seerumit süstida lihastesse (intramuskulaarselt), kust ta kiiresti resorbeerub. Seljaaju kanalisse (intralumbaalselt) peab seerumit süstima neil juhtumusil, kui infektsioon ja intoksikatsioon lokaliseeruvad närvi-keskkohtades ja ajukelmel (meningitis cerebrospinalis epidemica etc.). Teetanuse korral on soovitav seerumit süstida intraneuraalselt, intratserebraalselt ja subduraalselt.

Seroteraapia puhul peab käima nende näpunäidete järele, mis on kindlaks tehtud katsete ja kliiniliste uurimiste abil. Spetsiifilisi immuunseerumeid (monovalentseid) peab tarvitatama peale seda, kui bakterioloogiliste uurimiste abil on kindlaks tehtud infektsiooni iseloom; vastasel korral võib juhtuda, et seerumilt loodetakse abi seal, kus ta ei suuda toimida, ja et teda ei tarvitata neil juhtumusil, kus ta kahtlemata häid tagajärgi annab. Ainult kliinilise pildi põhjal ei ole võimalik paljudel kordadel otsustada, missuguse infektsiooniga on tõepoolest tegemist.

Polüvalentseid seerumeid peab tarvitama neil juhtumusil, kui mitmekesised mikroobid võivad infektsiooni tekitajaks olla (staphylococcus, streptococcus jne.), mida aga iga kord pole võimalik uurimiste abil kindlaks teha.

Kui immuunseerumit tarvitatakse terapeutiliseks otstarbeks, siis peab silmas pidama, et seerumiga saavutatud effekt on seda parem, mida varemini me infektsiooni alguses süstime seerumit. Seerumit ei tohi aga kunagi tarvitamata jätta, arvates, et see on juba hilja. Sagedasti võib seerumi injektsioon lootuseta haigete seisukorda kiiresti parandada.

Mida suurem hulk spetsiifilist seerumit haigele süstitakse, seda suurem on ta terapeutiline toime. Parem on palju kui vähe seerumit süstida. Antitoksilist difteria seerumit peab ka kergemail juhtumusil vähemalt 5000—6000 immuunühikut süstima. Raskeil juhtumusil peab injitseerima 20—50 000 ühikut või veel rohkem. Kui üks injektsioon ei anna soovitavat resultaati, siis peab seerumit järgmistel päevadel reinjitseerima. Mida kiiremini neutraliseeruvad organismis viibivad toksiinid, seda kiirem on paranemine ja seda vähemad on võimalused mitmekesiste järelkäivate haiguse nähtuste ilmumiseks.

Bakteritsiidseid seerumeid, kus teada ei ole immuunühikute hulk, injitseeritakse harilikult 20—30 sm^3, missugust doosi tarbekorral sadade sm^3 peale võib tõsta. Akuutseil juhtumusil peab 12 tunni, pikalisil juhtumusil 24—48 tunni järel seerumi injektsiooni kordama. Krooniliste infektsioonide puhul peab seerumit pikema aja jooksul korduvalt injitseerima.

Profülaktiliseks otstarbeks süstitakse harilikult väiksem hulk seerumit kui terapeutiliseks otstarbeks. Kaitsmiseks difteria vastu injitseeritakse harilikult üks kord 500—1000 immuunühikut naha alla. Teetanuse ärahoidmiseks süstitakse korraga 20—30 immuunühikut ja korratakse seda iga 8 päeva järel. CALMETTE soovitab tetanus neonatorum'i profülaktikaks lahtise nahahaava peale raputada ärakuivatatud teetanuseseerumi pulbrit. BOCKENHEIMER soovitab kahtlasi haavu määrida teetanuse antitoksiini sisaldava salviga.

Immuunseerumi toksilise toime vähendamiseks lastakse värske seerum enne tarvitamist 1—2 kuud seista, või seda soendatakse 1 tunni jooksul 58° C. soojuses. Anafülaksia võimaluse kõrvaldamiseks, iseäranis kui teada on, et sama loomalt (hobuselt) saadud seerumit juba varemini on tarvitatud, peab organismi ülaltähendatud meetoditega desensibiliseerima või korduvaks injektsiooniks teisest loomaliigist looma (eesli) seerumit süstima. Kahtluse korral peab loobuma seerumi verde süstimisest, kus anafülaktilised sümptomid kõige raskemal kujul võivad esineda.

Immuunseerumid kaotavad aja jooksul oma spetsiifilise toimivuse; sellepärast peab silmas pidama, et nad küllalt värsked oleksid. Seerumeid peab alal hoidma pimedas, kuivas ja külmas kohas. Halvasti hoitud seerumid võivad oma toimivuse kaotada 1—2 kuu jooksul, kuna vastavalt hoitud seerumid oma väärtuse 5—6 kuud ja veel kauemini alal hoiavad.

Immuunseerumite tarvitamisega on juba saavutatud häid resultaate paljude infektsiooniliste haiguste puhul (diphtheria, tetanus, botulismus, dysenteria, gaasigangreen, meningitis cerebrospinalis epidemica jne.). Ei ole kahtlust, et seroterapia ja seroprofülaktika arstiteaduses tulevikus veel suurema tähtsuse omandavad.

Proteinoterapia.

Proteinoterapia all mõistetakse ravitsemismeetodit, kus haigele üht või teist võõrast valk-ollust parenteraalsel teel organismi injitseeritakse. Uueks ravitsemisviisiks ei või seda nimetada, sest juba 1667. a. tarvitas DENIS vere transfusiooni terapeutiliseks otstarbeks. Hulga katseid tegi HASSE vere transfusiooniga XIX aastasaja teisel poolel. BIER hakkas tarvitama vere transfusiooni kõrval krooniliste haiguste ravitsemiseks maksa- ja põrnakoest valmistatud emulsiooni, punaste vereliblede ja vereseerumi injektsiooni. Bier pani tähele, et valgu süstimisele järgnesid organismis muutused, mis haiguse peale parandavat toimet avaldasid: palavik, tervisetunne (euphoria), seedimise paranemine, närvikava korralik töötamine, lihaste töövõime tõus jne. Krooniliste haiguspesade ümber tekkisid akuutse põletiku nähtused — parandav põletik. Bier pidas proteiinide toimet organismi parenteraalseks toitmiseks ja reaktsiooni ennast nimetas ta funktsionaalseks või nutritiivseks ärrituseks. Kroonilistes haiguspesades on ärritus kõige suurem, sest seal on rakud kõige ärritatavamad. Bier'i arvates muudab proteiinide injektsioon kroonilise haigusprotsessi akuutseks või subakuutseks, millele järgneb kiirendatud paranemine.

Juba VIRCHOW, SCHULZ ja ARNDT kirjeldasid põhjalikult nähtusi, mis tekivad organismis pärast valkude injektsiooni.

Uuema aja uurimised spetsiifilise immuniteedi alalt sundisid suurt rõhku panema injitseeritava aine spetsiifilise toime peale; seepärast tarvitati immuunoterapias alguses peaasjalikult spetsiifilisi vaktsiine ja seerumeid. Proteiinidega ravitsemise puhul ei ole loota proteiini otsekohest spetsiifilist toimet, kuid nendega saavutatud resultaadid vastavad palju spetsiifiliste ainete toimele. Kahtlemata on kindel, et tuberkuloosihaigetele lehmapiima süstimine (intra- või subkutaanne) kutsub esile samad patoloogilised ja terapeutilised reaktsioonid kui tuberkuliini injektsioon. Typhus abdominalis'e puhul võib saavutada samasuguseid resultaate gonokokkidest, b. coli'st jne. valmistatud vaktsiini, piima ja peptooni injektsioonidega kui spetsiifiliste vaktsiinidega. Asthma, mitmekesiste dermatooside, rheumatismus'e, dysmenorrhoea jne. kliinilist paranemist võib saavutada vaktsiiniga, mis valmistatakse soolte normaalsesse mikrofloorasse kuuluvaist mikroobidest, piima, vere, auto- ja heteroseerumi injektsioonidega.

Kliinilised tähelepanud tõendavad, et typhus abdominalis't põdenud, samuti ka tüüfuse vaktsiiniga immuniseeritud inimese vereseerumis ilmub suuremal hulgal spetsiifilisi tüüfuse agglutiniine siis, kui sama isik põeb mõnd teist infektsiooni (pneumokokkide infektsiooni, düsenteriat, tähnilist soetõbe jne.). JAGGI katsed näitavad, et ühe või teise mikroobi vaktsiiniga immuniseeritud looma veres ilmub suurel hulgal spetsiifilisi agglutiniine pärast deuteroalbumooside ja natr. nucleinicum'i injektsiooni. Kui difteria toksiiniga immuniseeritud hobusele süstida pilokarpiini pärast seda, kui antitoksiinid olid verest juba kadunud, siis ilmuvad antitoksiinid mõne tunni jooksul veres uuesti. Ülalesitatud andmeid kokku võttes võib järgmist öelda: koed, mis varemini produtseerisid spetsiifilise ärrituse toimel spetsiifilisi antikehi,

võivad teatavais tingimusis uuesti alata oma spetsiifilist funktsiooni mittespetsiifiliste ärrituste toimel.

VIRCHOW, BIER, SCHULZ ja ARNDT oletasid, et organismi injitseeritud proteiinid ärritavad organismi enesekaitse-aparaadi suurendatud tegevusele, WEICHARDT oletab, et mittespetsiifiline valk avaldab organismi peale spetsiifilist toimet, ta aktiveerib protoplasmat ja ärritab kiiremale tegevusele koerakkusid. See ei ole uus leidus bioloogias, sest J. MÜLLER tegi kindlaks, et mittespetsiifiline ärritus avaldab tundeorganite peale spetsiifilist toimet.

Proteiinide injektsiooni järel ilmuvad ühel juhtumusel anafülaktilise šoki nähtused, teisel juhtumusel suurenevad ajutiselt need haigusenähtused, mille vastu haigeid ravitsetakse. Võib tähele panna niisuguseid juhtumusi, kus proteiini injektsioon esile kutsub ainult terapeutilise reaktsiooni. Sellepärast on võimatu ette näha proteinoterapia korral reaktsioonide suurust ning iseloomu ja injitseeritava aine terapeutilist toimet ning kohast doosi. Üks isik reageerib väga suuresti väikesele doosile, teine kannatab ära sada või tuhat korda suurema doosi sama ainet ilma mingi reaktsioonita.

Proteiinidega ravitsedes peab silmas pidama, et bioloogilised reaktsioonid, mis järgnevad proteiini injektsioonile, olenevad organismi pääsmise teest, proteiinihulgast ja organismi individuaalseist omadusist. Kui süstime näiteks peptoonilahust verde, siis kahaneb harilikult vere hüübimine, süstime seda aga naha alla, siis kiireneb vere hüübimine. Süstime peptoonilahust sensibiliseeritud haigele suurel hulgal verde, siis kutsub ta esile proteiinide šoki, kuna väikesed doosid organismi kaitsevad seesuguse šoki vastu. Haige organismi peale toimib valgu injektsioon teisiti kui terve organismi peale. Need andmed näitavad, et proteiinidega ravitsemine annab ainult siis soovitava tagajärje, kui me iga juhtumust suudame individualiseerida, mis aga praegusel ajal veel täies ulatuses võimalik ei ole.

DANYSZ arvab, et infektsiooniliste ja krooniliste mittekontagioossete haiguste puhul, kus proteiinidega ravitsemine harilikult häid tagajärgi annab, on organism hüpersensibiliseeritud. Hüpersensibiliteeti põhjustavad mitmekesised substantsid ja faktorid, mis kui antigeenid organismi peale toimivad. Antigeense toimega faktorid jagunevad kahte liiki: 1. otsekohesed: a) enteriidid ja mitmekesised seedimise korratused, b) kõik infektsioonilised haigused, c) proteiinide ja teiste kolloidide pääsmine organismi parenteraalsel teel. 2. kaudsed: orgaanilised ja anorgaanilised mürgid, õhutemperatuuri ja baromeetrilise rõhu muutused, emotsioonid jne., mis võivad esile kutsuda sekretsiooninäärmete funktsiooni muutusi. Viimaste toimel tekivad organismis kolloidsed ollused, mis kui võõrad ained antigeenset toimet avaldavad. Kui sensibiliseeritud organismi peale toimib ektogeenne või endogeenne antigeen, siis järgneb sellele šokk oma mitmekesiste sümptomitega. Kliinilised ja eksperimentaalsed uurimused näitavad, et spetsiifilise antigeeni põhjustatud raske šokk desensibiliseerib organismi lühikeseks ajaks, hiljemini omandab organism uuesti hüpersensibiliteedi. WALKER arvas, et hüpersensibiliseeritud organismi võib desensibiliseerida ainult spetsiifilise antigeeni väikeste dooside injektsiooniga, mis ainult nõrga

reaktsiooni esile kutsuvad. Uuemad uurimused proteinoterapia alalt on tõestanud, et mittespetsiifiline antigeen võib esile kutsuda hüpersensibiliseeritud organismis nõrga reaktsiooni, ja kui reaktsioon kordub lühema või pikema aja jooksul (korduvad injektsioonid), siis desensibiliseerib ta stabiilselt organismi.

CITRON ja MUNK panid tähele, et joodalbumiini süstimise abil sensibiliseeritud loomas võib põhjustada anafülaktilist šokki mitte ainult joodalbumiini, vaid ka joodi (Lugoli lahuse) injektsiooniga. Sellest näeme, et spetsiifilise liitantigeeniga sensibiliseeritud loomas võib anafülaktilist šokki esile kutsuda liitantigeeni ühe osaga (partsiaalantigeeniga). Seda peab oletama ka proteinoterapia puhul, kus terapeutiliseks otstarbeks injitseeritav antigeen (proteiin) ja hüpersensibiliteeti esilekutsuv antigeen sisaldavad homoloogilisi osasid.

Käesoleval ajal peab oletama, et proteiinide terapeutiline toime oleneb peaasjalikult nendest muutustest, mida proteiinid tekitavad organismi kolloidide tasakaalus. Seega oleks proteinoterapia osa üldisest kolloidoterapiast.

WIDAL, ABRAMI ja BRISSAUD jagavad kõik patoloogilised protsessid, kus proteiinidega ravitsemine kasu võiks tuua, kahte liiki.

Esimesse liiki kuuluvad verehaigused, haemophilia, haemoglobinuria, purpura ja teised. Nende haiguste põhjuseks peetakse organismi kolloidide vähe püsivat tasakaalu, ja proteinoterapia abil katsutakse kolloidide tasakaalu stabiliseerida.

Teise liiki kuuluvad kõik akuutsed ja kroonilised infektsioonid, kus proteiinidega ravitsemise abil katsutakse kunstlikult tekitada organismi kolloidide tasakaalu muutust, mis infektsiooni käigu peale sagedasti parandavalt võib mõjuda.

Emile WEIL'il läks korda näidata, et vereseerum, millel puuduvad spetsiifilised omadused — tühi seerum — head parandavat mõju avaldab haemophilia ja külmetuse haemoglobinuria puhul. Nende haiguste ravitsemiseks tarvitas Weil heade tagajärgedega värsket hobuseseerumit. NOLF ja HORRY näitasid, et seerumi terapeutiline mõju oleneb peaasjalikult organismile võõrastest valkudest. Nad saavutasid häid resultaate purpura juhul peptoonilahuste organismi süstimistega. Sagedasti võib juba ühekordse peptoonilahuse süstimise järel paranemist märgata, mis püsib aga lühikest aega. Korduvad injektsioonid vabastavad organismi kauemaks ajaks või koguni lõplikult verevalumitest (haemorrhagia). WIDAL, ABRAMI ja BRISSAUD saavutasid autoseerumi injektsioonidega samasuguseid resultaate kui võõra valgu injektsioonidega.

Haemoglobinuria puhul on haigete vere hemolüütiline tasakaal sedavõrt kindluseta, et juba väike külmetus võib teda muuta. Proteiinidega ravitsemise järel muutub see tasakaal sama stabiilseks kui terve inimese organismis.

Haemophilia puhul on tegemist vere hüübimise kiiruse kahanemisega. Proteiinide organismi süstimise tagajärjel paraneb see haigus kiiresti. Peaks arvama, et vere hüübimine in vitro on nüüd kiirem kui enne proteiini injektsiooni. Tõepoolest ei ole aga seda iga kord märgata. MARCEL ja LABBÉ kirjeldavad juhtumust, kus haemophilia

hobuseseerumi injektsioonide järel kliiniliselt ruttu paranes, kuid vere hüübimise kiirenemist (in vitro) ei olnud märgata. NOBÉCOURT ja TIXIER leidsid, et ühel juhtumusel, kus haemophilia proteiinide süstimise järel ei paranenud, vere hüübimine kiirem oli in vitro kui enne ravitsemist.

Proteiinidega ravitsemine annab häid tagajärgi neil juhtumusil, kus patoloogilised nähtused seisavad ühenduses organismi hüpersensibiliteediga. Võõra valgu injektsioonid desensibiliseerivad lühema või pikema aja järel hüpersensibiliseeritud organismi, kutsudes esile antianafülaktilist ehk nõndanimetatud skeptofülaktilist olekut. BESREDKA, BIEDL ja KRAUS näitasid oma uurimustega, et skeptofülaksiat võib saavutada mitte ainult spetsiifilise antigeeniga, vaid ka iga võõra valk-ollusega (mittespetsiifiline antigeen).

Uuemal ajal on selgunud, et proteiinide sarnast toimet organismi peale avaldavad veel paljud teised orgaanilised ja anorgaanilised ained: lipoidid ja kristalloidid. WASSERMANN ja CITRON panid tähele, et glükogeeni toimel immuniseeritud organism produtseerib kiiresti antikehasid. FRIEDBERGER ja HARTOCH näitasid, et 0,85% NaCl-lahuse injektsioonid võivad esile kutsuda antianafülaksiat ja sensibiliseeritud organismi stabiilselt desensibiliseerida. Sama toimet võivad avaldada: barium chloratum, natr. bicarbonicum, natr. sulfuricum, collargol, lecithin, nat. oleinicum, glütseriin jne. Nii kui viimaste aastate uurimused näitavad, võivad hüpersensibiliseeritud organismi desensibiliseerida ja antikehade produtseerimist kiirendada järgmised faktorid: x-kiired, diathermia, päikese- ja mitmesugused kunstlikud kiired, kliimamuutused jne.

Skeptofülaksiat võib saavutada proteiinide tarvitamisega per os (enteraalne tee). PAGNIEZ ja PASTEUR VALLERY-RADOT leidsid, et nendel juhtumustel, kus haigetel toidu tarvitamise järel ilmusid urticaria ja migreen, ei esine enam need sümptomid, kui me haigele 1 tund enne sööki peptooni sisse anname. ABRAMI ja SÉNEVET nägid, et peptooni sisseandmine haigeile enne malaaria hoogu takistab temperatuuri tõusu. Huvitav on, et mõnede soolade tarvitamine per os ja soolalahuste tarvitamine per rectum head terapeutilist mõju avaldab dermatooside puhul. Siin võib oletada, et kristalloidid, toimides enteraalsel teel, desensibiliseerivad organismi ja kutsuvad esile püsiva skeptofülaksia.

Üksikuil kordadel võib tähele panna, et kristalloidid hüpersensibiliseeritud organismis anafülaktilist šokki esile kutsuvad ja sellega haigussümptomeid suurendavad (urticaria, asthma).

Inimese organismi desensibiliseerimiseks peab antigeeni (proteiini, kristalloide jne.) tarvitama parenteraalselt või enteraalselt kauema aja jooksul mitmekesistes doosides, kuna väikeste katseloomadega seda võib saavutada juba ühekordse tarvitamise järel. Seda tuleb silmas pidada, kui loomade juures saadud resultaatide põhjal tahetakse oletada nähtusi, mis ilmsiks võiksid tulla inimese organismis.

Proteinoterapiaga on juba saavutatud häid resultaate paljude haiguste puhul, kus tegemist on peaasjalikult organismi hüpersensibiliteediga: toiduainete anafülaksia, heinatolmu ja loomasõnniku lõhna

asthma, urticaria, prurigo, purpura, haemophilia, haemoglobinuria jne.

Nii kui eksperimentaalsed uurimused ja kliinilised tähelepanud näitavad, võib kunstlikult esilekutsutud anafülaktiline šokk head terapeutilist mõju avaldada paljude haiguste korral. Sellest välja minnes hakati laialt tarvitama ravitsemist anafülaktilise šokiga, mida tekitati mitmekesiste antigeenidega.

Kunstliku šoki esilekutsumiseks peab organismi pääsma niisugune aine, mis kolloidide tasakaalus kiiresti muutusi tekitab. Siin seisavad esimesel kohal võõrad valk-ollused.

Kui arvesse võtame neid suuri muutusi, mis järgnevad proteiinide poolt esilekutsutud šokile (leucocytosis, eosinophilia, muutused vererõhumises, verehüübimises ja valgusisalduses), siis on arusaadav, et šokk ei jäta mõju avaldamata haiguse käigu peale.

Proteiinide poolt esilekutsutud šokiga ravitsemist soovitasid esimestena 1913. a. WIDAL, ABRAMI ja BRISSAUD. Nendele järgnes hulk teisi autoreid.

Widal, Abrami ja Brissaud ravitsesid autoseerumi organismi süstimisega kõhu-soetõbe. Ühel osal nende haigetest langes palavik, ühes sellega kadusid kõik haigusesümptomid ja ei ilmunud enam. Suuremal osal oli märgata ainult ajutist haigusesümptomite vähenemist. Silmapaistev oli kõigil juhtumusil batsillide kiire kadumine haige verest. Osa haigete peale ei avaldanud autoseerumi šokk nähtavat parandavat mõju. Et aga arst ette ei või teada, kui raskel kujul järgneb šokk autoseerumi süstimisele, mis haigele iseenesest kardetavaks võib muutuda, siis soovitavad ülaltähendatud autorid raskete haigete ravitsemist šokiga ettevaatlikult toimetada.

Normaalseid seerumeid tarvitatakse praegusel ajal paljude infektsiooniliste haiguste ravitsemiseks. PENNA, KRAUS ja BELTRAMI said selle meetodiga häid resultaate siberi katku (anthrax), BINGEL, KOLLE ja SCHLOSSBERGER difteria puhul.

Proteiinišoki esilekutsumiseks on kõlvulised mitte ainult vereseerumid, vaid ka teised valk-ollused. Kõige lihtsam on šoki esilekutsumiseks haigele peptoonilahuse verdesüstimine. Naha alla injitseeritult annab peptoon ainult nõrga šoki.

NOLF tarvitas peptooni-injektsiooni verde heade tagajärgedega septicaemia ja paljude teiste infektsiooniliste haiguste korral.

Uuemal ajal tarvitatakse šoki esilekutsumiseks mikroobide proteiine. DELBET ja BEAUVY süstisid kirurgiliste infektsioonide ravitsemiseks streptokokkide, stafülokokkide ja b. pyocyaneus'e vaktsiini suurel hulgal haigele naha alla ehk jälle lihaste sisse või verde ja saavutasid häid resultaate. Delbet arvab, et vaktsiini injektsioonile järgneb kahesugune reaktsioon: 1) reaktsioon, mis ilmub kohe pärast süstimist, on proteiinide šoki sümptom; 2) pikaldane reaktsioon, mille puhul vaktsiinis viibivad mikroobid organismi spetsiifiliselt immuniseerivad. Šoki esilekutsumiseks peab vaktsiini suurel hulgal naha alla süstima, kuna verdesüstimise korral seda väikeste doosidega võib saavutada.

LUDKE, MILLER, CULVER, MAUTÉ, WELLS j. t. tõendavad, et vaktsiinidega ravitsedes peab alati arvesse võtma kahesugust toimet: 1) vaktsiini spetsiifilist toimet ja 2) proteiinide šokki. Sellest võime oletada, et spetsiifilised vaktsiinid infektsiooniliste haiguste puhul paremat toimet avaldavad kui mittespetsiifilised proteiinid.

Kahtlemata oleneb ka antitoksiliste seerumite hea terapeutiline toime kahest faktorist: spetsiifilistest antitoksiinidest ja proteiinide šokist. Toksiinide toime kiireks mahasurumiseks peab toksiliste infektsioonide puhul (diphtheria, tetanus jne.) tarvitama antitoksilisi seerumeid.

Proteiinide šokk ei avalda ühesugust terapeutilist toimet kõikide infektsiooniliste haiguste puhul. Ühed mikroobid kannatavad vähem, teised rohkem šoki tagajärjel muutunud koe mahlades. Infektsioonide korral on tuntud nähtus, et infektsiooni tekitava mikroobi tegevust suurendavad mitmekesised assotsiatsioonis kasvavad mikroobid. WEINBERG ja GINSBURG näitasid, et seesugustel kordadel võib saavutada kiiret paranemist, kui me surume maha ühe või teise mikroobiliigi tegevuse selles assotsiatsioonis ja kutsume esile mikroobide assotsiatsiooni dislokatsiooni, mida autorid nimetavad cataxia'ks. Sääraste polümikroobsete infektsioonide puhul, kus sagedasti võimatu on saada ravitsemiseks spetsiifilist immuunseerumit ehk vaktsiini, saavutatakse proteiinide šokiga silmapaistvat terapeutilist effekti.

Proteinoterapia otstarbeks tarvitatakse praegusel ajal väga mitmekesiseid preparaate: steriliseeritud piima ja piimast valmistatud preparaate: aolaan'i, kaseosaan'i jne., peptoonilahuseid, normaalseerumit jne. On ka tähele pandud, et steriilselt saadud piim avaldab paremat terapeutilist toimet kui soendamise abil steriliseeritud piim.

Proteiinide šoki saavutamiseks tarvitatakse mitmekesiseid kolloidaalmetallide lahuseid: collargol'i, electrargol'i, lantol'i ja kolloidaalkulda. Kui me veel arvesse võtame, et kolloidaalmetallidel on ka teatav antiseptiline mõju, siis on arusaadav nende mõju infektsiooni käigu peale.

Meil puuduvad alles lõplikud andmed proteiinide toime mehhanismi üle ja sagedasti peab opereerima ainult hüpoteesidega. Kahtlemata mobiliseerib proteiinide šokk organismi loomulikud enesekaitsejõud suurendatud tegevusele. Ta muudab organismi rakkude biokemismi ja koemahlade füsikaalseid omadusi. Kolloidkeemiliselt seisukohalt võib proteiinide šoki kui äkilise kolloidse tasakaalu muutuse peale vaadata, mille järele organismis uued tingimused esinevad, mis infektsiooni tekitajate mikroobide peale pahasti mõjuvad, nende kasvu takistavad ja nende virulentsi vähendavad.

Kemoterapia (Chemotherapia).

Kemoterapia all mõistetakse infektsiooniliste haiguste spetsiifilist ravitsemist mitmekesiste kunstlikkude arstimitega (medikamentidega), mis elektiivselt surmavad infektsiooni idusid ja ei vigasta organismi.

Juba Peru elanikud panid tähele, et kiinapuu koor avaldab head terapeutilist toimet malaaria puhul. XVII aastasajal tõid jesuiidid kii-

napuu koore Euroopasse ja sellest isoleeriti alkaloid kiniin, mida tänini tuntakse kui ainukest spetsiifilist arstimit malaaria ravitsemiseks. Brasiilia elanikud leidsid, et ipecacuanha on kõlvuline amööbide-düsenteria ravitsemiseks. Ipecacuanha toodi Euroopasse varssi pärast kiinapuu koort ja sellest isoleeriti alkaloid emetiin, mis on tuntud kui spetsiifiline vahend troopilise düsenteria ravitsemiseks.

Immuniteedi uurimistel selgus, et protozoide põhjustatud infektsioonide puhul ei ole leida organismis spetsiifilisi immuunkehasid ja et neid infektsioone ei ole võimalik ravitseda seerumitega ega vaktsiinidega. Seda silmas pidades katsuti uuemal ajal sünteseerida keemilisi produkte, mis surmaksid organismis viibivaid protozoisid ja ei vigastaks koerakke. Paul EHRLICH oli esimene, kes sellel alal silmapaistvaid resultaate saavutas. Ta läks välja järgmisest põhimõttest: kemoterapia nõuetele vastab niisugune substants, mis on maksimaalsete parasitotroopsete ja minimaalsete organotroopsete omadustega. Seesuguse substantsi terapeutiline doosis peab olema märksa vähem minimaalsest toksilisest doosisest.

Ehrlich pani tähele, et mitmekesistel sünteetilistel värvidel on omadus fikseeruda mitte ühetaoliselt kõikide kudede rakkudega. Ta katsus sünteseerida niisugust värvi, mis fikseeruks selektiivselt organismis viibivate protozoide rakuprotoplasmaga ja mürgistaks seda, ilma et peremehe organismi rakud seejuures kannataksid. EHRLICH'il ja SHIGA'l läks korda sünteseerida bensidiinvärvi-trüpaanpunast, mis surmas hiirte organismis viibivaid trüpanosoome, ilma et organismi vigastust märgata oleks olnud. Kaks aastat hiljemini said MESNIL ja NICOLLE toluidiinvärvi — trüpaansinise, mis laialist tarvitust leidis protozoide (trüpanosooma, piroplasma) poolt esilekutsutud infektsioonide ravitsemiseks.

Ehrlich oletas, et parasiitide rakul on nõndanimetatud kemoretseptorid, mis spetsiifilise toimega arstimit seovad ja millest oleneb arstimi parasitotroopne toime. Kui koerakkudel puuduvad seesugused spetsiifilised retseptorid, siis ei avalda arstim nende peale mürgilist toimet. Pea selgus, et Ehrlich'i teooria ei suuda täielikult ära seletada parasitotroopse omadusega arstimite toime mehhanismi. Ehrlich ja SHIGA panid tähele, et võrdlemisi suure kontsentratsiooniga trüpaanpunase lahus ei surma trüpanosoome in vitro. Edasi selgus, et trüpaanpunane liitub niihästi trüpanosoomidega kui ka koerakkudega ja värvib neid ainult siis, kui nad ära surevad. Mitte vähem huvitav oli tähelepanu, et trüpaanpunane surmab trüpanosoome (t. equinum) infitseeritud hiire organismis, kuid ei surma neid infitseeritud merisea, roti ja koera organismis. Sellest võis oletada, et trüpaanpunase parasiite surmav toime oleneb looma organismi individuaalseist omadusist.

Kui me lisame trüpanosoomidele juurde in vitro niisuguse hulga trüpaanpunast, mis neid ei surma, ja injitseerime siis lahusest eraldatud trüpanosoomid hiirele, siis kaovad nad kiiresti hiire organismist ja ei kutsu esile infektsiooni. Seesuguse nähtuse seletamiseks tuli oletada: 1) võib-olla muutus trüpaanpunane, mida ühes trüpanosoomidega väikesel määral organismi injitseeriti, organismi mahlade ja

koerakkude toimel uueks aineks, mis väga mürgiline on trüpanosoomidele; 2) võib-olla vähendas trüpaanpunane in vitro trüpanosoomide virulentsi, mille tõttu nad ei suuda kiiresti sigida ega ära võita organismi enesekaitse faktoreid.

1920. a. publitseerisid HÄNDEL ja JOETTEN resultaadid, mis nad saavutasid endi sünteseeritud substantsiga ja mida firma «Farbwerke Bayer» müügile laskis Bayer «205» nime all. See on värvitu, vees lahustuv aine, mille keemilist koosseisu firma ei avalda. FOURNEAU analüseeris seda produkti põhjalikumalt ja sünteseeris uue substantsi «309», mis ligikaudu sama terapeutilist toimet avaldab kui Bayer «205».

Kui me injitseerime «205» trüpanosoomidega infitseeritud hiirele, jänesele või rotile, siis kaovad parasiidid mõne päeva jooksul nende organismist ja loomad omandavad püsiva resistentsi sama infektsiooni vastu. Resistentsiperioodi ajal loomadelt saadud seerum, samuti ka teatud organite ekstraktid avaldavad silmapaistvat terapeutilist toimet trüpanosoomidega injitseeritud loomade peale. Bayer «205» annab häid terapeutilisi resultaate Aafrika unihaiguse ja paljude teiste protozoide infektsioonide puhul (dourine, surra, mal de Caderas jne.), kuid tema mõju mehhanismi üle pole veel selgusele jõutud. Nii on teada, et «205» ei avalda silmatorkavat surmavat toimet trüpanosoomide peale in vitro; trüpanosoomid hakkavad kaduma looma verest ainult mõne päeva järel pärast «205» injektsiooni. Võib tähele panna, et trüpanosoomid hakkavad organismis enne terapeutilise effekti ilmumist kiiremini sigima, kuid nad ei suuda enam infitseerida teist looma.

«205» terapeutiline toime oleneb organismi individuaalseist omadusist; ta surmab parasiite ühel loomaliigil, ei tee seda aga teise loomaliigi organismis. Inimeste suhtes võib tähele panna, et unihaiguse sümptomid kaovad «205» injektsiooni järel, kuid trüpanosoomid on veel leida seljaaju vedelikus. Sellest peab oletama, et «205» ei surma iga kord parasiite, vaid vähendab nähtavasti nende virulentsi. Veel raskem on seletada «205» kauakestvat toimet ja injektsiooni järel organismis tekkinud resistentsi. Alguses arvati, et «205» tekitab organismis immuunkehasid, kuid selle vastu räägib nähtus, et seerum ei kaota oma terapeutilist toimet pärast soendamist. Viimsed uurimused tõendavad, et «205» liitub vereseerumi proteiinidega ja muudab viimaste bioloogilisi omadusi.

Peab tähendama, et «205» terapeutilist toimet ei ole võimalik seletada ainult tema suure affiniteediga parasiitidele ja affiniteedi puudusega peremehe kudedele. Nähtavasti etendab selle aine affiniteet niihästi koerakkudele kui ka vereseerumile mõlemas suhtes tähtsat osa tema terapeutilises toimes.

Suure praktilise tähtsuse omandasid kemoterapias mitmesugused arseeniderivaadid. LAVERAN ja MESNIL (1902) panid tähele, et acid. arsenicosum surmab trüpanosoome infitseeritud hiirte organismis, kuid see aine ei leidnud suurt tarvitust, sest ta on organismile mürgiline. KOCH leidis, et atoksüül avaldab Aafrika unihaiguse puhul head terapeutilist toimet. SCHAUDINN ja UHLENHUTH konstateerisid samasugust atoksüüli toimet eksperimentalse süüfilise puhul. Selle

järel hakati atoksüüli tarvitama inimeste süüfilise ravitsemiseks, kusjuures selgus, et ka atoksüül liiga mürgiline on organismile. Seda silmas pidades katsuti sünteseerida uusi arseenipreparaate, mis oleksid võimalikult suure parasiitotroopse ja väikese organotroopse toimega. EHRLICH ja HATA sünteseerisid salvarsani (606), mis spiroheetide poolt esilekutsutud infektsioonide korral (syphilis, febris recurrens, framboesia, angina Plaut-Vincent'i jne.) häid terapeutilisi resultaate andis. Neid haigusi võis parandada ühekordse küllalt suure doosi injektsiooniga, millega osalt oli tõestatud Ehrlichi ideaal: «Therapia magna sterilisans». Pea valmistati hulk teisi salvarsani derivaate: neosalvarsan, salvarsannatrium, silbersalvarsan, sulfoxylatsalvarsan ja salvarsani segud sublimaadiga: novasurol, cyarsal jne., mis laialist tarvitust leidsid spiroheetide poolt esilekutsutud infektsioonide ravitsemiseks.

Ülaltähendatud arseeniderivaatide terapeutiline toime on juba tuntud paljude infektsioonide puhul, kuid nende toime mehhanismi üle puuduvad alles ligemad andmed. Pea ükski nendest substantsidest ei avalda surmavat toimet spiroheetide ja trüpanosoomide peale in vitro niisugustes kontsentratsioonides, mida võib saada organismis ilma kahjuta nende injektsiooni järel. EHRLICH leidis, et atoksüül, mis ei avalda surmavat toimet trüpanosoomide ja spiroheetide peale in vitro, omandab seesuguse toime elusas organismis. Ta näitas, et atoksüül redutseerub organismis arseenoksüüdiks, mis trüpanosoome kiiresti surmab. Samuti muutub salvarsan organismis osalise oksüdatsiooni järel uueks substantsiks, mis parasiite kiiresti surmab.

LEVADITI ja YAMANOUCHI (1905) näitasid, et atoksüül omandab trüpanotsiidse toime, kui teda segada jänesemaksa värske ekstraktiga ja lasta seista 37°C. soojuses. Atoksüül muutub uueks aineks — trüpanatoksüül'iks, mille keemiline loomus on alles vähe tuntud. Levaditi leidis, et atoksüül liitub proteiinidega; seeläbi saabuvad arseniseeritud toksalbumiinid, mis parasiite surmavad. Trüpanatoksüül fikseerub mitte ainult trüpanosoomidega, vaid ka koerakkudega. VOEGTLIN ja tema kaastöölised tulid otsusele, et arseeniderivaatide terapeutiline toime oleneb sellest, et nad muutuvad organismi mahlade ja koerakkude kaasabil parasiitotsiidseiks produktideks. Seega etendavad peremehe organismi individuaalsed omadused suurt osa kemoterapias.

NAVARRO-MARTIN, LEVADITI, KNAFFL VON LENZ ja teised tõestasid oma uurimistega, et antimoni ja bismuudi derivaadid, mida tarvitatakse heade tagajärgedega trüpanosoomide ja spiroheetide poolt esilekutsutud infektsioonide ravitsemiseks, omandavad parasiitotsiidse toime ainult pärast seda, kui nad modifitseeruvad enam-vähem põhjalikult organismis.

Nii kui juba teada, avaldavad mitmekesised bismuudisoolad ja ka bismuut-metall peene pulbri näol head terapeutilist toimet süüfilise ja teiste spiroheetide infektsioonide puhul. LEVADITI ja NICOLAU näitasid, et samad substantsid avaldavad õige nõrka surmavat toimet spiroheetide peale in vitro. Kui aga segada neid substantse kas rakkudest vaba maksaekstraktiga või maksatükkidega ja lasta seista

37° C. soojuses, siis omandavad nad suure spiroheete surmava jõu. Autorid oletavad, et organite ekstraktid sisaldavad isesugust ollust — bismogeeni, mis bismuudi derivaadid bismoksüüliks transformeerib. Bismoksüül toimib surmavalt trüpanosoomide ja spiroheetide peale. Levaditi ja Nicolau seletavad, et bismogeeni ja bismuudi derivaatide segus tekib proteiiniliste kolloidide flokulatsioon. Bismoksüül ei ole nähtavasti muud kui sadestunud proteiinid, mis kauema aja jooksul kuivanud olekus oma spiroheete surmava toime alal hoiavad. Me näeme, et bismuudi derivaatide parasitotsiidne toime ei olene ainult nende ainete parasitotroopsest omadusest, vaid neil on ka teatud organotroopne omadus, mis on nende aktiivsuse tekkimise oluliseks tingimuseks.

EHRLICH pani tähele, et trüpanosoomid võivad täielikult kaduda infitseeritud hiire organismist, kui neile injitseeritakse küllalt suur doosis trüpaanpunast või atoksüüli (sterilisatio magna). Oli aga injitseeritud doosis mitte küllalt suur, siis kaob ainult osa trüpanosoomidest ja osa jääb ellu. Mõne aja järel algavad nad sigimist ja sellega esineb haiguse retsidiiv. Korduvate injektsioonide (väikesed doosid) ja korduvate retsidiivide järel omandavad trüpanosoomid arstimi vastu viimati niisuguse resistentsi, et ka suured doosid ei suuda enam organismi nendest vabastada. Trüpanosoomid omandavad immuniteedi arstimi vastu ja neid nimetatakse siis resistentseiks tüvedeks. Resistentsed tüved hoiavad alal oma resistentsi lõpmata hulga passaažide järel läbi hiirte organismi. MESNIL ja BRIMONT leidsid, et seesugused trüpanosoomitüved kaotavad kohe oma resistentsi ja muutuvad tundlikuks arstimitele, kui nad üle viiakse roti organismi. Nad omandavad aga uuesti resistentsi, kui nad tagasi viiakse roti organismist hiire organismi. Sellest näeme, et organismi individuaalsed omadused etendavad suurt osa ühele või teisele arstimile resistentsete tüvede tekkimises.

Trüpanosoomide resistents ühele või teisele arstimile ei ole spetsiifiline. EHRLICH ja tema kaastöölised panid tähele, et mitte ainult puudulik ravitsemine atoksüüliga, vaid ka puudulik ravitsemine mitmekesiste värvidega, mis keemiliselt täielikult lahku lähevad atoksüülist, võib atoksüülile resistentsete trüpanosoomitüvede tekkimise põhjuseks olla.

Kemoterapia probleemi selgitamiseks avitavad kaasa uurimised ipecacuanha'st ja kiinapuu koorest saadud alkaloididega (emetiin, kiniin).

ROGERS näitas, et emetiini lahus 1 : 100 000 surmab kiiresti düsenteria amööbid in vitro. Paistis, et emetiini terapeutilist effekti haigete juures võiks seletada lihtsalt tema otsekohese surmava toimega amööbide peale. DOBELL'i ja DALE'i uurimused on tõestanud, et emetiin, mis head terapeutilist toimet avaldab inimeste amööbilise düsenteria peale, ei avalda mingisugust toimet samade amööbidega infitseeritud kasside organismis. Me näeme, et ka emetiini terapeutiline effekt sõltub peremehe kudede individuaalseist omadusist. Pea selgus, et emetiin avaldab surmavat toimet nende amööbide (entamoeba histolytica) peale, kes võivad sigida ja elada ainult soolte limanahas,

kuna ta ekskrementides sigivaid entamööbe ei vigasta. Võib-olla omandavad koed emetiini toimel resistentsi amööbide vastu, võib-olla kahaneb emetiini toimel amööbide virulents sedavõrt, et nad ei suuda vastu pidada koe enesekaitse faktoritele. Need on küsimused, mis selgitust ootavad. Igatahes ei ole võimalik seletada emetiini terapeutilist effekti amööbide poolt esilekutsutud düsenteria puhul ainult tema parasitotroopse omadusega.

MORGENROTH'i ja tema kaastööliste uurimused on tõestanud, et kemoterapeutilise toimega substantsid liituvad peremehe koerakkudega ja et ühe või teise substantsi organotroopne omadus on oluliseks faktoriks terapeutilise effekti saavutamisel.

Kiniini terapeutilist toimet malaaria puhul katsuti alguses seletada ainult tema parasitotroopse omadusega. Ei ole veel kindlaks tehtud, et niisuguse kontsentratsiooniga kiniinilahuse, kui seda saavutatakse kiniini tarvitamise puhul elusa organismi veres, surmaksid erütrotsüütidest eraldatud malaariaplasmoode in vitro. MORGENROTH leidis, et organismi resorbeerunud kiniin liitub erütrotsüütidega, mille tagajärjel surevad nendes viibivad plasmoodid. Kiniini toimel on takistatud plasmas viibivate merozoitide pääsmine erütrotsüütidesse. Morgenroth oletab, et kiniini terapeutiline effekt ei olene ainult sellest, et ta otse surmavalt toimib plasmoodide peale, vaid sellest, et kiniin muudab vere mittesoodsaks plasmoodide sigimisele. Kiniin kaitseb erütrotsüüte plasmoodide eest, kus nad võiksid sigida, ja nad surevad kiiresti plasmas viibivate organismi enesekaitse substantside toimel. Ülaltähendatud uurimused näitavad, et kiniini organotroopne omadus etendab olulist osa kemoterapeutilise effekti saavutamises.

Samasugust fikseerumist erütrotsüütidega ja sidekoe rakkudega märkas MORGENROTH uurimistel, mis ta ette võttis kiniini derivaatidega: etüülhüdrokupreiiniga (optochin), oktüülhüdrokupreiiniga (vuzin) ja värvidega akridiini seeriast. Nende substantsidega on juba saavutatud rahuloldavaid terapeutilisi resultaate bakteriaalsete infektsioonide puhul (pneumokokkide, streptokokkide jne. infektsioonid). Nende arstimite terapeutilist effekti ei ole võimalik seletada ainult otsekohese surmava toimega infektsiooni-idude peale, vaid siin tuleb otsida veel teisi faktoreid. MOOR oletab, et peremehe organismi enesekaitse reaktsioon on selle juures üks olulisemaist faktoreist. Optochin'i lahus, võetud niisuguses kontsentratsioonis, mis ei surma pneumokokke, muudab sedavõrt nende virulentsi, et spetsiifilised antikehad nendest kergemini võitu saavad.

FELTON ja DOUGHERTY panid tähele, et suured doosid optochin'i ja teisi ülaltähendatud alkaloide võivad maha suruda organismi loomuliku enesekaitse reaktsiooni ja sellega kiirendada infektsiooni käiku, kuna vähemad doosised parandavalt toimivad. MORGENROTH tõendab, et organotroopse omaduse tõttu liituvad optochin ja vuzin erütrotsüütidega, mis neid organismis laiali kannavad. Samuti liituvad nad sidekoega, moodustades arstimilademeid (depoosid).

Juba 1914. aastast alates uuriti EHRLICH'i laboratooriumis akridiinivärvi-trypaflavin'i, mis trüpanosoome kiiresti tapab. BROWNING'i ja tema kaastööliste poolt ettevõetud katsed näitasid, et trypaflavin'il

on väärtuslised antiseptilised omadused infitseeritud haavade ja limanahkade ravitsemiseks, mille järel see arstim tutvaks sai «acriflavin'i» nime all. Ilmasõja ajal uuriti veel teisi värve sellest liigist, ja MORGENROTH leidis, et üks nendest, mida nimetati rivanooliks, on iseäranis silmapaistva antiseptilise omadusega ja takistab streptokokkide levimist kudedes. Uurimused on tõestanud, et organismi injitseeritud rivanool fikseerub erütrotsüütidega ja subkutaansete kudedega, mis takistab tema kiiret eraldumist organismist. Nende rakkude küljest läheb rivanool järk-järgult üle infektsiooni-idude (streptococcus) külge ja surmab neid kiiresti. Säärane üleminek sünnib isesuguse protsessi näol, mida Morgenroth «transgressiooniks» nimetas. See on protsess, mille puhul substants läheb ühest meediumist teise, ka siis, kui mõlematel meediumidel on affiniteet sellele substantsile. Üleminek sünnib läbi meediumikihi, millel puudub affiniteet substantsile ja milles ta võib ka mitte lahustuda. Seesuguse protsessi korral vabaneb aktiivne substants järk-järgult lademeist ja avaldab oma toimet pika aja jooksul pärast organismi pääsmist. See fenomen, mida tähele võib panna ka Bayer «205» ja salvarsaniga ravitsedes, on suure tähtsusega kemoterapias.

Ülal-esitatud lühikesed andmed kemoterapia üle näitavad, et seda paljutõotavat ala alles puudulikult on uuritud. Siin ei ole iga kord võimalik loota, et eksperimentide abil loomade juures saadud resultaadid vastaksid täielikult nendele, mis annab üks või teine arstim inimeste kohta. Kemoterapia edusammude saavutamiseks tuleb praegusel ajal palju loota empiirilistest järeleproovimistest inimestes enestes. EHRLICH'i kemoretseptorite teooria ei suuda ära seletada kõiki neid nähtusi, millega me kokku puutume kemoterapias. Siin peab arvesse võtma organismi omadusi, millede tagajärjel üks või teine arstim aktiivseks muutub.

Silmas pidades neid resultaate, mis on saavutatud lühikese aja jooksul kemoterapia abil mitmekesiste infektsioonide puhul (süüfilis, recurrens, trüpanosomiasis, kala-azar jne.), võib loota, et tulevikus see ravitsemismeetod palju uudist suudab pakkuda ja paljusid haigusi avitab parandada, millede ees arst praegusel ajal abitult peab seisma.

Desinfektsioon.

Desinfektsiooni ülesandeks on kõikide nende patogeensete mikroorganismide hävitamine ühe või teise vahendiga, ked a nfitseeritud organism endast eraldab ja kes välisilmas viibides taiudi võivad tekitada.

Desinfektsioon on üks tähtsamaist tegureist niihästi taudi tekkimise ärahoidmiseks kui ka piiri panemiseks juba alanud taudidele. Desinfektsiooniõpetus sai oma teaduslise aluse pärast seda, kui mikrobioloogiliste uurimuste abil kindlaks tehti need tingimused, mis on tarvilikud patogeensete mikroobide sigimise takistamiseks ja nende hävitamiseks. Eksperimentaalsete uurimuste abil tehti kindlaks desinfektsiooni meetodid, mis on kõige praktilisemad ja mis annavad seejuures kõige kindlamaid resultaate.

Epidemioloogilised uurimused on näidanud, et taudide vastu võitlemises on lõpmata suure tähtsusega profülaktiline desinfektsioon, mille korraliku läbiviimise järele alati peab valvama. Igaüks teab, et infektsiooni-idud mustuses omale sigimiseks kõige parema pinna leiavad. Sellepärast on tarvilik nendes kohtades, kus palju rahvast liigub (koolid, seltsimajad, vagunid, kontorid, vaksalid jne.), järjekindlalt puhastust ette võtta: pühkimist, tolmu väljakloppimist, ruumi tuulutamist, mööbli päikese kätte välja viimist, seebiveega seinte ja põrandate pesemist, seinte ja lagede lupjamist jne. Sääraste üldiste tervishoiuliste abinõudega oleks võimalik väiksema vaevaga palju rohkem saavutada epideemiate vastu võitlemises kui infektsiooni-idude hävitamise katsetega pärast seda, kui taud juba on lahti puhkenud.

On aga taud juba alanud, siis on haiged ise pea-allikaks, kust infektsiooni-idud ümbrusesse pääsevad ja taudi levimist kiirendavad. Säärasel korral peab kohe tarvitusele võetama jooksev desinfektsioon, mille ülesandeks on kõikide infektsiooni-idude hävitamine, enne kui nad haige ümbrusesse levivad. Põhjalik haige voodi desinfitseerimine on kõige mõjuvam karanteen taudi levimise vastu. Kahjuks ei ole jooksva desinfektsiooni tähtsus veel küllalt õiglast hindamist leidnud niihästi arstide kui ka laiemate rahvakihtide poolt. Kui sagedasti ei lahku arst infektsioonilise haige juurest, andes ainult üht või teist rohutähte ning õpetust haige ravitsemiseks, ilma et ta täpsalt seletaks, kuidas oleks vaja toimetada desinfektsiooni.

Pärast seda, kui haige saab terveks, või ta mahutatakse haigemajasse, või ta sureb infektsiooni kätte, võetakse viibimata ette lõppdesinfektsioon ja katsutakse hävitada kõik infektsiooni-idud, kes haigest maha jäetud infektsioonipesasse. Lõppdesinfektsiooni on kergem läbi viia täies ulatuses ainult siis, kui jooksva desinfektsiooni eest küllalt hoolt kanti.

Desinfektsioon on kahtlemata üks kõige mõjuvamaist tegureist taudide vastu võitlemises; kuid tuleb silmas pidada, et ta annab häid tagajärgi ainult siis, kui seda asjatundjad toimetavad ja kui desinfektsioon on põhjalikult läbi viidud. Pealiskaudne desinfektsioon on väikese tähtsusega ja sagedasti koguni kahjulik, sest inimesed, uskudes desinfektsiooni absoluutsesse toimesse, liiguvad vabalt infektsioonipesas, infitseerivad ennast ja levitavad taudi.

Desinfektsiooni otstarbeks leiavad tarvitust praegusel ajal väga mitmekesised vahendid. Suurema praktilise tähtsusega on need desinfektsioonivahendid, mis vastavad järgmistele nõuetele: 1) desinfektsioonivahend peab surmama kiiresti ja täielikult infektsiooni-idud; 2) tema tarvitamisviis peab olema võimalikult lihtne; 3) ta ei tohi rikkuda neid objekte, mida desinfitseeritakse; 4) ta peab olema küllalt odav ja suurele hulgale kättesaadav; 5) ta ei tohi desinfektsiooninõuetele vastava tarvitamise korral kahjulik olla inimestele ja loomadele; 6) tema toime ei tohi kahandada ainet, milles viibivad infektsiooni-idud ja mida desinfitseeritakse.

Iga uut desinfektsioonivahendit peab enne üldisele tarvitusele võtmist hoolega proovima vastavate bakterioloogiliste kontrollide abil, et otsusele jõuda, kui pika aja jooksul ta surmab teatavais tingimusis

infektsiooni-idud. Alguses proovitakse vahendi surmavat toimet mitmekesiste mikroobide kultuuride ja mikroobidest valmistatud vee-suspensioonide suhtes. Selle järel peab tingimata uurima, kuidas toimib vahend mikroobide peale siis, kui need viibivad nendes substraatides, mida praktilises elus harilikult desinfitseeritakse (ekskremendid, mäda, röga, uriin jne.). Nii kui juba teada, oleneb desinfektsioonivahendi toime märksa miljöö omadustest, kus infektsiooni-idud desinfektsiooni ajal viibivad.

Desinfektsioonivahendit proovides peab hoolega silmas pidama, et ta infektsiooni-idud täielikult surmaks ja ei takistaks ainult ajutiselt nende kasvu. Kui vahend takistab ainult ajutiselt mikroobide kasvu, siis võivad need pärast soodsaisse kasvutingimusisse pääsmist sigimist uuesti alata ja infektsiooni esile kutsuda. Desinfektsioonivahendiks võib sõna täies mõttes ainult niisugust vahendit nimetada, mis mikroobe lõplikult surmab.

Desinfektsioonivahendi toime ei ole ühesugune kõikide infektsiooni-idude peale. Eostega mikroobe katsetades näeme, et vegetatiivsed vormid palju kiiremini surevad kui eosed. Ka vegetatiivseil vormidel võib tähele panna väga mitmekesist resistentsi desinfektsiooni toimele. Näiteks tuberkuloosibatsillide resistents on palju suurem kui kooleravibrioonide, düsenteria ja tüüfusebatsillide resistents. Protozoide resistents on harilikult palju väiksem kui bakterite oma. Niihästi bakterite kui ka protozoide hulgas leidub sääraseid liike, millede peale üks või teine desinfektsioonivahend elektiivselt toimib ja neid kiiresti surmab, kuna ta teisi liike samades tingimustes ei surma. Seesugust elektiivset omadust võib tähele panna tribroom β-naftooli juures kokkide, b. diphtheriae ja b. anthracis'e suhtes.

Ühe või teise keemilise substantsi mikroobide kasvutakistavat toimet võib järgmiselt uurida. Söötmele lisatakse juurde kord-korralt suurenev hulk keemilist ainet; külvatakse mikroobid juurde ja lastakse kasvada vastavas soojuses. Kultiveerimise järel tähendatakse ära uuritava aine kõige nõrgem doosis, kus mikroobide kasv ilmsiks ei tulnud, mis näitab teguri kasvutakistava toime suurust. Seejuures paistab silma, et mikroobide vastupidavus kasvutakistavale toimele on sedavõrt suurem, mida soodsamad on proovimise ajal kõik teised mikroobi elutingimused. Näiteks vereseerumis viibivate mikroobide kasvu takistamiseks on tarvilik palju suurem sublimaadi kontsentratsioon kui lihapuljongis. Samuti võib tähele panna, et sublimaat vähemat kasvutakistavat toimet avaldab termostaadi soojuses (37° C.) kui toasoojuses.

Desinfitseeriva aine surmava toime uurimine mikroobide suhtes on seotud mitmekesiste raskustega, ja praegusel ajal puuduvad alles absoluutse täpsusega meetodid selleks otstarbeks. Uurimist toimetatakse üldjoontes järgmiselt: Mikroobid lastakse viibida mitmesuguse aja jooksul uuritavast ainest valmistatud lahustes (mitmekesised kontsentratsioonid); selle järel eraldatakse mikroobid suspensioonist, pestakse nad võetud substantsist puhtaks, mikroobid külvatakse vastavale söötmele ja kultiveeritakse soodsais tingimusis mitme päeva jooksul (5—7 päeva), et selgusele jõuda, kas mikroobid on täielikult sur-

nud või oli nende kasv ainult ajutiselt takistatud. Samuti peab ka desinfitseerivast ainest vabastatud mikroobe injitseerima vastuvõtlikkudele loomadele, et nende surma üle lõplikku otsust saada. Kõige raskem on nende uurimiste puhul mikroobide täielik vabastamine desinfitseerivast ainest. See on aga väga tarvilik, sest nii kui teada, võib koguni väike hulk mürki, mis ühes mikroobidega söötmesse pääseb, takistada juba mürgistatud mikroobide kasvu, ja sellepärast võivad kultuurid anda petliku pildi mikroobide surmast. Säärasest eksituse võimalusest on katsutud mitmel teel mööda pääseda.

R. KOCH võttis steriliseeritud siidniidi, mahutas selle mikroobide suspensiooni sisse, kuivatas niidi ekssikaatoris, hoidis selle ühes külgekuivanud mikroobidega uuritavas desinfitseerivas lahuses mitmesuguse aja jooksul ja uuris siis mikroobide kasvu kultuuri abil.

Niiti soovitasid ühed steriliseerida kuiva kuumusega, teised kuumas aurus, kolmandad alkoholis või jälle eetris. Et suspensiooni kastetud niidi külge mikroobid kinni jääksid, selleks võib niiti kuivatada kas ekssikaatoris väävelhappe või calcium chlorat. kohal või termostaadis 37° C. soojuses või jälle toatemperatuuris. Mõned autorid ei soovita suspensiooni kastetud niiti üldse mitte kuivatada. Niidi asemel võib tarvitada mitmekesiseid teisi objekte, mille külge mikroobid püsivalt fikseeruvad.

PAUL ja KRÖNIG soovitasid võtta selleks otstarbeks klaasitükke või steriilseid Böömi granaate, teised soovitavad selleks kateklaase, filtreerimispaberi- ja riideribasid jne. Mikroobide suspensiooni valmistamiseks võetakse 0,85% NaCl-lahust või steriliseeritud kraanivett, kuna destilleeritud vesi selleks ei kõlba, sest ta võib ise surmata nõrga resistentsiga mikroobe ilma desinfitseeriva aine toimeta. Kui soovitakse desinfitseeriva aine toimet uurida eoste suhtes, siis peab suspensioon valmistatama vanast (2—3 nädalat) kultuurist. Suspensioon peab seista lastama, et suuremad osad põhja langeksid, ja katseks võetakse ainult suspensiooni pealmist osa.

Ühe või teise ülaltähendatud objekti külge kuivatatud mikroobid lastakse viibida ühes objektiga mitmesuguse aja jooksul desinfitseeriva aine lahuses, mille järel desinfitseerivat ainet katsutakse täielikult eraldada mikroobidest. Selleks loputatakse objekte nende küljes viibivate mikroobidega steriliseeritud vees (KOCH), 0,85% NaCl-lahuses (SAVIN) ja mitmekesiste keemiliste substantside lahuses. Peale seda katsutakse desinfitseeriva aine toimet veel mitmel viisil neutraliseerida või ainet mittelahustuvaks ühendiks muuta. Näiteks raskete metallide soolad sadestatakse lahusest $(NH_4)_2S$ abil, aluseliste omadustega ainet võib neutraliseerida nõrga äädikhappega, happeid võib neutraliseerida lahjendatud lehelistega, formaldehüüdi ja fenooli lahjendatud ammoniaagiga, joodi naatriumtiosulfaadilahusega jne. PROSKAUER nõuab, et desinfitseeriva aine neutraliseerimiseks tarvitatud ollus peab vastama järgmistele tingimustele: 1) ta ei tohi ise takistada mikroobide kasvu, 2) teda peab võtma niisugusel määral, mis desinfitseeriva aine täielikult suudab neutraliseerida, 3) neutraliseerimise tagajärjel saadud ühend peab olema püsiv ja ei tohi ise mikroobide kasvu takistada.

Ühel või teisel teel desinfitseerivast ainest vabastatud objektid külvatakse kas kõva söötme peale või vedela söötme sisse ja lastakse kasvada võetud mikroobidele vastavas temperatuuris mõne päeva jooksul.

Peale ülaltähendatud meetodite tarvitatakse desinfitseeriva aine toime proovimiseks emulsioonimeetodit. Selle puhul lastakse mikroobid viibida desinfitseerivas lahuses teatud aja jooksul, siis sadestatakse neid tsentrifugeerimise abil, sadet pestakse korduvalt steriilse veega või 0,85% NaCl-lahusega ja selle järel külvatakse mikroobid ühe või teise söötme sisse ja kasvatatakse termostaadis. Seda meetodit peab tingimata tarvitama niisugusel korral, kui prooviks võetud mikroobid ei kannata kuivamist.

Desinfektsioonivahendite väärtuse kindlaksmääramist peab toimetama järgmise kindla kava järele:

1) Prooviks peab tarvitama mitmesuguseid mikroobiliike ja nende mitmekesiseid tüvesid. Igaks katseks peab võetama võimalikult ühesugune hulk mikroobe.

2) Kui uuritakse keemiliste ainete desinfitseerivat toimet, siis võib muuta kaht faktorit: katse kestust ja ainelahuse kontsentratsiooni. Füsikaalsete tegurite desinfitseerivat toimet uurides võib muuta nende intensiivsust ja toime kestust.

3) Katse kestusel peab temperatuur üks ja sama olema.

4) Pärast desinfitseeriva vahendi toime soovitavat lõppu peab mikroobid täielikult vabastama selle toime alt.

5) Desinfektsioonivahendi toimest vabastatud mikroobid külvatakse vastava kõva söötme peale, kus ühe ja sama kasvuaja järel mikroobipesade (koloniide) arv nende lugemise abil kindlaks määratakse.

6) Külvisid kasvatatakse termostaadis temperatuuri optimumis 2—8—10 päeva jooksul. Sagedasti võib desinfitseeriv vahend pikemaks ajaks takistada mikroobide kasvu; sellepärast soovitavad mõned autorid külvi kasvatada 1—2 kuu jooksul.

7) Peab uurima, et kultuuris kasvavad mikroobid on needsamad, mida alguses katseks võeti.

8) Desinfektsioonivahendi toime all viibinud mikroobe injitseeritakse vastuvõtlikkudele loomadele, mis sagedasti kindlamad resultaadid annab kui nende kultiveerimine kunstlikel söötmeil.

Kõige selle juures peab tähendama, et alles puudub teadusliselt täpsalt äramääratud ühtlane meetod desinfitseerivate vahendite väärtuse uurimiseks.

Praktilise desinfektsiooni puhul tuleb alati silmas pidada, et paljud ained, milles viibivad mikroobid ja mida soovitakse desinfitseerida, kahandavad suuremal või vähemal määral desinfektsiooniks tarvitatava vahendi toimet mikroobide peale. Sellepärast peab alati proovima, kuidas toimib üks või teine desinfektsioonivahend nendes tingimustes, mis esinevad praktilise desinfektsiooni puhul. Ühe või teise vahendi desinfitseerivat toimet uurides võetakse kontrolliks alati niisugused mikroobid, kelle resistents on juba enam-vähem tuntud (b. anthracis'e eosed).

Bioloogilised muutused, mida üks või teine desinfektsioonivahend esile kutsub mikroobi rakus ja mis võivad mikroobi suremise põhjuseks olla, on väga mitmekesised. Surmavalt toimiva kuivamise, põlemise, protoplasma koaguleerumise, pundumise ja rakkude sulamise kõrval võib tähele panna ka desinfektsioonivahendite spetsiifilist toimet mikroobide peale. Viimasel korral etendavad suurt osa desinfitseeriva aine dissotsiatsieerumine elektiivselt toimivaiks iooniideks, aine lahustuvus lipoidides ja paljud teised veel tundmatud kolloidkeemilised reaktsioonid.

Praktilise tähtsuse omandavad desinfektsiooni puhul ainult need vahendid, mis vastavad ülal-esitatud nõuetele. Praegusel ajal tarvitatakse desinfektsiooniks mitmekesiseid füsikaalseid faktoreid ja keemilisi substantse. Füsikaalseist faktoreist seisab esimesel kohal kuumus (kõrge temperatuur), mis mikroobe kiiresti surmab, kuna külm (madal temperatuur) mikroobide kasvu takistab ja ainult üksikuid liike surmab.

Kõige suurema desinfitseeriva toimega on tuli, mis kõik mikroobid ja nende eosed silmapilkselt surmab. Seda silmas pidades peab kõik need infitseeritud objektid, milledel pole suuremat väärtust, otsekohe ära põletama (aluskottide põhud, väärtuseta riided, köidikud, puuvill jne.).

Omal ajal leidis desinfektsiooniks laialist tarvitust kuiv kuum õhk. KOCH ja WOLFFHÜGEL näitasid, et see faktor on vähe kõlvuline praktilise desinfektsiooni otstarbeks. Tema desinfitseeriv toime on võrdlemisi väike, peale selle rikub kuum õhk desinfitseeritavaid objekte. Seda silmas pidades ununes kuiva kuuma õhu tarvitamine desinfektsioonipraktikas ja seda meetodit tarvitatakse harilikult laboratooriumides mitmesuguste klaasasjade steriliseerimiseks (160° C. 1—2 tunni jooksul).

Palju suuremat desinfitseerivat toimet kui kuiv kuum õhk avaldab vee-auruga küllastatud kuum õhk. Mida rohkem on õhk vee-auruga küllastatud, seda suurem on tema desinfitseeriv toime.

Auruga desinfitseerimise võtsid tarvitusele R. KOCH ja tema õpilased. Auru tarvitatakse kahel viisil: 1) voolav aur, mis tekib vee keemisel üheatmosfäärilise rõhu all hermeetiliselt mitte kindlates kateldes (Kochi katel); 2) aur, mis saadakse kindlates kateldes (autoklaavis) vähema või suurema õhurõhu all ehk nõndanimetatud pinge-aur. Mida suurem on küllastatud auru pinge, seda suurem tema desinfitseeriv toime. Ühes pinge suurenemisega tõuseb ka auru temperatuur. Näiteks on küllastatud üheatmosfääriline aur 100° C. kuum, 1,5-atmosf. 111,7° C., 2-atmosf. 120,6° C., 3-atmosf. 133,9° C. ja 4-atmosf. 144,0° C. (ZEUNER).

Vee-auru desinfitseerivat toimet seletatakse sellega, et ta esile kutsub mikroobide ja eoste membraanide paisumist või tursumist, mille tõttu kuumus protoplasmat kergemini suudab koaguleerida.

Kuuma küllastatud auruga desinfitseerimist toimetatakse mitmekesiste selleks konstrueeritud aparaatide abil.

Väga mitmekesised keemilised substantsid takistavad mikroorganismide kasvu ja surmavad neid lühema või pikema aja jooksul.

Desinfektsioonipraktikas leiavad nendest substantsidest tarvitust ainult niisugused, mis vastavad desinfektsiooninõuetele. Siinkohal olgu lühidalt ära tähendatud ainult need ained, mis juba üldist tarvitust on leidnud. Nendest kuulub osa anorgaaniliste, teine osa orgaaniliste keemiliste ühendite hulka.

Silmapaistev on raskete metallide kergesti lahustuvate soolade desinfitseeriv toime mikroobide peale. Sublimaat ($HgCl_2$) on laialt tuntud desinfektsioonivahend. Ta surmab lahjendatult 1 : 1000 mikroobide vegetatiivsed vormid mõne minuti jooksul. NaCl juurdelisamine (NaCl + $HgCl_2$ ää.) sublimaadile suurendab tema lahustumist ja takistab elavhõbeda-albuminaatide tekkimist valku sisaldavais vedelikes. Üleliigne NaCl juurdelisamine takistab sublimaadi desinfitseerivat toimet, mis KRÖNIG'i ja PAUL'i arvates oleneb Hg ioonide dissotsiatsiooni kahanemisest. Sublimaat rikub metallist objekte ja ärritab nahka; seepärast tarvitatakse desinfektsiooniks mitmekesiseid teisi Hg preparaate: sublamiini, hydrarg. oxycyanatum'it jne.

Kõige odavam ja kättesaadavam desinfektsioonivahend on lubi, mida tarvitatakse lubjapiima näol. Selle valmistamiseks võetakse kustutamata lupja ja lisatakse juurde sama võrra vett, mille järel lubi peeneks pulbriks muutub. 1 liitrile saadud pulbrile lisatakse juurde 3 liitrit vett ja segatakse enne tarvitamist hoolega segi. Lubjapiima võib ka juba varemini kustutatud lubjast valmistada (1 liiter lupja + 3 liitrit vett).

Suuremat desinfitseerivat toimet kui lubjapiim avaldab kloorlubjapiim. Selle valmistamiseks lisandatakse 1 liitrile kloorlubjale pikkamisi kuni 5 liitrit vett ja segatakse hoolega segi. Teda peab valmistama iga kord tarvitamise eel (ex tempore). Kloorlubja-piima puuduseks võiks pidada tema vastikut lõhna, mis oleneb vabanevast kloorist.

Kuum (2%) soodalahus (üle 60° C.) on väga hea söögiriistade ja kirurgiliste instrumentide desinfitseerimiseks.

Head desinfitseerivat toimet avaldavad kõik need substantsid, mis on oksüdeeriva omadusega: kal. hypermangan., kloor, jood, broom, ozoon, H_2O_2 jne. Nende ainete nõrgad veelahused avaldavad suurt desinfitseerivat toimet: 0,03% kloorivesi ja 0,05% Lugoli lahus surmavad b. anthracis'e eosed mõne minuti jooksul. Antiformiin (NaOH + Natr. hypochlorosum) sulatab kiiresti enamuse mikroobide vegetatiivsed vormid, kuid ei sulata kergesti tuberkuloosibatsille ja mikroobide eoseid.

Orgaanilistest ühenditest on tuntud paljud desinfektsioonivahendid. Nimetame siin etüülalkoholi, mis 50% veelahuses suuremat desinfitseerivat toimet avaldab kui alkohol absolutus. Suure desinfitseeriva toimega on keev 50% alkohol ja seebipiiritus. Kloroform takistab mikroobide kasvu ja avaldab desinfitseerivat toimet. Teda tarvitatakse peaasjalikult laboratooriumides orgaaniliste ainete ning söötmete desinfitseerimiseks ja konserveerimiseks.

Formaldehüüd CH_2O (on tuntud 40% veelahusena formaliini nime all) takistab juba nõrkade veelahustena (1 : 5000 — 1 : 20 000) mikroobide kasvu. 1% veelahused leiavad tarvitust pesu, riistade jne. desinfitseerimisel. Et aga üldse nende lahuste desinfitseeriv toime

võrdlemisi väike on, siis ei tarvitata neid harilikult praktilise desinfektsiooni puhul.

Gaasi näol on formaldehüüdil suur desinfitseeriv toime ja teda tarvitatakse peaasjalikult ruumide desinfitseerimiseks. Silmas pidades, et formaldehüüdi-gaasil ei ole sügavat toimivust desinfitseeritava objekti peale, siis kombineeris v. ESMARCH katlad, kust enne õhk kuni teatava rõhuni evakueeritakse ja selle järel vee-aur ja formaliinigaas sisse lastakse. Seesuguses ruumis avaldab vee-auru ja formaliinigaasi segu suurt desinfitseerivat toimet ja ei riku desinfitseeritavaid objekte.

Tähtsat osa etendavad desinfektsioonipraktikas fenool (karboolhape C_6H_5OH) ja selle derivaadid. 3—5% karboolhape surmab kiiresti mikroobide vegetatiivsed vormid. Eoste peale ei avalda ka kontsentreeritud karboolhape silmapaistvat surmavat toimet. Praktilise desinfektsiooni tarvis on karboolhape väga kohane, sest tema toime ei kahanda desinfitseeritavas aines (rögas, ekskrementides, uriinis, mädas jne.) viibivaid soolasid ega valkusid.

Nõndanimetatud «toores karboolhappes» leiduvad mitmekesised kresoolid, millede desinfitseeriv toime on suurem fenooli omast. FRAENKEL liitis kresoolid väävelhappega ja sai fenoolsulfohapped (müügil tuntud: kreoliin Artmann, aseptool, sanatool, hügienool), millede desinfitseeriv omadus on suurem kui kresoolide ja väävelhappe oma. Kresoole võib vees lahustuvaks teha ja emulgeerida alkaalide või seebi abil. Nendest preparaatidest on tuntud lüsool, mis sisaldab kresoole umbes 50% (1 osa trikresooli + 1 osa neutraalset linaõlikaali-seepi). Uuemal ajal valmistatakse mitmekesiseid fenoolipreparaate sel teel, et halogeenid Cl ja Br kresoolidega liidetakse: phobrol, grotan ja sagrotan. Kresoolide segu mineraalõlidega (petrooleumiga) nimetatakse saprooliks. Seda tarvitatakse peaasjalikult vinavate (pahasti lõhnavate) ainete desodoriseerimiseks. Heade tagajärgedega võib saprooli tarvitada väljakäigu-kohtade desinfitseerimiseks. Saprool on kergem kui väljaheite-massid ja ujub seepärast nende pinnal, kujutades kihti, mis vina (paha lõhna) levimist takistab. Peale selle diffundeerivad saproolis viibivad kresoolid ekskrementide massi ja desinfitseerivad seda.

Peale ülaltähendatud fenooliderivaatide valmistatakse veel mitmesugused segud karboolhappest, seebist, väävelhappest jne., mis veelahustena desinfektsioonipraktikas laialiselt tarvitust on leidnud.

Vaatamata hulga katsete peale ei ole veel leitud head meetodit käte (naha) desinfitseerimiseks. Sügavale sarvnaha sisse tunginud mikroobid on kaitstud desinfitseeriva vahendi toime eest, sest rasvaga läbi-imbunud sarvnaha-kiht ei lase desinfitseerivat ainet sügavale tungida. Kui me laseme praegusel ajal tarvitusel olevate meetodite abil (alkohol, sol. sublimati, lüsoolilahus jne.) hästi desinfitseeritud kätt higitseda kinnises soojas kastis või kummikindas, siis tõusevad sügavamal nahas asuvad mikroobid nahapinnale. Bakterioloogiline kontroll on tõestanud, et seesugune higi ei ole pea kunagi steriilne. Kui me desinfitseerime käenahka ainega, mis seda kalestab või pargib, siis on mikroobid küll fikseeritud sügaval nahakihis ja ei

pääse kergesti pinnale, kuid nad ei ole kaugeltki veel surnud. Ülaltähendatud asjaolu silmas pidades on raske saavutada absoluutset naha desinfektsiooni, mis nii soovitav on kirurgiliste operatsioonide puhul. Sellega oleks õigustatud ka nõue, et kirurgid operatsioonide korral tarvitaksid steriliseeritud kindaid.

Desinfektsiooni abil saavutatud resultaadid ei olene ainult ühe või teise vahendi desinfitseerivatest omadustest, vaid nad olenevad suurel määral sellest, kuidas desinfektsiooni toimetatakse. Samuti on suure tähtsusega desinfektsiooniaparaatide ja -asutuste konstruktsioon ning vilunud desinfektorite kaasabi. Et desinfektsioon suudaks täita oma ülesannet täies ulatuses epideemiate vastu võitlemises, selleks on tarvilik välja töötada praktilise desinfektsiooni üldine korraldus ja see maksma panna seadusandlikul teel, nii kui see juba paljudes kultuurriikides tarvitusel on.

Üldine mikrobioloogiline tehnika ja metoodika.

Tutvumine mikrobioloogilise tehnika printsiipidega on kindlustuseks, et praktilistel uurimustel saavutatud resultaadid on täpsad ja vastavad teaduslistele nõuetele. Kes tahab mikrobioloogia alal korralikult töötada, see peab harjuma täpsalt tarvitama ka neid tehnilisi võtteid, mis paistavad iseenesest lihtsad olevat. Sagedasti võib juba kõige lihtsama liigutuse põhjal oletada, mäherduse arusaamisega töötab isik mikrobioloogia alal. Mikrobioloogilise tehnika äraõppimine ei ole raske, kui seda katsutakse omandada kavakindlalt, alates kõige lihtsamaga ja minnes keerulisemate ülesannete juurde ainult siis, kui lihtsaks tööks on juba küllalt osavust. Korduv harjutamine on mikrobioloogilise tehnika omandamiseks üks tähtsamaist ülesandeist.

Mikrobioloogiliste tööde kord.

Bakterioloogilisi töid tehes peab alati silmas pidama allpooltähendatud üldiste nõuete täitmist.

Ruum bakterioloogiliseks tööks (laboratoorium) peab võimalikult eraldatud olema teistest ruumidest. Bakterioloogilise laboratooriumi sissesead peab olema otstarbekohane ja lihtne, et võimalus oleks selle tolmust puhastamiseks ja tarbekorral lihtsate abinõudega desinfitseerimiseks. Kõike, mida läheb tarvis jooksvaks tööks, peab laboratooriumis alatasa tarvilisel hulgal käepärast olema, kuna tagavarade tarvis peab olema eraldiruum.

Võõrastel peab liikumine laboratooriumis võimalikult piiratud olema. Laboratooriumiruumis ei tohi olla kärbseid ega teisi putukaid. Patogeensete mikroobide kultuurid ja infitseeritud ained peavad seisma luku taga. Nende väljaviimine laboratooriumist on keelatud. Patogeensete mikroobide kultuure võib välja anda ainult asjatundjaile allkirja vastu.

Infitseeritud vett ja teisi aineid ei tohi mingil tingimusel välja valada enne põhjalikku desinfitseerimist. Juhuslikult või eksikombel infitseeritud ruumi, laudu ja teisi objekte peab silmapilkselt desinfitseerima.

Laboratooriumi teenijad peavad oskama infitseeritud aineid ja objekte iseseisvalt desinfitseerida. Neid peab iga kord hoiatama, kui neile antakse pesta infitseeritud nõud ja hävitada infitseeritud materjali.

Infitseeritud katseloomad peavad täielikult eraldatud olema tervetest. Neid ei tohi tuua laboratooriumiruumi; nendega töötamiseks olgu eraldi ruum, nende korjused peab viibimata ära põletama.

Kui alatakse infitseeritud materjali uurimist, siis peab enne käepärast seadma kõik tarvilikud asjad ja abinõud, mida selle juures tarvis läheb, et neid töö-ajal tarvis ei oleks otsida. Infitseeritud materjaliga töötades peab piinlikult selle järele valvama, et mikroobid ümbrusse ei leviks. Töö juures peab alati käepärast olema vastav desinfektsiooni-abinõu.

Töötajad bakterioloogialaboratooriumis peavad kandma töö juures operatsioonimantlit. Kunagi ei tohi prooviklaase kultuuriga mantli rinnataskusse panna, kust nad kummardamise puhul maha võivad kukkuda. Väga hädaohtliku materjaliga töötades peab kummipõlle kandma. Infitseeritud põlle ja mantlit peab viibimata desinfitseerima. Kahtlastel kordadel peab enne laboratooriumist lahkumist saapatallad lüsoolilahuses märjaks tehtud lapi peal puhtaks hõõruma.

Käsi peab iga kord kohe pärast infitseeritud materjaliga töötamise lõppu desinfitseerima. Juhusliku kokkupuutumise korral töö ajal peab käsi kohe desinfitseerima. Lahtiseid haavu käenahal peab enne töö algust kolloodiumiga kinni kleepima ehk kinni siduma. Laboratooriumis on käe-andmine keelatud.

Infitseeritud vedelikke ei tohi suuga imeda pipettidesse; selleks tarvitatakse kummiballoonikest pipeti otsas. Pipeti ülemisse otsa mahutatakse kaitseks tükk puuvilla. Juhtub aga, et infitseeritud vedelik eksikombel suhu pääseb, siis peab see välja sülitatama, võimaluse korral õuna näritama ja kohe välja sülitatama. Suud peab loputama lahjendatud alkoholiga, 0,5—1% soolhappega või lahjendatud perhüdrooliga. Sublimaadilahus ei ole selleks kõlvuline, sest ta ärritab suu limanahka ja kergendab infektsiooni. Sülge ei tohi alla neelata.

Söömine ja joomine laboratooriumis on keelatud. Sõrmi ja etikette ei tohi keelega niisutada. Samuti peab hoiduma infitseeritud kätega taskurätikut ja ukse käeraudu puutumast.

Laboratooriumis ei tohi suitsutada; see on mustuse allikaks ja hädaohtlik töötajale. Kes omale suitsutamist siiski lubab, see peab valvama, et suhu võetav paberossi või sigari ots kokku ei puutuks infitseeritud objektidega.

Tule peal fikseerimine ja värvimine ei tapa kõiki mikroobe, liiatigi nende eoseid. Preparaate, mida ei soovita alal hoida, peab keetmise teel või keemiliste lahustega desinfitseerima. Preparaatide loputamise vett peab desinfitseerima enne väljavalamist.

Puutub mikroskoobi objektiiv kokku värvitud preparaadiga, siis võivad eluvõimelised mikroobid selle külge jääda, mida peab vastavalt puhastama.

Patogeensete mikroobide kultuure ja infitseeritud materjali, mida enam tarvis ei ole uurimiseks, peab steriliseerima autoklaavis ehk Kochi katlas kauema aja jooksul. Desinfitseerivate lahuste toimet ei jätku sagedasti nende desinfitseerimiseks.

Kõiki infitseeritud objekte (käärid, pintsetid, noad, plaatinanõelad jne.) peab kohe steriliseerima; mustalt ei tohi neid seisma jätta. Väärtuseta infitseeritud materjal, nii kui paber, puuvill jne., peab ära põletatama.

Puhtus ja kord on peatingimused bakterioloogiliste tööde juures. Midagi ei tohi põrandale visata: paberitükke, paberossiotse, põlenud tikke jne. Teise töötaja koha pealt ei tohi ilma loata midagi võtta. Saprofüütidega töötades peab niisama puhtuse eest hoolitsema kui patogeensete mikroobidega, mis väga kasulik on korraliku tööga harjumiseks. Peale selle ei tohi laboratooriumiruumi infitseerida saprofüütidega (hallitusseened ja eostega bakterid), mis steriilselt töötamist takistab ja sagedasti võimatuks teeb.

Töölaud peab puhas hoitama; sinna peale ei tohi koguda üleliigseid objekte ja kraami. Bakterioloogiliste tööde juures peab alati meeles pidama: oled mingit asja oma tööks tarvitanud, siis pead selle kohe, kui teda enam tarvis ei ole, puhtalt ta kohale tagasi panema.

Mikroskoop ja selle tarvitamine.

Mikrobioloogilisteks töödeks peab olema sünnis mikroskoop. Mikroskoobi ostmise korral peab loobuma kokkuhoidlikkusest, sest see on aparaat, mida sagedasti eluajaks jätkub ja millest oleneb niihästi töö kiirus kui ka saadud resultaatide väärtus. Mikroskoobi muretsemise puhuks oleks soovitav abiks võtta asjatundjat, kes üksikasjaliste peenuste üle kiire proovimise abil suudab otsustada.

Mikroskoobiõpetus (mikroloogia) asub uuemal ajal nii laial alusel, et meil siinkohal võimatu on harutada üksikasjaliselt kõiki küsimusi. Siin olgu ainult lühidalt tähendatud nende iseärasuste peale, mida silmas tuleks pidada bakterioloogilisteks uurimusteks tarvitatava mikroskoobi suhtes. (Vt. 38. joon. lhk. 218.)

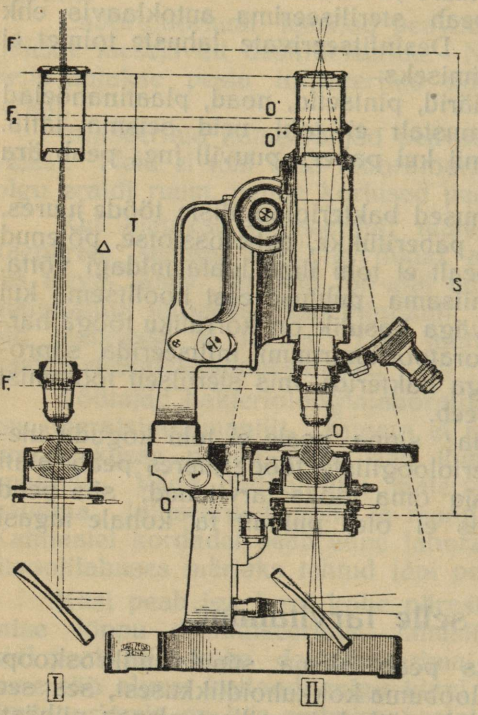
Mikroskoop jaguneb kolme peaossa: 1) mehaaniline osa (statiiv), 2) optiline süsteem ja 3) valgustuseaparaat.

Statiiv seisab koos järgmistest osadest:

1. Jalg. Mikrobioloogiliseks otstarbeks tarvitatava mikroskoobi jalg peab liigendi abil ühendatud olema ülemise osaga, nii et võimalik oleks viimast tahapoole längu painutada ja seda soovitavas olekus kinnitada. Jalg peab nii raske olema, et tahapoole längu painutatud osa mikroskoopi ümber ei kaaluks.

2. Objekti- ehk esemelaud, mis nii suur peab olema, et selle peale mahuks harilik Petri kauss, mille diameeter on 8—9 sm. Laua keskel on ümmarik auk valgustuseaparaadi tarvis. Liikuv objektilaud

on tarvilik, sest ta võimaldab preparaadi ühtlast liigutamist ja kergendab märksa uurimist. Objektilaud liigub kahe laua kõrval oleva kruvi abil. Objektilauda peab võimalik olema käänamise teel ringi liigutada. Parematel mikroskoopidel on lisaks veel isesugune ristlaud, mis objektilaua peale kinnitatakse ja kahe kruvi abil liigub. Peale selle on ristlaual kaks nooniusega numbrilauda (skaalat). Seesugune laud võimaldab kogu preparaadi uurimist ja soovitava koha ülesleidmist. Elusate mikroobide uurimiseks konstrueeritakse soendatavad objektilauad.



38. joon. Mikroskoop (Zeiss). Valgusekiirte käik mikroskoobis.

Preparaat kinnitatakse objektilaua külge kahe näpitsaga. Objektilaua ja kiikri (tuubus) vahe peab küllalt suur olema, et mikroskoobi alla mahuksid kultuuriga Petri kausid ja teised paksemad esemed.

3. Kiiker (tuubus), mille külge on kinnitatud optiline süsteem. Tuubus on kinnitatud tuubusekandja külge ja ta liigub kahe kruvi abil: 1) makromeetrilise kruvi abil võib tuubust kiiresti alla ja üles liigutada; 2) mikromeetriline kruvi, mille abil toimetatakse tuubuse täpsamat paigaleseadmist. Mõnedel mikroskoopidel on niisugune tuubusekandja, mis tuubust lubab vedru abil vähe üles tõusta, kui objektiiv ettevaatamatult vastu preparaati litsutakse.

Mikromeetriline kruvi on uuematel mikroskoopidel tuubusekandja külje peal, vanematel aga tuubusekandja otsas. Viimasel korral ei ole soovitav mikroskoopi ühelt kohalt teisele tõstes tuubusekandjast kinni võtta, mille tõttu koormuks tundlik keerdvedru. Uuematel mikroskoopidel on tuubusekandja nii ehitatud, et temast oleks hea kinni võtta mikroskoobi tõstmise korral ja et tuubusekandja keerd vedru ei koormuks asjata.

Tuubus seisab koos kahest teineteise sisse libisevast torust. Ülemine väljatõmmatav toru on millimeetriteks jagatud. Seda osa peab uurimise ajal ainult teatava jagamisjooneni välja tõmbama; näiteks Zeiss'i mikroskoobil 160 mm, Leitz'i omal 170 mm. Tõstame toru rohkem välja, siis kasvab küll suurendus, kuid pilt läheb tumedamaks. Neist arvudest peab harilikult maha arvatama objektiivikandja paksus: Leitz'i mikroskoopidel 18 mm, Zeiss'i omadel 15 mm. Sellega peaks

selge pildi saamiseks Leitz'i mikroskoobi toru tõstma 170—18=152 mm peale ja Zeiss'i oma 160—15=145 mm peale.

Tuubuse alumise otsa külge on kinnitatud objektiivivihoidja — revolver. Revolvri abil on võimalik objektiive kiiresti vahetada. Revolvrid on kahe, kolme ja nelja objektiivi tarvis. Mõnest küljest on parem nõndanimetatud saan-objektiivi vahetaja, kuid sellega ei ole võimalik vahetust nii kiiresti toimetada kui revolvriga.

Optiline süsteem (suurendusaparaat) seisab koos objektiivist ja okulaarist.

Objektiivid on kahte liiki: 1) kuivad süsteemid ja 2) õli-immersiooni süsteemid. Kuivad süsteemid ei puutu kokku uurimise puhul preparaadiga, vaid neid lahutab viimasest õhukiht. Õliimmersiooni süsteemi puhul täidetakse seda õhukihti niisuguse ollusega, mille valgusekiirte murdumise koeffitsient oleks ligikaudu sarnane klaasi koeffitsiendiga (ol. ligni cedri). Selle abil saavutatakse valgusekiirte paremat koondumist ja võimaldatakse preparaadi valgustamise suurenemist. Immersioonivedelikuna tarvitati varemini vett, mille murdumiskoeffitsient (1) on märksa vähem klaasi omast (1,52). Praegusel ajal on tarvitusel 1850. a. STEPHENSON'i ja AMICI poolt soovitatud ol. ligni cedri, mille murdumiskoeffitsient on 1,51. Optilise süsteemi läätsed peavad olema aplanaatsed, kus on kõrvaldatud sfääriline ja kromaatiline aberratsioon. Objektiivide väärtust tõstis märksa ABBÉ poolt endise akromaatilise süsteemi asemele tarvitusele võetud apokromaatiline läätsede süsteem. Tema lisandas klaasimassile selle valmistamise puhul boori, fosforit, baariumi või fluori ja sai sel teel klaasi, millest valmistatud süsteemidel on sfääriline ja kromaatiline aberratsioon kas täielikult või osaliselt kõrvaldatud. Apokromaatiline süsteem võimaldab mikroskoobilise pildi ühtlast selgust. Hariliku töö juures tarvitatakse akromaatilisi süsteeme, mis on märksa odavamad ja püsivamad kui apokromaatilised süsteemid. Mikrofotograafilisteks töödeks ja täpsamaiks uurimisiks on apokromaatilised süsteemid väga tarvilikud.

Objektiivi suurendus oleneb tema fookuse kaugusest: mida väiksem fookuse kaugus, seda rohkem suurendab objektiiv (suur suurendus 1,5—3 mm, keskmiselt suur suurendus 3—5 mm, keskmine suurendus 5—12 mm, nõrk suurendus 12—25 mm). Fookuse kaugus on objektiivi ümbriku peale kas millimeetrites või tollides märgitud ($^1/_{10}$ tolli = = 2,8—3 mm, $^1/_{12}$ t. = 1,8 — 2 mm, $^1/_{16}$ t. = 1,6 mm, $^1/_6$ t. = 4 mm). Leitz'i, Reichart'i ja prantsuse mikroskoopide objektiivid kannavad numbreid: 2, 3, 6, 7, 8, 9 kuivad süsteemid ja $^1/_{12}$, $^1/_{18}$ immersiooni-süsteemid. Zeiss'i kuivad süsteemid kannavad tähti AA, DD, E ja õli-immersioon $^1/_{12}$ t. 2 mm, 4 mm jne.

Seda nurka, mille moodustavad äärmised kiired, mis objekti ühest ja samast punktist välja tulevad ja objektiivist läbi minnes vaatleja silma pääsevad, nimetatakse objektiivi apertuurinurgaks, mis vähem on kui 180°. Mikroskoobi töövõime oleneb apertuurinurgast ja numbrilisest apertuurist. Numbrilise apertuuri saame, kui korrutame preparaadi ja objektiivi vahel viibiva keskkonna murdumiskoeffitsienti $^1/_2$ apertuurinurga siinusega: numbr. apert. = n × sin. ∟ u, mis tähendab poolt apertuurinurka, on vähem kui 90°, seega on ka sin. ∟ u

vähem kui 1. Viibib preparaadi ja objektiivi vahel õhk, mille murdumiskoeffitsient = 1, siis ei ole objektiivi numbriline apertuur 1-st kunagi suurem. Kõige suurema apertuurinurgaga objektiivi numbrilist apertuuri võib sel teel suurendada, et me preparaadi ja objektiivi vahel keskkonna loome, mille murdumiskoeffitsient on suurem õhu omast (ol. lig. cedri n = 1,51). Seesugust süsteemi nimetatakse homogeenseks, sest siin on kateklaasi, immersiooni keskkonna ja läätse murdumiskoeffitsiendid ligikaudu ühesugused.

Mikroskoobilise pildi selgus ja teravus olenevad märksa kateklaasi paksusest. Seda tuleb iseäranis silmas pidada kuivade süsteemidega ja veeimmersiooni-süsteemiga töötades. Need objektiivid on harilikult kateklaasi teatava paksuse (0,16—0,18 mm) tarvis korrigeeritud, mis on objektiivi ümbriku peal ära tähendatud. Kui vaatame preparaati ilma kateklaasita, või on kateklaas paksem või õhem kui tarvis, siis võib puudust teatava piirini korrigeerida tuubust välja tõmmates või sissepoole lükates ja nimelt: õhukese kateklaasi tarvis peab tuubust väljapoole tõmbama, paksu tarvis sissepoole tõukama, nii et pilt kõige selgem oleks.

Veel parem on korrigeerida kateklaasi paksuse mõju nõndanimetatud korrektsiooniobjektiiviga. Säärase objektiivi ümbrik koostub kahest osast: alumine osa kannab kaht esimest läätse, ülemine osa kannab tagumisi läätsi. Viimane osa liigub edasi-tagasi kruvi abil, mida rõngaga võib pöörata. Rõngast pöörates võib muuta vahet esimeste ja tagumiste läätsede vahel. Rõnga peal on ära tähendatud kateklaasi paksus.

Bakterioloogilisteks uurimisteks tarvitatakse harilikult Huygens'i akromaatilisi okulaare. Okulaaridelt ei või nõuda väga suurt suurendust, sest kõvad okulaarid vähendavad pildi selgust ja teravust. Apokromaatilise süsteemiga okulaarid on paremad ja kompenseerivad neid puudusi, mis akromaatidel ilmsiks tulevad. Soovitakse kõva okulaari tarvitada, siis peab võtma apokromaatilised kompensatsiooni-okulaarid. Okulaarid on märgitud numbritega (2, 3, 4, 5, 8, 12, 18), mis nende kõvadust näitavad.

Mikroskoobi suurendusejõu arvutamiseks peab objektiivi suurendust korrutama okulaari suurendusega. Okulaari suurenduse saame, kui jagame selge nägemise kauguse (250 m) okulaari fookuse kaugusega. Objektiivi suurenduse saamiseks peab tuubuse mehaanilist pikkust (160 mm) jagama objektiivi fookuse kaugusega. Sellega oleks mikroskoobi üldine suurendus:

$$V = \frac{160}{Fo\ b} \times \frac{250}{Fo\ k}$$

(Fo b—objektiivi fookuse kaugus, Fo k—okulaari fookuse kaugus. Näiteks on Fo b = 1,5 mm, Fo k = 20 mm, siis suurendab süsteem:

$$V = \frac{160}{1{,}5} \times \frac{250}{20} = 1333 \text{ korda.}$$

Bakterioloogilisteks uurimisteks tarvitatav mikroskoop peab varustatud olema ABBÉ valgustusaparaadiga. See seisab koos peeglist, kondensorist ja diafragmast.

Peegel on kahe küljega: tasapeegel ja nõguspeegel. Abbé valgustusaparaadiga töötades tarvitatakse pea alati tasapeeglit. Kui töötatakse aga ilma Abbé aparaadita, siis tarvitatakse väikeste suurenduste puhul tasapeeglit, suuremate suurenduste korral nõguspeeglit.

Diafragma ehitus on väga mitmekesine. Lihtsad diafragmad mahutatakse kas eseme- ehk objektilaua auku või nad on kinnitatud esemelaua külge. Sündsam on iirisdiafragma, mis on metallehekestest ehitatud. Nende lehekeste abil võib diafragmat soovi järele laiendada ja koondada. Kitsast diafragmat tarvitatakse harilikult värvimata esemete uurimiseks, kuna värvitud preparaate lahtise diafragmaga uuritakse.

Immersiooniobjektiiviga uurimiseks on tarvilik preparaadi intensiivne valgustus, mida Abbé kondensori abil saavutatakse. Kondensor seisab koos läätsestikust, mis peeglist peegeldatud kiiri nii koondab, et nad 2 mm ülevalpool esemelauda ühinevad. Kondensor mahutatakse esemelaua alla sellekohase ümbriku sisse.

Valgustusaparaati võib hammasratta abil alla lasta ja üles tõsta. Kondensorit võib ühes tema kandjaga (paremate mikroskoopidel) kõrvale pöörata; samuti võib seda osa, mis diafragmat kannab, eraldi kõrvale pöörata. Kui tahetakse värvimata eseme struktuuripilti saada, siis peab kondensor alla lastama või iirisdiafragmat koondatama. Värvitud preparaate peab lahtise diafragma ja ülestõstetud kondensori abil vaatama; siis kaovad varjud suure valgustuse tõttu ära ja me näeme selgesti värvitud eseme osasid (värvipilt).

Mikroskoobilise uurimise eel peab kontrollima preparaadi valgustust. Selleks võetakse pärast mikroskoobi ligikaudset paigaleseadmist okulaar tuubusest välja ja vaadatakse tuubuse lahtise otsa kaudu, kas valgustus on ühtlane, õige ja küllalt hele. Vigu võib kondensori ja peegli liigutuse abil parandada. On valgustus korras, siis mahutatakse okulaar tuubusesse ja alatakse uurimist.

Valguseallikana tarvitatakse mikroskopeerimise puhul hajusat (dispergeeritud) päevavalgust või jälle kunstlikku valgust. Kõige parem on selleks valgus ühtlase pilvituse ajal, vähem sünnis on selge taevas. Väga sünnis on akende vastas oleva maja valgelt seinalt peegelduv valgus. Otsene päikesevalgus ei ole kõlvuline; seda peab läbi valge eesriide laskma.

Väga hea tagajärjega võib mikroskopeerimiseks tarvitada kunstlikku valgust: Aueri gaasilampi, elektrilampi, petrooleumilampi, atsetüleenilampi, elektrikaarlampi, liliputt-looklampi jne. Kui valgus on liiga hele, siis mahutatakse kondensori alla vastava hoidja sisse või diafragma hoidja peale värviline või valge mattklaasist ratas. Petrooleumilambi valguse suurendamiseks mahutatakse mikroskoobi ja lambi vahele kumer lääts või harilik kingsepa-kuul, mis sisaldab hästi lahjendatud cuprum sulfuric. ja ammoniaagi lahust või jälle lahjendatud metüleensinise lahust.

Kunstliku valguse puhul tarvitatakse peaasjalikult nõguspeeglit, päevavalguse puhul tasapeeglit.

Mikrobioloogiliste tööde juures leiavad tarvitust veel mitmesugused tehnilised aparaadid, milledega hea mikroskoop peab varustatud olema.

Soendatav esemelaud, mis võimaldab mikroobide uurimist soovitaval temperatuuril. Lauda soendatakse kas tule, sooja vee või elektri abil. Peale selle tarvitatakse veel nõndanimetatud mikroskooptermostaati, kus mikroskoop mahutatakse termostaadi sarnase ümbriku sisse. Eelmiste abinõudega on võimalik uurida elusaid mikroobe kauema aja jooksul.

Joonistusaparaat, mis prisma või peeglite abil pildi okulaarist paberi peale juhib ja seal nähtavaks teeb.

Okulaar- ja objektiivmikromeeter, millede abil võib mikroobide ja teiste uuritavate esemete suurust preparaadis mõõta.

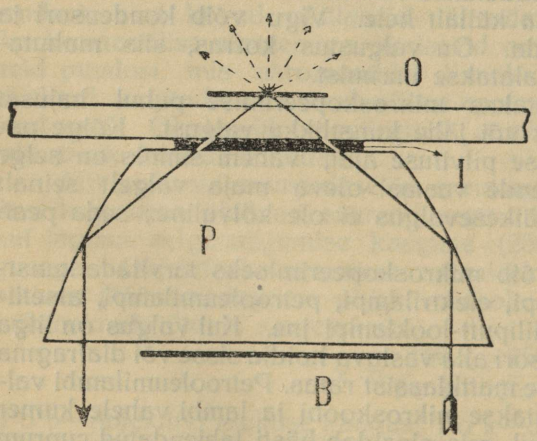
Lugemisvõrguga okulaar, mille abil võib lugeda tihedalt preparaadi peal asuvaid mikroobe ja verepreparaadis erütrotsüüte. Selleks mahutatakse okulaari sisse ühtlaselt ruutudesse jagatud klaasratas, või ruutudeks jaotus on kriimustatud okulaari läätse peale. Ruutude suurust võib objektiivmikromeetri abil iga süsteemi tarvis kindlaks määrata.

Okulaari läätsede vahele mahutatakse sagedasti liikuv näitaja, mille otsaga võib soovitavat kohta preparaadis demonstreerimiseks fikseerida.

Isesuguse ehitusega on statiivid mikrofotograafia tarvis ja binokulaarsed statiivid mõlema silmaga vaatamiseks.

Kõige väiksemate (alla 0,12 μ), samuti ka suuremate mikroobide (iseäranis spiroheetide) uurimiseks tarvitatakse ultramikroskoopi ja pimeda vaatevälja valgustamist.

Igaühele on tuntud Tyndall'i fenomen: kui pimedasse ruumi pääseb läbi väikese augu päikesekiir, siis võib näha õhus hõljuvaid tolmuosakesi, mida harilikul valgustusel ei ole näha. Tolmuosakesed murravad valgusekiiri ja juhivad neid vaatleja silma, mille tõttu neid võimalik on näha.



39. joon. Kiirte käik paraboloidkondensoris.

Ultramikroskoobi printsiip põhjeneb selle peal, et siin on valgustatud ainult uuritav objekt, ja kõik see, mis viibib objekti ümber, on valgustamata ja pime (39. joon.).

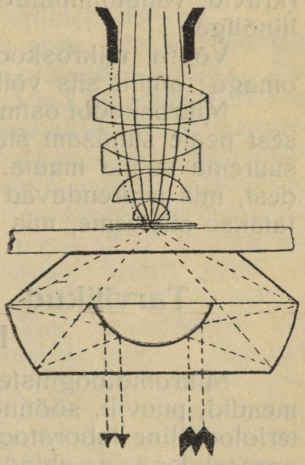
Ultramikroskoobiliste aparaatide ülesandeks on valgustada preparaadil viibivaid mikroobe ja teisi vormilisi elemente, jättes valgustamata vaatevälja. Nende aparaatidega uurimise puhul pääsevad vaatleja silma ainult need valgusekiired, mis murduvad mikroskoobilises objektis (mikroobid, rakud, aineosakesed jne.). Selleks otstarbeks tarvitatakse uuemal ajal mitmesuguseid paraboloid-kondenso-

reid ja peegelkondensoreid, mis Abbé hariliku kondensori asemele (Leitz, Stiassnie ja teised firmad) või esemelaua peale kinnitatakse (Zeiss, Reichert, Stiassnie). Kondensoritega uurimiseks on tarvilik õige intensiivne valgus. Selleks tarvitatakse kas Nernsti elektrilampi või liliputt-kaarlampi. Uurimiseks peab tarvitama lahtist diafragmat ja tasapeeglit. Esemeklaasi ja kateklaasi paksus on mõne äri poolt valmistatud kondensori peal ära tähendatud (40. joon.).

Preparaadi uurimise puhul mahutatakse objektiklaasi alumise ja kondensori ülemise pinna, samuti ka immersiooniobjektiivi ja kateklaasi vahele tilk ol. lign. cedri. Kuivade süsteemidega uurimise puhul ei panda õli objektiivi ja kateklaasi vahele.

Uuritav preparaat peab olema hästi õhuke ja ilma õhumullideta.

Kondensorid on nii ehitatud, et nende tsentraalsest osast kiirte läbipääsmist takistab ümmarik must ratas või jälle kumer peegel. Kondensorisse pääsevad äärmised kiired murduvad ja tungivad läbi preparaadi kuni kateklaasi välimise pinnani, kust nad siis, kui neil tee peal mikroobe ja teisi osakesi ees ei ole, tagasi peegelduvad ja kondensori teisest äärest välja tulevad. Puutuvad aga kiired kokku preparaadis viibivate mikroobidega või teiste osakestega, millede murdumiskoeffitsient läheb lahku klaasi omast, siis murduvad kiired, tungivad objektiivi ja edasi vaatleja silma. Selle tõttu näeme preparaadis olevaid aineosakesi ja mikroobe läikivate punktidena või kujudena pimedal tagaseinal.



40. joon. Kiirte käik peegelkondensoris.

Vaatamata kõigi täienduste peale, mis tehtud ultramikroskoopide juures viimasel ajal, pääseb siiski osa mittesoovitavaid kiiri objektiivi, mis vaatevälja valgustavad ja sellega pildi selgust vähendavad. Et takistada seesuguste kiirte pääsmist objektiivi, varustatakse objektiiv diafragmaga. Selleks konstrueerivad mõned firmad (Leitz, Zeiss) diafragmaga objektiivi, teised (Stiassnie) valmistavad diafragma, mida iga objektiiviga võib tarvitada.

Mikroskoop on õrn aparaat; temaga peab äärmiselt ettevaatlikult ümber käidama. Enne preparaadi mikroskoobi alt äravõtmist peab tuubus üles tõstetama, et läätse vigastamist ära hoida. Immersiooni- õli kuivatatakse läätse küljest iga kord pärast tarvitamist filtreerimispaberi abil ära ja lääts puhastatakse kergelt pehme nahklapiga. Objektiiviläätse vastu ei tohi litsuda. Õliimmersiooni objektiiviläätse võib vabriku poolt äratähendatud vedelikuga puhastada. Läätsede sagedast puhastamisest ksülooliga ja bensiiniga peab hoiduma, sest nad võivad läätse ümbriku kitti sulatada ja objektiivi tuhmiks teha.

Pärast töö lõppu peab mikroskoop kasti või tumedast klaasist kupli alla mahutatama, sest valgus, tolm ja rõskus rikuvad läätsi ja

metall-osasid. Mikroskoopi peab kaitsma külma ja soojuse mõju eest. Keemilised ained ja kerge põrumine vigastavad kiiresti objektiivi ja mikroskoobi teisi osasid.

Objektiive peab hoidma metallist ümbrikkude sees. Jäävad nad revolvri külge, siis peab objektiivi ja Abbé kondensori juhuslikku kokkupuutumist ära hoidma. Et hinge-auruga mikroskoobi osade rikkumist ära hoida, peab mikroskoobi ülemist osa riide tükiga või selle tarvis valmistatud kilbiga töö ajal kinni katma. Liikuvaid osasid (kruvid, väljatõmmatav tuubus jne.) peab vahetevahel määrima vaseliinõliga.

Võõra mikroskoobiga peab niisama ettevaatlikult töötama kui omaga; ainult siis võib harjuda seda aparaati õigesti tarvitama.

Mikroskoobi ostmise puhul oleks iseäranis tarvilik muretseda algusest peale sündsam statiiv, sest optilisi süsteeme võib tarbekorral ilma suurema kuluta muuta. Bakterioloogilisteks töödeks jätkub süsteemidest, mis suurendavad 1000—1500 korda. Erilisteks uurimisteks tarvitatakse süsteeme, mis suurendavad 2000—3000 korda.

Tarvilikud aparaadid ja objektid mikrobioloogiliseks tööks.

Mikrobioloogilisteks töödeks on tarvilikud steriilsed nõud, instrumendid, puuvill, söötmed ja teised objektid; sellepärast peab iga bakterioloogiline laboratoorium varustatud olema vastavate steriliseerimisaparaatidega ja -abinõudega.

Sterilisatsioon.

Mikrobioloogias mõistetakse steriliseerimise all kõikide mikroorganismide ja nende eoste täielikku surmamist. Seda võib saavutada mitmekesiste füüsiliste ja keemiliste faktoritega. Steriliseerimismeetodi valikus peab rõhku panema selle peale, et steriliseerimine ei rikuks steriliseeritavaid esemeid ega muudaks nende omadusi. Seda silmas pidades peab sagedasti iga eseme tarvis individualiseerima steriliseerimismeetodit.

Bakterioloogilises tehnikas tarvitatakse steriliseerimiseks peaasjalikult füsikaalseid faktoreid.

1. Tulega steriliseerimine. Selleks on kõige sündsam piirituselambi või Bunseni gaasilambi tuli. Tulega võib steriliseerida ainult niisuguseid objekte, mida tuli ei rikuks: plaatinast nõelad, niklist ja plaatinast kausikesed, lusikakesed ja labidakesed, klaasist kepikesed, eseme- ja kateklaasid jne. Selle juures peab hoolega valvama, et tules steriliseeritud esemed enne täielikult ära jahtuksid, kui nendega elusaid mikroobe sisaldavat materjali puudutatakse.

2. Kuiva kuumusega steriliseerimine. Kõige sagedamini toimetatakse steriliseerimist kuiva kuuma õhuga selle tarvis valmistatud aparaatide abil. Selleks on kõige sündsamad Pasteuri ahi, Chantemesse ja Poupinel'i kapid, mis kujutavad kahekordsete seintega, asbestiga kaetud plekist kappi. Nende soendamiseks tarvi-

tatakse gaasi; piirituse- või petrooleumilambi tuld. Soovitavat temperatuuri näitab termomeeter, mis kapi laes oleva augu kaudu sisemisse ruumi ulatub.

Täieliku steriliseerimise saavutamiseks peavad objektid viibima kuivas kuumas õhus 30 minuti jooksul 170—180° C. ja 2 tundi 150—160° C. soojuses. Kuumus, mis tõuseb üle 180° C., surmab küll kiiresti kõik mikroobid, kuid seejuures põlevad paber ja puuvill, mille tõttu rikunduvad klaasist nõud.

Seda meetodit tarvitatakse kuivade klaasist ja portselanist nõude, puuvilla, paberi, metallist instrumentide jne. steriliseerimiseks.

Steriliseerimiseks määratud objekte peab enne täielikult puhtaks pesema orgaanilistest ollustest, mis kuumuses võivad söestuda. Siis peab objektid täielikult ära kuivatama, sest märjad klaasnõud lähevad kuumas õhus katki. Enne steriliseerimist kaetakse prooviklaaside, kolbide ja pudelite suu hariliku (mitte hügroskoobilise) puuvillaga, Petri kausid, pipetid, lehtrid, laia avausega nõud, puuvill, nõelad jne. mähitakse hariliku pakkimispaberi sisse. Steriliseerimise puhul ei tohi objektid kokku puutuda kapi seintega (paber ja puuvill karboniseerub). Mingil tingimusel ei tohi tarvitada objekte, millede ümber paber või puuvill-korgid karboniseerusid steriliseerimise puhul, sest puuvilla ja paberi dekompositsiooni järel vabaneb tõrv-ollus, mis sisaldab antiseptilisi aineid. Need võivad takistada mikroobide kasvu. Seesuguseid objekte peab uuesti pesema alkoholi ning veega ja uuesti steriliseerima. Et klaasist objektid kuumuse mõjul katki ei läheks, selleks peab temperatuuri pikkamisi tõstma, ja kapi ust ei tohi steriliseerimise ajal avada, sest külma õhu mõjul puruneb kuum klaas. Steriliseerimise kestusel peab valvama, et temperatuur ei tõuseks üle soovitava kraadi.

Kui steriliseerimine on lõppenud, siis kustutatakse tuli, ja klaasasjad võetakse ahjust välja siis, kui nad on täielikult jahtunud.

Petri kausside ja pipettide tarvis on soovitavad metallist ümbrikud, milledes neid steriliseeritakse ja alal hoitakse.

3. Rõske kuumusega steriliseerimine. Seda toimetatakse kolmel moel: a) keetmine vees või vee-aurus 100° C. kuumuses; b) kuumutamine vee-aurus kõrge rõhu all; c) korduv soendamine alla 100° C. temperatuuris.

a. Keetmine 100° C. temperatuuris. TYNDALL pani tähele, et ühekordse keetmisega ei ole võimalik eoseid (b. subtilis) surmata. Kui aga keetmist korratakse 3 päeva järjest, siis surevad eosed. Tyndall ütles, et eosed, kes jäid ellu pärast esimest keetmist, kasvavad 24—48 tunni jooksul vegetatiivseteks vormideks ja surevad teise või kolmanda keetmise tagajärjel.

Säärast fraktsioneeritud steriliseerimist toimetatakse kas Koch'i aparaadis, mida viimsel ajal mitmeti on modifitseeritud, või jälle autoklaavis, mille auru-äravoolu kraan seesugusel korral lahti jäetakse.

Koch'i aparaat kujutab silindrilist reservuaari. Kaane läbi ulatub termomeeter sisemisse ruumi. Aparaadi põhja (katlasse) valatakse vett, mida põhja alt gaasi või muu tulega soendades keema aetakse, ja voolav kuum aur (100° C.) steriliseerib aparaadis viibivaid objekte.

Kui termomeeter näitab 100° C., siis lastakse kuuma auru mõjuda 30 minuti jooksul. Kui soovitakse steriliseerida aga ühekordse keetmisega, siis peab keetmine kestma 2—3 tundi.

Koch'i aparaadis võib steriliseerida söötmeid: želatiini, piima ja teisi, mis ei kannata steriliseerimist kõrgemas temperatuuris.

Steriliseerimise ajal saavad puuvillast korgid kondensatsiooniveest harilikult märjaks. Seepärast peab korkidega objektid mahutama pärast steriliseerimist mõneks tunniks termostaati kuivama. Ainult kuiv puuvill takistab mikroobide läbipääsmist.

b. Steriliseerimine kuuma auruga kõrge rõhu all. Selle meetodiga steriliseeritakse vett, mikroobide söötmeid, süstlaid (pritsisid), kummist objekte jne. Õhust vabas vee-aurus surevad enamasti kõik mikroobid 115° C. kuumuses 20 minuti jooksul. Mõnede ainete (kartul) steriliseerimiseks peab temperatuuri tõstma kuni 120° C.

Rõhu all vee-auru saamiseks tarvitatakse Chamberlandi autoklaavi, kus rõhumist võib tõsta kuni 3 atmosfäärini (135,1° C.). Autoklaavid on hermeetiliselt kindla kaanega katlad, mis on varustatud manomeetriga ja termomeetriga; soendamiseks tarvitatakse gaasi-, piirituse- või petrooleumilambi tuld.

Autoklaavikatlasse valatakse teatav hulk destilleeritud vett, steriliseeritavad objektid mahutatakse plekist pangega autoklaavi, nii et vesi seisaks vähe allpool pange põhja. Steriliseeritavate nõude suud ei tohi kokku puutuda pange seintega, sest siis tungib nendesse kondensatsioonivesi. Autoklaav kaetakse hermeetiliselt kaanega, avatakse auru-väljavoolu kraan ja veekatelt soendatakse alt. Auru-väljavoolu kraan peab niikaua lahti olema, kui aur hakkab ühtlaselt täie hooga välja voolama. Viimane ettevaatus on tarvilik selleks, et autoklaavist täielikult välja ajada õhku, mis eksitab manomeetri indikatsiooni ja takistab steriliseerimist. Selle järel käänatakse aurukraan kinni, temperatuur tõstetakse 115—120° C., siis vähendatakse tuld ja hoitakse soovitav temperatuur 20—30 minuti jooksul.

Steriliseerimise ajal ei tohi aurukraani äkitselt avada, sest siis tekib tormiline vee keemine, mis objektid märjaks teeb ja puuvillakorgid välja pressib. On steriliseerimisaeg möödas, siis kustutatakse tuli; autoklaav lastakse jahtuda, kuni manomeetri näitaja 0 peale langeb; siis avatakse ettevaatlikult aurukraan ja pärast avatakse autoklaav. Rõskeid objekte kuivatatakse termostaadis.

Silmas pidades, et steriliseerimist toimetavad harilikult abilised ja et termomeeter sagedasti õieti ei näita sisemise ruumi temperatuuri, peab autoklaavi temperatuuri kontrollima. Selleks mahutatakse autoklaavi kas maksimaalne termomeeter või jälle mitmesugused sulavad indikaatorid. Klaastorukese sisse mahutatakse soovitav indikaator, toruke joodetakse otstest kinni ja paigutatakse autoklaavi steriliseeritavate objektide vahele.

Indikaatoriks tarvitatakse: benzonaphtol'i, sulab 110° C.; väävlit või antipüriini, sulavad 114° C.; resortsiini, sulab 119° C.; acid. benzoicum'i, sulab 121° C. Väga demonstratiivne on proov, kui indikaatori segame väikese hulga värvollusega, mis indikaatorit enne ei värvi, kui see ära sulab (DEMANDRE). 110° C. kontrolliks võetakse

100 g benzonaphtol'i + 0,01 g safraniini; 121° C. kontrolliks võetakse 100 g acid. benzoici + 0,01 g briljantrohelist. Indikaatorid näitavad, et kuumus tõusis teatava kõrguseni, aga ei näita, kui kaua kuumus selles kõrguses püsis.

Soovitavam on võtta kontrolliks paar prooviklaasi puljongiga, milledele juurde lisatakse tükike mulda, ja steriliseeritakse ühes teiste objektidega. Pärast hoitakse need kontrollid 24—48 tunni jooksul termostaadis (37° C.). Jääb puljong steriilseks, siis on eostega mikroobid (b. subtilis, b. mesentericus jne.) surnud ja steriliseerimine täielik.

c) Korduv soendamine alla 100° C. temperatuuris. Söötmeid, milles sisalduvad valk-ollused, mis 100° C. ja kõrgemas temperatuuris koaguleeruksid ja mis sellega võiksid kaotada oma väärtuse, steriliseeritakse vähema kuumusega. PASTEUR näitas, et ainet võib steriliseerida kaukestvalt soendades temperatuuris, mis on alla 100° C. (pasteuriseerimine).

Mikrobioloogilises praktikas tarvitatakse steriliseerimist lühemate korduvate soendamiste (56—58° C.) abil (tindaliseerimine). Steriliseeritavad ained (vereseerum, astsiidivedelik, valku sisaldavad söötmed jne.) mahutatakse prooviklaasidesse, kolbidesse või teistesse klaasnõudesse. Need mahutatakse vesivanni, nii et vanni veepind oleks kõrgemal nõudes oleva aine pinnast. Vesivanni soendatakse kordkorralt kuni 56—58° C., mida näitab termomeeter, ja hoitakse sellel soojusel 1 tunni jooksul. Selle järel lastakse vesivann ära jahtuda. Seesugust protseduuri peab kordama igapäev 6—7 päeva jooksul, enne kui steriliseerimist võiks täielikuks pidada. Enne steriliseeritud ainete tarvituselevõtmist hoitakse neid 2—3 päeva 37° C. termostaadis ja tarvitatakse ainult neid aineid, mis steriilseks jäävad.

Selleks, et temperatuur ei tõuseks üle 58° C. (valk koaguleerub), valmistatakse niisugused vesivannid, kus automaatiline regulaator takistab temperatuuri tõusu üle 58° C.

4. Steriliseerimine filtreerimise abil. Mõned ained ei kannata steriliseerimist soojusega; seepärast kurnatakse neid läbi filtrite, mis vedeliku läbi lasevad ja mikroobid kinni hoiavad. Seda meetodit tarvitatakse vee, vedelate söötmete ja mitmekesiste lahuste steriliseerimiseks, mikroobide eraldamiseks vedelast söötmest jne. Selle meetodi tarvitamise puhul tuleb meeles pidada, et filtrid hoiavad kinni ka teatava osa orgaanilisi olluseid ja valku, mille tõttu filtraat võib enda omaduste poolest märksa lahku minna algvedelikust.

Kõige laialisemat tarvitust leiavad Chamberland'i ja Berkefeld'i filtrid.

Chamberland'i filtrid (küünlad) valmistatakse portselanist; nad on vormi poolest väga mitmekesised. Need kujutavad harilikult õõnsat torukest või küünalt (läbimõõt 3—4 mm), mis on ühest otsast kinni ja teisest lahti. Mudel B on rohkem kompaktne ja laseb vedelikku raskesti läbi. Seda tarvitatakse peaasjalikult valgust vabade vedelikkude filtreerimiseks, mida toimetatakse mitme atmosfääri rõhu all. Mudel F on rohkem läbilaskev (permeabel) ja filtreerimist toime-

tatakse aspireerimise abil või nõrga rõhu all. See on sünnis valku sisaldava vedeliku filtreerimiseks.

Berkefeldi filtrid valmistatakse infusoorimullast. Nende urbed (poorid) on võrdlemisi suured, millede läbi ei pääse harilikud mikroobid, kuid pääsevad läbi filtreeruvad viirused. Neid filtreid tarvitatakse valku sisaldavate vedelikkude kurnamiseks. Nad on niihästi vormi kui suuruse poolest väga mitmekesised.

Peale ülaltähendatud filtrite leidub müügil veel palju teisi: Reichel'i, Pukal'i ja Kitasato filtrid, kus küünal mahutatakse klaasnõusse, millest õhk välja imetakse ja milles steriilne filtraat alal hoitakse.

Chamberlandi filtrid on väga vastupidavad; korduvat steriliseerimist ja regenereerimist kannatavad nad hästi ja on ka odavamad. Nende puuduseks tuleb lugeda seda, et nendega kurnamiseks on tarvilik võrdlemisi suur rõhumine.

Berkefeldi filtrid on õrnad; korduvat steriliseerimist ja regenereerimist kannatavad nad pahasti. Nendega võib kiiresti filtreerida väikese rõhu abil ja ka ilma rõhuta.

Enne filtrite tarvituselevõtmist peab neid proovima, kas nad on ilma lõhedeta. Selleks mahutatakse küünal vette, lahtine ots ühendatakse kummitoru abil õhupumbaga (võib tarvitada harilikku kummipalli) ja pressitakse õhku sisse. Kui küünal on lõhega, siis tõusevad veest üles õhumullid. Lõhedega küünlaid ei tohi tarvitada. Filtreid steriliseeritakse autoklaavis 115° C. kuumuses 20 minuti jooksul.

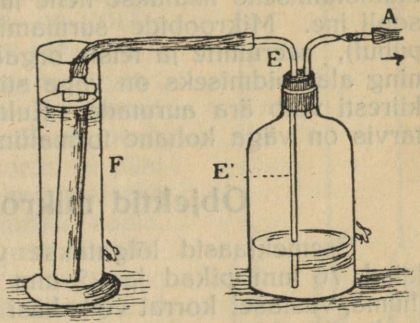
Lühemat aega tarvitusel olnud küünlaid puhastatakse selle tarvis valmistatud harjaga jooksva kraanivee all ja steriliseeritakse autoklaavis. Kauema tarvituse järel ummistuvad küünla urbed valgu ja teiste orgaaniliste ainete osadega. Seesuguseid küünlaid peab regenereerima. Selleks pestakse nad puhtaks, kuivatatakse täielikult termostaadis ja põletatakse selle tarvis valmistatud ahjus, Bunseni lambi tules ehk harilikus ahjus. Pärast põletamist peab filtreid uuesti proovima, kas neis ei ole tekkinud lõhesid. Filtreid võib keemiliste ainetega ka regenereerida: küünal mahutatakse mõneks tunniks kal. hypermangan. 5 : 1000 lahusesse (kuni lahtise otsani) ja lastakse lahus läbi seinte tungida; selle järel mahutatakse küünal samuti natr. hyposulfiti 1 : 20 lahusesse. Siis lastakse küünal viibida 5—6 tundi vees suure riista sees. Kiirendada võib regenereerimist, kui aspireerime läbi küünla alguses kal. hypermang. lahust, siis nat. hyposulfit'i lahust ja lõpuks destilleeritud vett. See meetod on halvem kui põletamine.

BERKEFELD'i filtreid ei või põletada. Neid peab kergelt puhastama harjaga ja aspireerima nende läbi natr. bicarbonic. või jälle ammoniaagi lahust.

Filtreerimisaparaadid on väga mitmekesised. Nendest nimetame siin kõige tarvilikumad. Filtreerimist toimetatakse kas aspireerimise abil, s. t. atmosfäärirõhu all või jälle suurema rõhu abil. Aspireerimiseks mahutatakse steriliseeritud küünal filtreeritava vedeliku sisse, kuni lahtise otsani; lahtine ots ühendatakse kummist ja klaasist torude abil steriilse pudeliga; viimasest imetakse veepumbaga ehk õhu aspireerimise pumbaga õhku välja; filtraat jookseb küünlast

toru kaudu vastuvõtte-pudelisse, kus seda steriilselt alal võib hoida ja sealt tarvitamiseks pipetiga võtta. Parem on steriliseeritud vedelikku pudelist sifooni abil välja lasta, mis võimaldab selle steriilselt alalhoidmist kauema aja jooksul (41. joon.).

Kui soovitakse filtreerida väikest hulka vedelikku, siis võetakse auguga kummikork, mis ühendatakse ühest küljest küünla lahtise otsaga ja teisest küljest väikese klaaslehtriga; korgiga kaetakse hermeetiliselt klaaskolb, nii et küünal kolvis viibiks. Kolvi küljel on puuvillaga täidetud toru, mille kaudu võib õhku pumba abil välja imeda. Filtreeritav vedelik valatakse lehtrisse, õhk imetakse kolvist välja, mille tagajärjel filtraat läbi küünla kolvisse koguneb (42. joon.).



41. joon. Kurnamisaparaat.

Vedeliku tungimist läbi küünla võib kiirendada suurendatud rõhu abil. Vee filtreerimiseks ühendatakse küünal kautšukist rõngaga või selle tarvis valmistatud ümbriku abil veekraaniga. Kui avada veekraan, siis tungib vesi rõhu all läbi küünla.

Suurendatud rõhu abil filtreerimiseks tarvitatakse Chamberland'i aparaati ehk selle printsiibi järele konstrueeritud lihtsamaid aparaate. Nende printsiip on järgmine: filtreerimisküünla lahtine ots ühendatakse metallist reservuaari alumise osaga. Reservuaari pealmine osa on varustatud manomeetriga; kraani abil ühendatakse reservuaar õhupressimis-pumbaga. Filtreeritav vedelik valatakse reservuaari ja pumbatakse õhku sisse kuni soovitava rõhuni. Küünla läbi tungiv filtraat kogutakse steriilse nõu sisse.

42. joon. Kitasato kurn.

Filtreerimise abil steriliseerimise puhul peab meeles pidama kaht peareeglit: 1) peab tarvitama ainult kontrollitud filtrit, mis enne täielikult steriliseeritakse; 2) filtraat peab täielikult steriilselt alal hoitama ja tarvitamiseks võttes ei pea seda mitte infitseeritama.

5. K e e m i l i n e s t e r i l i s e e r i m i n e. Keemiliste ainetega steriliseerimist tarvitatakse mikrobioloogilises tehnikas harvemini. Antiseptilise aine juurdelisamine söötmele muudab selle kõlbmatuks mikroobide kasvuks, sest antiseptilise aine kontsentratsioon, mis võib mikroobe söötmes surmata, on palju suurem kui see kontsentratsioon, mis nende kasvu takistab. Antiseptiliste lahustega steriliseeritakse suuremaid klaasnõusid, mis otsekohe kokku ei puutu mikroobidekultuuriga. Selleks ei tohi tarvitada lenduvaid aineid (formaliini, kloroformi), millede

aur võib takistada mikroobide kasvu. Sündsad on selleks otstarbeks sol. sublimati või sol. hydrarg. oxycyan. 1:1000. Käte pesemiseks ja instrumentide steriliseerimiseks tarvitatakse ülaltähendatud lahuseid ja formaliinilahust 10:1000. Steriilsete lahuste alalhoidmiseks, kui neid ei tarvitata söötmete valmistamiseks, lisatakse neile juurde tükike tümooli, kamprit jne. Seerumite, vaktsiinide, toksiinide jne. steriilselt alalhoidmiseks lisatakse neile juurde fenooli, tümooli, kamprit, trikresooli jne. Mikroobide surmamiseks kultuuris (vaktsiini valmistamise puhul), seerumite ja teiste orgaaniliste vedelikkude steriliseerimiseks ning alalhoidmiseks on väga sündsad kloroform, eeter, toluool, mida kiiresti võib ära aurutada. Kultuuride fikseerimiseks kollektsioonide tarvis on väga kohane formaliin.

Objektid mikroskoobiliseks tööks.

Esemeklaasid lõigatakse valgest või rohekast klaasist, 26 mm laiad, 76 mm pikad ja 1,2 mm paksud. Nende servad peab siledaks ihuma, vastasel korral võib käsi töö juures kergesti vigastada. Klaas peab sile olema, et ära hoida objektiiviläätsede kriimustamist.

Õõnega esemeklaasidel on keskel lohk, mille läbimõõt 12—15 mm ja nii sügav, et pealepandava kateklaasi küljes rippuv veetilk ei puutuks õõne põhja külge.

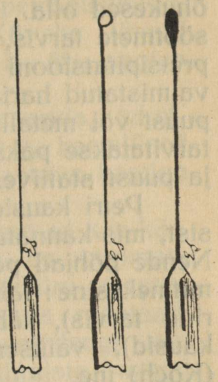
Kateklaasid on mitme suurusega: 15 × 15—18 × 18 mm, paksus 0,16—0,18 mm.

Klaasid peavad puhtad olema. Müügilt saadud uusi klaasisid võib puhta rätikuga kuivaks pühkimise järel tarvitada. Klaasisid ei või pühkida rätikuga, mida on seebiga pestud, ta teeb nad rasvaseks. Uusi klaasisid võib sel teel rasvast täielikult puhtaks teha, kui neid 1% soodalahuses 10—15 minuti jooksul keedame, siis destilleeritud veega ja nõrga soolhappega peseme, selle järel veel kord destilleeritud veega peseme ja 95° alkoholi sees klaaskorgiga purgikeses hoiame. Enne tarvitamist peab neid filtreerimispaberiga või nahatükiga puhtaks hõõruma ja tule peal steriliseerima.

Kuivi klaase võib rasvollustest sel teel puhastada, kui neid ½ tunni jooksul 160—180° soojuses kuumas õhus steriliseerimiskapis hoitakse. Kateklaase võib lihtsalt plekitüki peale laduda, mida mõne minuti jooksul tulega alt kuumutatakse.

Tarvitusel olnud klaase on palju raskem puhastada. Neid mahutatakse 1—2 tunniks 10% väävelhappesse või järgmisse lahusesse: 100 osa väävelhapet + 50 osa kal. bichromic. + 1000 osa vett. Selle järel pestakse neid veega ja keedetakse 1% soodalahuses 15—20 minuti jooksul; siis pestakse neid destilleeritud veega ja mahutatakse 95° alkoholi sisse (ZETTNOW). PEPPLER soovitab tarvitusel olnud klaase keeta ½ tundi 4% kal. hypermanganic. lahuses, ära pesta ja uuesti keeta ½ tundi soolhappes (1:4), siis veega pesta, niikaua kui sinine lakmuspaber pesemisvees enam punaseks ei lähe. Lõpuks mahutatakse nad 95° alkoholi sisse. Enne tarvitamist peab klaaside puhtust veetilgaga proovima, mis puhta klaasi peal ühtlaselt laiali läheb.

Plaatinanõelad. Nende valmistamiseks on kõige sündsam ja vastupidavam plaatinatraat; peenike plaatinatraat on liiga painduv; seepärast valmistatakse peenikesed nõelad plaatina-iriidiumi-traadist. Teisest materjalist traat, nii kui platiniid, teras jne., on küll odavam, kuid vähe püsiv. Traadi jämedus võib olla 0,4—0,6—0,8 mm. Nõelaks võetakse 6—8 sm pikkune tükk traati ja joodetakse tule peal 18—25 sm pikkuse klaassist kepikese külge. Vastupidavamad on KOLLE poolt soovitatud metallist nõelahoidjad (43. joon.).



43. joon. Plaatinanõelad.

Nõela otsale antakse mitmesugune vorm: terav, konks, aas, labidasarnaseks laiaks taotud jne. Aas peab kinnine olema (traadi ots peab vastu küljeosa puutuma), vastasel korral ei püsi vedeliku tilk aasa küljes. Aasade valmistamiseks painutatakse nõela ots ümber ümmariku naela, või selleks on juba valmis mitmesuguse jämedusega naelakesed puust aluse küljes (CZAPLEWSKI aasapainutajad). Aasa läbimõõt võib olla 1, 2, 3 ja 5 mm. Keskmise jämedusega traadist 2 mm läbimõõduga aas vastab Pfeifferi normaal-aasale ja võib hoida 2 mg bakterite kultuuri. Kui võtame aasaga mikroobide kultuuri või mõnd teist ainet niisuguse kateklaasi peale, mille raskus on enne kindlaks määratud, ja kaalume klaasi ühes võetud ainega keemilistel kaaludel, siis võime arvutada aine kaalu, mida aasaga on võimalik võtta. Aasatäie vedeliku hulga kindlaksmääramiseks võetakse aasaga mõnd hapet, aas loputatakse happest puhtaks destilleeritud vees ja põletatakse tule peal kuivaks; seda korratakse mitu korda. Titreerime lõpuks vee leelisega ja me võime arvutada ühe aasatäie happe hulka.

Plaatinanõelu peab alati enne ja pärast tarvitamist tule peal täielikult punaseks põletamise teel steriliseerima ja püsti hoidma puust aluse aukudes. Laua peale ei tohi nõela panna. Põletama peab ka nõelale ligemat klaaskepi või nõelahoidja osa.

Kateklaaside hoidmiseks tarvitatakse teravate otstega, ilma kammita anatoomilisi pintsette, labidasarnaste laiade, kõverate otstega Kühne pintsette ehk jälle Cornet' pintsetti. Objektiklaase võib hoida kahe Cornet' pintseti abil; kohasemad on selleks Debrand'i pintsetid. Pintsette peab töö-vaheajal selle tarvis valmistatud jala külge riputama.

Bakterioloogiliste tööde juures võib tarvitada nikeldamata käärisid, pintsette, lantsette jne., sest nikeldatud riistad ei kannata tule peal steriliseerimist.

Preparaatide loputamiseks tarvitatakse pritsimispudelit, millest peab vett kallama, aga mitte suuga puhuma. Preparaatide pesemiseks kõige kohasem on veega pudel, mis seisab aluse peal ja kust vett sifooni abil võib jooksta lasta. Loputamisvee tarvis on kohased emailitud metallkausid, mis steriliseerimise puhul katki ei lähe.

Prooviklaasid (reagentsklaasid) peavad olema heast klaasist, mis kannatavad korduvat steriliseerimist ja söötmeile mingit ainet juurde ei anna. Uued halvast klaasist prooviklaasid eraldavad leelist, mis söötme kõlbmatuks võib muuta. Seda puudust võib kõrvaldada, kui neid 1—2% soolhappes keedame ja pärast veega peseme. Kõige paremad on Jeena klaasist prooviklaasid. Nad ei tohi liiga õhukesed olla. Prooviklaaside suurus on mitmekesine: 16 × 160 mm söötmete tarvis, 9×80 mm seroloogilisteks uurimisteks ja 0,3×2,5 mm pretsipitatsiooni reaktsiooniks. Prooviklaase pestakse selle tarvis valmistatud harjaga. Nende hoidmiseks keetmise puhul tarvitatakse puust või metallist näpitsaid. Kultuuridega prooviklaaside hoidmiseks tarvitatakse paksude seintega klaaspurki (puuvill põhjas), papist topse ja puust statiive.

Petri kausid (kaanega kaetavad kausid) peavad olema heast klaasist, mis kannatavad steriliseerimist kuivas kuumas õhus (160—180° C.). Nende põhjad peavad olema võimalikult tasased. Nende suurus on mitmekesine: läbimõõt 10 sm, kõrgus 1 sm (Petri kausid plaatkultuuride tarvis), läbimõõt 20 sm, kõrgus 1—1,5 sm (Drigalski-Conradi kausid), väiksemad kartulikausid: läbimõõt 5 sm, kõrgus 2 sm (Koch) jne.

Kultuuripudelid (Petruschky, Kolle, Roux' ja teiste järele) kujutavad lapergusi, õhukeste seintega, laia suuga ja mitmesuguse suurusega pudeleid. Neid steriliseeritakse autoklaavis 20 min. 120° C. soojuses.

Söötmete steriliseerimiseks, nende alalhoidmiseks ja kultuuride kasvatamiseks tarvitatakse mitmekesise suurusega (25—2000 sm^3) koonusetaolisi Erlenmeyer'i kolbe ja õhukeste seintega harilikke ümmargusi klaasist kolbe (25—1000 sm^3).

Klaasnõudest peavad veel käepärast olema: uuriklaasid, laia ja kitsa kaelaga pudelid, ihutud klaaskorkidega pudelid, tilgutamispudelikesed, värviküvetid, jalaga koonusetaolised klaasid, klaaslehtrid (väikesed ja suured) jne.

Klaasi peale kirjutamiseks ja klaasist esemete märkimiseks tarvitatakse rasvpliiatsit või jälle klaasile kirjutamise tinti: 1—2 osa veeklaasi + 1 osa vedelat hiina tuši valgele klaasile kirjutamiseks, ja 3—4 osa veeklaasi + 1 osa baariumsulfaati pruunile ja mustale klaasile kirjutamiseks. Samaks otstarbeks võib tarvitada paberist etikette.

Bakterioloogiliste ja seroloogiliste tööde puhul tarvitatakse mõõtmiskolbe märgiga 50, 100, 250, 500 ja 1000 sm^3 sisalduse tarvis, mõõtmissilindreid, mis 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 ja 1000 sm^3 suurused, mõõtmispipette 1, 2, 5, 10, 25 ja 50 sm^3 ja gradueeritud pipette 1, 2, 5 ja 10 sm^3. Gradueeritud pipettidel on 1 sm^3 jagatud veel $^1/_{10}$ või $^1/_{100}$ osadesse. Kaitsepipettide ülemises osas on kuulisarnane laiend. Seroloogilisteks töödeks tarvitatakse spetsiaalpipette, nii kui pretsisiooni-, seerumi- ja mikropipette, millede abil täpsalt võib mõõta aine väiksemat hulka.

Peale eriliste objektide tarvitatakse bakterioloogiliste tööde juures mitmekesiseid objekte, mis leiduvad harilikus keemilises laboratoo-

riumis: bürette, bürettide hoidjaid, keetmiskatlaid, vesivanne, liivvanne, ekssikkaatoreid, kolmjalgu, Bunseni lampe jne.

Kummist objektidest tarvitatakse: kummitoru, korke, kummimütsikesi jne. Et ära hoida kummist asjade kõvastumist kauakestva seismise järel, hoitakse neid kahekordse põhjaga kindla kaanega riistas. Ülemine põhi on aukline, mille peal seisavad kummist objektid. Kahe põhja vahele mahutatakse tassikene mõne sm^3 petrooleumiga, väävelsüsinikuga, tärpentiiniga või ammoniaagiga. Kõvaks läinud kummitoru muutub uuesti pehmeks soojas vees või 5—6% soojas ammoniaagilahuses.

Kaaludest on tarvilikud: lauakaalud 5 kg raskuse tarvis, tehnilised kaalud $^1/_2$ kg raskuse tarvis ja tundlikkusega 0,01 g, keemilised kaalud tundlikkusega kuni 0,1 mg ja loomade kaalud vastava kastiga või korviga loomade hoidmiseks.

Tsentrifuugid, mis väga mitmekesise ehitusega, liiguvad kas käe, veeturbiini või elektrimootori abil. Kiireks töötamiseks on tingimata tarvilik elektritsentrifuug, mis võiks anda 3000—4000 tiiru minutis. Tiirlemiskiirust peab võimalik olema reguleerida vastava reostaadi abil. Tiirlemiskiiruse kontrollimiseks ühendatakse tsentrifuugi telg tiirulugejatega (güromeeter). See kujutab jaotustega, kinniste otstega klaastorukest, mis osalt on täidetud glütseriiniga või alkoholiga. Kiire tiirlemise tõttu tõuseb vedelik toru seinu pidi üles ja õhk kujutab koonust, mis terava otsaga vedeliku sisse tungib. Koonuse tipp on seda sügavamal, mida kiiremalt ringleb tsentrifuug. Tsentrifuug peab kaitstud olema kindla metallümbrikuga. Töötamise puhul peab silmas pidama: 1) tsentrifuugi peab hästi õlitama; 2) sümmeetriliselt vastamisi seisvad klaasid ühes vedelikuga peavad üheraskused olema, mida täpsa kaalumise abil reguleeritakse; 3) tsentrifuugi käimalaskmist ja seismajätmist peab pikkamisi toimetama.

Veevoolu õhupumpa tarvitatakse õhu imemiseks (filtreerimise puhul) ja õhu puhumiseks (puhumislambid klaasi sulatamiseks). Pumba ülemine ots ühendatakse veekraaniga, alumisse otsa pannakse 50—75 sm pikkune kummitoru.

Bakterioloogilises laboratooriumis peab leiduma jääkapp, mida kergesti jahutavate ollustega (jää või 2 osa jääd + 1 osa loomasoola) võib täita ja kus temperatuur + 5—7° C. peal püsiks. Väga head, kuid võrdlemisi kallid on selleks otstarbeks frigoaparaadid.

Loksutamisaparaadid on väga mitmeti ehitatud. Nad liiguvad veeturbiini või elektrimootori abil. Viimne on palju kohasem. Seda aparaati tarvitatakse ekstraktide ja bakterite suspensioonide valmistamiseks.

Töötamiseks mahutatakse värvide lahused 25—50 sm^3 suurustesse pudelikestesse, mis on varustatud vastavate klaasist korkpipettidega või hariliku korgi läbi tungiva klaaspipetiga, mida üles-alla võib liigutada. Pipeti ülemine ots on varustatud kummist mütsikesega või väikese kummist palliga. Klaasikesed värviga peavad seisma valguse eest kaitstult vastava aluse sees.

Korkidesse aukude puurimiseks tarvitatakse korgipuuri või hädakorral kuuma traati.

Käepärast peavad olema klaasiviilid ja klaasinuga torude, klaaspulkade jne. lõikamiseks.

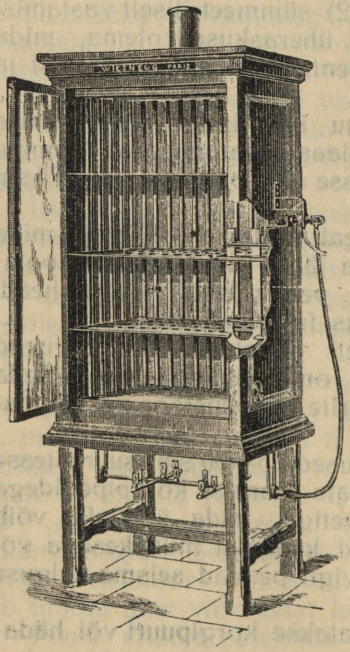
Klaastorude painutamiseks kuumutatakse neid gaasilambi tules ja kui soovitakse, et ööös ühetaoliseks jääks, siis peab toru enne kuumutamist täitma peene liivaga, siis ümberringi pehmeks kuumutama ja pikkamisi painutama. Pipettide valmistamiseks võetakse soovitava jämedusega klaastoru, hoitakse hästi längus (et suurem osa klaasi sulaks) gaasilambi tules (veel parem puhumislambi tules), keerutatakse vahet pidamata sõrmede vahel, et toru igast küljest ühtlaselt sulaks, ja kui klaas on pehme, siis venitatakse see pikkamisi soovitava jämedusega pipetiks. Venitamise ajal peab toru sõrmede vahel keerutama, et see ühtlaselt veniks. Peeneks veninud osa põletatakse tules pooleks.

Vedelikkude segamiseks tarvitatava klaaskepikese ots kaetakse kummitoru-tükiga, et kepp segamise aegu õhukeste seintega kolbide põhja katki ei põrutaks.

Bakterioloogiliste tööde puhul peab käepärast olema hea filtreerimispaber, hügroskoopiline ja harilik puuvill.

Termostaadid.

Mikroobidekultuuri kasvatamise ja paljude teiste mikrobioloogiliste manipulatsioonide puhul on tarvilik konstantne temperatuur. Seda saavutatakse termostaatide abil. Igas bakterioloogilises laboratooriumis peab olema jooksvaks tööks küllalt suur termostaat, mida võib reguleerida 37° C. soojuse tarvis. Peale selle on veel tarvilikud termostaadid erilisteks uurimisteks: 46° C. soojusega vee uurimiseks, 55° C. paraffiini sulatamiseks, pretsipitatsiooni reaktsiooniks ja 22° C. kultuuride kasvatamiseks želatiinisöötmel. Kui välimise õhu temperatuur on kõrgem soovitavast temperatuurist, siis peab termostaati jahutama jääga või külma vee vooluga, kuid konstantse temperatuuri saamine on sel teel raske (44. joon.).



44. joon. Roux' termostaat.

Vormi ja suuruse poolest on termostaadid väga mitmekesised, olenedes sellest, missugune on tarvidus. Suurtes laboratooriumides on keskmise suurusega tuba sisse seatud termostaadi otstarbeks. Seda soendatakse kas hariliku ahjuga või keskkütte radiaatoritega ja soojust reguleeritakse gaasilambi abil.

Harilik termostaat kujutab ühekordsete või kahekordsete seintega puust, vask- või tsinkplekist kandilist, uksega kasti, mis jalgade peal seisab ja mida gaasi-, petrooleumitule või elektriga soendatakse.

Seinte vahel asetseb vesi või õhk. Tule suurendamisega ja vähendamisega võib temperatuuri reguleerida, mida näitab termostaadi sisemisse ruumi ulatuv termomeeter. Lihtsa ehitusega termostaadiga on raske saavutada pikema aja jooksul soovitavat temperatuuri; seepärast ehitatakse uuemal ajal väga komplitseeritud termostaadid, kus võimalik on saavutada kõiki neid tingimusi, mis on tarvilikud mikrobioloogilisteks töödeks.

Termostaadi muretsemise ja ehitamise korral peab silmas pidama, et see vastaks järgmistele nõuetele:

1) Termostaat peab olema kaitstud ümbritseva õhu temperatuuri muutuste vastu. Seda saavutatakse niisuguste seinte abil, mis soojust halvasti edasi annavad: termostaat kaetakse puust, vildist või linoleumist kattega; õhu või veekihiga metallseinte vahel; katteks võib tarvitada hästi poleeritud vaskplekki, sest poleeritud metall annab soojust nõrgalt edasi.

2) Termostaat peab varustatud olema võimalikult tundliku automaatselt töötava temperatuuriregulaatoriga; ühed nendest on gaasiga, teised petrooleumiga, kolmandad elektriga soendamise tarvis.

3) Termostaatide jaoks peab olema hea ventilatsioon. Kui termostaat kujutab hermeetiliselt kindlat kasti, siis koguneb soojus selle ülemisse ossa ja selle tagajärjel ei ole temperatuur ühtlane kõikide riiulite kõrguses. Ventilatsioon on tarvilik veel fermentatsioonigaaside kõrvaldamiseks, mis takistavad kultuuride kasvu.

4) Termostaati ei tohi valgus pääseda, sest et see takistab paljude mikroobide kasvu. Klaasuksed peab mustaks värvima, musta paberiga katma, või termostaadil peavad olema kahekordsed uksed (klaasist ja metallist).

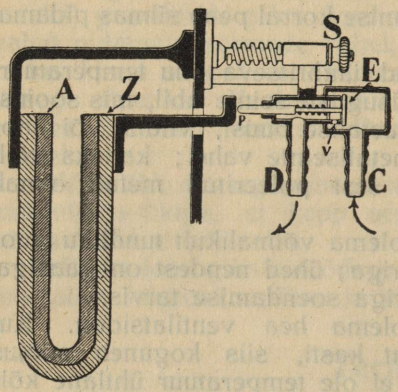
5) Termostaat peab olema termomeetriga varustatud, mis küljeseina või lae läbi sisemisse ruumi ulatub.

Gaasiga soendatavaist termostaatidest on tarvitusel Roux' termostaadid. Need kujutavad puust seintega, kahe uksega, riiulitega kappi, mis seisab jalgade peal. Sisemiste seinte küljes on vasktorud, mis alt üles lähevad ja laes olevasse korstnasse lõpevad. Soendamist saavutatakse termostaadi all seisvate gaasilampide abil. Lampide kuumus tõuseb torusid-pidi üles ja läheb korstnast välja. Termostaadi sisemist ruumi soendavad torud. Termostaadi külgedes on augud, mis võimaldavad ventilatsiooni.

Peale selle on veel palju teissuguse ehitusega termostaate (Babès'i, Chauveau ja Arloing'i omad).

Gaasi reguleerimist toimetatakse mitmekesiste regulaatorite abil. Roux' regulaator on U-tähe sarnane, kahest metallist kokku joodetud: välimine kiht tsingist, sisemine terasest. Soendame seda regulaatorit, siis liginevad otsad teineteisele, jahutame aga teda, siis liiguvad otsad teineteisest eemale. Regulaatori üks haru on kinnitatud termostaadi sisemise seina külge, teine on vaba. Vaba haru külge on kinnitatud metallist rigiidne varras, mille vaba ots termostaadist välja ulatub ja mis näitab regulaatori otste liikumist temperatuuri muutuse mõjul. Varda välimine ots ühendatakse väljaspool termostaati asetsevate gaasitorude isesuguse ehitusega, kus ta gaasivoolu võib vähendada

ja suurendada. Gaasivoolu võib alguses reguleerida vastava kruvi abil ja kui on saadud soovitav temperatuur, siis reguleerib seda pärast regulaator automaatselt. Toru läbi võib lampi pääseda alati tagavara-gaasivool, mis lampi ei lase ära kustuda, kui regulaator gaasi peavoolu-toru kinni surub; tagavara-tuli ei suuda tõsta termostaadi soojust üle soovitava temperatuuri (45 joon.).



45. joon. Gaasregulaator (metallist).

Lambid on varustatud kaitsega, mis gaasi kinni surub, kui tuli peaks juhuslikult ära kustuma.

Peale selle on veel mitmesuguse teise ehitusega metallregulaatoreid. Üldse peab tähendama, et metallist regulaatorid on õige püsivad ja väga tundlikud.

Elavhõbe-regulaatorid on väga mitmekesise ehitusega. Klaasist reservuaar, mis asub termostaadi sees, sisaldab elavhõbedat. Reservuaari küljest tõuseb üles peenike klaastoru, mille ülemine osa on laiem. Tõuseb temperatuur termostaadis, siis kerkib elavhõbe peenikest toru pidi selle ülemisest laiast otsast sisse pandud gaasitoru peenikese otsa poole ja võib gaasivoolu koguni kinni suruda. Sel korral pääseb lampi ainult tagavara-gaas ja annab väikese tule. Need regulaatorid on vähe tundlikud.

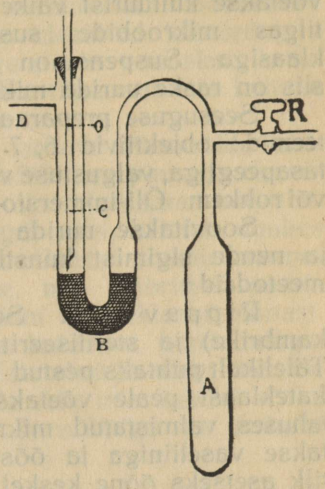
Paremad on need regulaatorid, kus gaasivoolu reguleerib temperatuurile rohkem tundlik vedelik kui elavhõbe. Selleks valmistatakse klaasist regulaator, mis koostub kahest U-tähe sarnasest osast. Ühe laia, termostaati mahutatava osa ots on kinni, teise laia osa otsa kaudu, mis väljaspool termostaati, ulatub sisse gaasitoru. See osa, mis termostaati mahutatakse, sisaldab õhku, või veel parem — eetrit või kaltsiumkloraadi kontsentreeritud lahust. Termostaadist väljaspool olev osa sisaldab elavhõbedat. Tõuseb temperatuur termostaadis, siis pressib õhk või vedelik elavhõbeda peale, see kerkib üles lahtise otsa poole ja suleb gaasitoru otsa. Väheneb aga temperatuur termostaadis, siis langeb elavhõbe, gaasi voolab rohkem läbi lambi ja lambitule soendusjõud suureneb. Need regulaatorid on odavad, küllalt tundlikud, kuid õrnad (46. joon.).

Gaasregulaatorid töötavad ainult siis hästi, kui gaasi rõhumine on alaliselt ühesuurune. Et seda saavutada, peab veel tarvitama gaasirõhu-regulaatorit, mis ühendatakse gaasi kraaniga enne gaasi pääsmist tuleregulaatorisse.

Väga head on elektriga soendatavad termostaadid, kui laboratoorium on varustatud elektrivooluga (d'Arsonval'i, Regaud ja teiste valmistatud). Soendamist toimetatakse termostaati mahutatud elektrilampide (pirnide) või jälle traadist spiraalide abil, mida elektrivool soojaks ajab. Elektrivoolu reguleerimiseks tarvitatakse mitmel viisil

ehitatud elektriregulaatoreid. Nende kirjeldus ja tarvitamisviis on harilikult üles märgitud kaasaantavaile lehekestele.

Väiksemais laboratooriumides võib tarvitada petrooleumilambiga soendatavat termostaati (Hearson'i ja Sartorius'e termostaadid). Lamp seisab harilikult termostaadi kõrval, mille soojus võib liikuda lahtiste otstega T-tähe sarnast toru pidi. Horisontaalne toru läheb termostaati, risti selle välimise otsa küljes oleva toru alumine ots võtab enesesse lambisilindri otsa. Ülemise otsa kohal ripub keti küljes metallist ratas, mis termostaadis asetseva regulaatori (membraani) abil alla ja üles võib liikuda. Kui temperatuur tõuseb termostaadis, siis tõuseb ülespoole ratas ja soojus voolab risti oleva toru läbi välja, ilma et ta termostaati tungiks. Langeb aga temperatuur termostaadis, siis langeb allapoole ratas, katab kinni osalt või täielikult risti oleva toru otsa ja soojus läheb teist toru pidi termostaati. Nende termostaatidega on raske pikema aja jooksul saada ühtlast temperatuuri.



46. joon. Bohr'i regulaator.

Anaeroobsete mikroobide kultiveerimiseks tarvitatakse termostaate, milledest võib õhku välja pumbata. Adnet termostaat kujutab paksude seintega, uksega hermeetiliselt kinnipandavat silindrit, millest õhku võib välja pumbata. Termostaati soendatakse gaasilambiga, mille tuld reguleerib Roux' regulaator. Seesuguse termostaadi põhja mahutatakse kauss acid. pyrogallic. + KOH lahusega, mis absorbeerib O_2 ja termostaadi ruumi rõskust annab.

Mikroorganismide uurimine.

Kui uurime mikroobe ainult mikroskoobi abil, ilma et neid kasvataksime kunstlikes söötmeis, siis nimetatakse seda harilikult bakterioskoobiliseks meetodiks. Laseme aga uuritavas materjalis viibivaid mikroobe sigida kunstlikus söötmes, siis nimetatakse uurimisviisi bakterioloogiliseks meetodiks.

Mikroskoobiga võib mikroobe kahel moel uurida: 1) ilma värvimata, elusate mikroobide uurimine; 2) värvitud mikroobide uurimine.

Ilma värvimata mikroobide uurimine.

Vormi ja liikumise uurimiseks mahutatakse tilk mikroobide suspensiooni kahe klaasi vahele ja vaadatakse mikroskoobi varal. Kui on tegemist kultuuriga, mis kasvab vedelas söötmes, siis toimetatakse uurimist järgmiselt: Puhta esemeklaasi peale võetakse Pasteuri pipetiga tilk kultuuri, kaetakse kateklaasiga, nii et õhku klaaside vahele ei jääks. Et vedelik ära ei auraks, imetakse filtreerimispaberiga üle-

liigne vedelik kateklaasi servalt ära, kateklaasi nurkadele võetakse väikesed tükid paraffiini ja klaasi servad joodetakse kuuma traadi abil paraffiiniga kinni.

Kui mikroobid kasvavad kõva söötme pinnal, siis võetakse esemeklaasi peale tilk 0,85% NaCl-lahust või puljongi; plaatinanõela otsaga võetakse kultuurist väike hulk mikroobe ja valmistatakse soolalahuse tilgas mikroobide suspensioon. Suspensioonitilk kaetakse kateklaasiga. Suspensioon ei tohi sisaldada liiga palju mikroobe, sest siis on raske uurida mikroobe üksikult.

Seesuguse preparaadi uurimiseks võetakse harilikult kuivad süsteemid: objektiivid 6, 7 või 8, okulaar I, III või IV. Valgustatakse tasapeegliga, valgustuse vähendamiseks koondatakse diafragma pooleni või rohkem. Õli-immersiooniga uurides peab diafragmat rohkem avama.

Soovitakse uurida mikroobide vitaalsust kauema aja jooksul ja nende sigimist kunstlikus söötmes, siis peab tarvitama järgmisi meetodeid:

Rippuv tilk. Selleks võetakse õõnega esemeklaas (Koch'i kambrike) ja steriliseeritakse seda Bunseni või alkoholilambi tules. Täielikult puhtaks pestud kuiv kateklaas steriliseeritakse tules; jahtunud kateklaasi peale võetakse tilk puljongi kultuuri või füsioloogilises lahuses valmistatud mikroobide suspensiooni. Õõne ümbrus määritakse vaseliiniga ja õõs kaetakse kateklaasiga, nii et suspensioonitilk asetseks õõne keskel ja ei puutuks kokku selle põhjaga. Vaseliinikiht, mis takistab vedeliku ära-auramist, peab olema kinnise rõngaga õõne ümber.

Tahetakse rippuva tilga abil uurida mikroobide sigimist, siis võetakse kateklaasi peale tilk puljongi, külvatakse selle sisse plaatinanõela otsaga väike hulk mikroobe, õõs kaetakse kateklaasiga ja selle servad joodetakse paraffiiniga kinni. Et puljongi ei satuks liiga palju mikroobe, tarvitatakse tilga valmistamiseks järgmist lahjendamismeetodit: prooviklaasi I, milles sisaldub 8—10 sm^3 puljongi, külvatakse väike hulk mikroobe ja loksutatakse hästi segi; selleks külvatakse 1—2 tilka II prooviklaasi puljongi sisse, loksutatakse segi ja sellest valmistatakse rippuv tilk.

Mikroobide sigimise uurimiseks hoitakse rippuva tilgaga kambrike soendatava esemelauaga mikroobide all kasvuoptimumi soojuses või selleks tarvitatakse soendatavat kambrikest (Pfeiffer); ka võib mikroskoobi alumist osa mahutada väikesesse termostaati (Zeiss, Plehn), kus soojust võib tarviduse järele reguleerida. Lihtsam on hoida kambrikest rippuva tilgaga harilikus termostaadis ja teda sealt vahetevahel lühikeseks ajaks välja võtta vaatamiseks mikroskoobis. Rippuvas tilgas võib uurida mikroobide sigimist 3—4 päeva jooksul.

Rippuva tilga uurimist mikroskoobis peab ettevaatlikult toimetama, sest kateklaasi võib kergesti katki litsuda. Alguses võetakse kuivad süsteemid (objektiiv 6 või 7, okulaar 3 või 4). Diafragma pannakse pooleni kinni, valgustatakse tasapeegliga, tuubus lastakse makromeetrilise kruvi abil alla, nii et objektiiv oleks kateklaasi pinna ligidal. Edasi reguleeritakse mikromeetrilise kruvi abil, tõstes tuubust aeglaselt ülespoole. Kõige enne peab katsuma üles leida rippuva tilga serva-

joont, millest ühel pool paistavad võrdlemisi suured udutilgad, teisel pool ühtlane väikeseteraline mikroobide suspensioon. Õli-immersiooniga uurimiseks võetakse kateklaasi pinnale tilk ol. lign. cedri ja vaadatakse immersiooni-objektiividega.

Peale ülaltähendatud Koch'i kambrikese valmistatakse veel mitmesugused teised kambrikesed rippuva tilga uurimiseks. Boettcher'i kambrike kujutab esemeklaasi, mille peale on kleebitud klaasrõngas (15—20 mm diameeter, 5 mm kõrgus). Rõnga peale pannakse kateklaas rippuva tilgaga. Mahutame kambri põhja tilga vett, siis kaitseb see rippuvat tilka kuivamise eest.

Täpsamaiks uurimisiks on tarvilik, et uuritav mikroobide suspensioon oleks paralleelsete pindadega, sest sfäärilise pinnaga rippuv tilk tekitab valgusekiirte perturbatsiooni, mis takistab märksa uurimist. Seda võib saavutada Ranvier' kambrikesega, mis kujutab umbes Thoma-Zeiss'i vere-elementide lugemise kambrikest. Paksu esemeklaasi sisse ihutakse rõngasarnane kraavike, mis ümbritseb sõõrisarnast pinda. Sõõri pind on 0,1 mm madalam esemeklaasi pinnast. Sõõri pinnale võetakse tilk suspensiooni ja kaetakse kateklaasiga. Suspensioon asub õhukese kihina kateklaasi alumise ja sõõri ülemise pinna vahel. Kraavikesse võib mahutada tilk vett, mis kambri rõske hoiab. Kateklaasi servad joodetakse kinni paraffiiniga ja uurimist toimetatakse nii, kuis ülalpool kuulsime.

Mikroobide uurimine ultramikroskoobiga.

Ultramikroskoop võimaldab nende lõpmata väikeste mikroorganismide uurimist, keda ei ole võimalik näha hariliku mikroskoobi abil. Peale selle võib ultramikroskoobiga uurida ilma suurema vaevata kõiki teisi mikroobe elusas olekus ilma värvimata. LANDSTEINER, MUCHA ja GASTOU näitasid, et ultramikroskoop on suureks abiks ja kergenduseks arstile infektsiooniliste haiguste diagnoosi puhul. Iseäranis suureks abiks on ultramikroskoop spiroheetide poolt esilekutsutud infektsioonide uurimistel (syphilis jne.).

Ultramikroskoobi ülesandeks on, nagu me juba ülal kuulsime, anda pimedat tagaseina, vaatevälja, mille peal mikroobid paistavad helendavatena refraktsiooni tagajärjel. Selge pildi saamiseks peab hoolt kandma, et ultramikroskoop oleks täpsalt üles seatud ja valgustatud. Eeskätt peab kondensorit täielikult tsentreerima. Selleks võetakse Abbé valgustusaparaat välja ja selle ümbriku sisse mahutatakse pimeda välja kondensor, nii et selle ülemine pind asuks ühekõrgusel esemelaua pinnaga. Siis vaadatakse nõrga objektiiviga varustatud (ilma okulaarita) mikroskoopi tuubuse ülemise otsa kaudu. Kui kondensor on tsentreeritud, siis paistab vaatevälja tsentrum selgelt ja ühtlaselt valgustatuna. Ei ole aga valgustus ühtlane, siis liigutatakse kondensorit kruvide abil, niikaua kui valgustus muutub ühtlaseks.

Nende, esemelauale kinnitatavate kondensorite tsentreerimiseks peab kondensorit edasi-tagasi liigutama, niikaua kui valgustus paistab nõrga objektiivi läbi ühtlasena. Siis kinnitatakse kondensor esemelaua külge. Mõnede kondensorite peale on kriimustatud kaks kon-

tsentrilist rõngasjoont, mis kergendavad märksa tsentreerimist. Kondensorit liigutatakse niikaua, kui rõngad on näha täpsalt objektiivi keskel.

Selge pildi saamine oleneb preparaadi valmistamisest. Kateklaasid ja esemeklaasid peavad olema kristallist, ilma kriimudeta ja absoluutselt puhtad. Nende puhastamiseks soovitatakse järgmist meetodit: pesta sol. kal. hypermang. 1 : 1000, millele juurde lisatakse 10 : 1000 acid. sulfuric., loputada vees; pesta soolhappes; loputada vees; pesta kal. caustic. lahuses; loputada vees; hoida 95° alkoholis; kuivatada; hoida kaitstult õhu ja tolmu eest. Tarvitamise eel on soovitav klaasid katta kolloodiumikihiga, mis pealt ära tõmmatakse, kui kolloodium ära kuivab. Esemeklaaside paksus peab vastama kondensori nõuetele, mis on harilikult tähendatud kondensori ümbriku peal, ligikaudu on see 1,4 mm. Vähe paksem ($^1/_3$ mm) või õhem esemeklaas ei takista uurimist kunstliku valguse abil. Kateklaasid peavad olema võimalikult õhukesed ja vastama paksusele, milleks on korrigeeritud objektiiv.

Uuritav materjal mahutatakse eseme- ja kateklaasi vahele nii õhukese kihina kui võimalik. Ta peab olema ühtlane ja täiesti ilma õhumullideta. Kui uuritav materjal on küllalt vedel, siis võib teda tarvitada ilma lahjendamata. Vastasel korral lahjendatakse teda 0,85% NaCl-lahusega, parem veel veeseerumiga, astsiidivedelikuga või mõne transsudaadiga, et mikroorganismid võimalikult vähe viga saaksid. Kui uurimine peab kestma kauemat aega, siis kaetakse kateklaasi servad vaseliiniga või joodetakse kinni paraffiiniga, et vedeliku auramist ära hoida.

Tsentreeritud kondensori peale võetakse suur tilk head, hästi vedelat immersiooniõli. Halva väärtusega õli on sagedasti takistuseks ultramikroskoobiliste uurimiste puhul. Valmistatud preparaat pannakse kondensori peale, nii et õli täielikult täidaks kondensori ja esemeklaasi pindade vahe.

Uurimist toimetatakse kas kuivade süsteemide või jälle immersiooniobjektiivi abil. Kuivadest süsteemidest võetakse objektiivid 7, 8 või 9 ja okulaar IV või Zeissi kompensatsiooniokulaar 18. Immersiooniobjektiiv peab olema varustatud diafragmaga.

Intensiivne valgustus suurendab pildi selgust. Valgustamiseks tarvitatakse harilikult Nernst'i elektrilampi, elektri-kaarlampi või veel parem — Philipps'i poolvatt-lampi. Ka Auer'i gaasivalgusest jätkub harilikkudel uurimistel. Valgusekiired koondatakse läätse või kingsepa-kuuli abil. Kiired juhitakse kondensorisse tasapeegli abil. Peegel peab ühtlaselt valgustatud olema. Et seda saada, otsitakse valge paberitüki abil üles läätse optiline fookus ja liigutatakse mikroskoopi, nii et peegel saaks ühtlase valgustuse.

Pildi leidmiseks on tarvis vilumust, ja seda saab ainult harjumise teel. Kuiva süsteemiga uurimise korral lastakse tuubus makromeetrilise kruvi abil pikkamisi alla ja vaadatakse mikroskoopi okulaari läbi. Vaateväli, mis alguses oli diffuusselt valgustatud, muutub täielikult pimedaks; kui nüüd lasta objektiivi veel allapoole, siis hakkavad paistma pimedal tagaseinal valged helendavad punktid; pildi selgust võib reguleerida mikromeetrilise kruvi abil. Immersiooniobjek-

tiiviga uurides võetakse kateklaasi pinnale tilk ol. lig. cedri. Objektiiv lastakse alla, nii et ta kokku puutuks õlitilgaga; siis reguleeritakse mikromeetrilise kruviga, niikaua kui pilt selgeks läheb.

Kui vaateväli ei ole ühtlaselt valgustatud ja ilmuvad mitmekesised varjud ning värvilised rõngad, siis ei ole kondensor hästi tsentreeritud, mis kohe peab parandatama.

Uurimise ajal peab mikroskoobi esemelaud täielikult horisontaalselt seisma, et ära hoida uuritava vedeliku voolamist klaaside vahel, mis uurimist takistab.

Lindner ja Burri meetod.

Mikroobide morfoloogia uurimiseks soovitasid Lindner ja Burri segada mikroobe hiina tušiga ja vaadata segu mikroskoobi varal. Mikroobid paistavad mustal tagaseinal heledatena.

Preparaadi valmistamiseks peab tarvitama head vedelat hiina tuši. Peab meeles pidama, et tušis võivad sigida mitmekesised mikroobid; seepärast on tarvilik enne proovida, kas tuš on puhas. Steriilselt alalhoidmiseks mahutatakse vedel tuš (ehk tuš segatud pooleks destilleeritud veega) ampullidesse, joodetakse kinni ja steriliseeritakse autoklaavis.

Preparaadi valmistamiseks võetakse täiesti puhta esemeklaasi ühe otsa peale tilk tuši ja selle kõrvale tilk mikroobe sisaldavat uuritavat ainet. Mõlemad tilgad segatakse segi aasaga. Siis võetakse klaas sõrmede vahele ja tõmmatakse läbi Bunseni lambi tule, et seda kergelt soendada. Segu tilk tõmmatakse kohe laiali kateklaasi servaga soojale esemeklaasile. Lastakse kuivada õhus; siis võetakse klaasi peale tilk ol. lig. cedri ja uuritakse mikroskoobi all. Laialimääritud tuši kiht ei tohi olla liiga õhuke, sest siis on raske leida mikroobe, kui neid oli vähe uuritavas materjalis. See kiht ei tohi olla ka liiga paks, sest siis ei ole näha väikesi mikroobe.

LINDNER soovitas võtta esemeklaasi peale tilk tuši, sellele juurde segada aasaga uuritav materjal; tilk kinni katta kateklaasiga ja uurida kuivade süsteemidega.

HARRISSON soovitab võtta tuši asemele kollargooli emulsiooni destilleeritud vees (1 : 10). Mikroobid paistavad pruunikaspunasel tagaseinal.

Lindner-Burri meetod annab häid resultaate nendel kordadel, kui mikroobe on kerge ära tunda vormi järele (spiroheedid, suured mikroobid).

Värvitud mikroobide uurimine.

Mikroobide värvimise abil on võimalik uurida täpsamalt nende morfoloogiat ja biokeemilisi omadusi. Baktereid läks korda värvida esimest korda Weigert'il hematoksiliiniga. Pea selgus, et paljud bakterid ei lase end selle värviga värvida. Rob. KOCH näitas, et bakterite värvimiseks on kõige kohasemad baasilised aniliinvärvid.

P. EHRLICH uuris põhjalikumalt aniliinvärvisid ja leidis, et need sisaldavad isesugust aatomite kompleksi, mida nimetatakse kromo-

fooriks. Kromofoor ei värvi rakku, sest tal on kas nõrgalt baasilised või hapud omadused, kuna loomaliste rakkude värvimiseks on tarvilikud säärased ollused, milledel on märksa suuremad aluslised või hapud omadused. Kromofoor saab värviva omaduse siis, kui temaga liituvad baasilised või hapud grupid. Ehrlich nimetas baasiliseks aniliinvärviks niisugust, kus baasilise kromofooriga liitub amiidogrupp üksi ehk jälle koos hüdroksüülidega. Baasilise värvi saame ka siis, kui kromofoor liitub amiinogruppidega ja karboksüülidega niiviisi, et karboksüülid on vähemuses. Hapu aniliinvärvi saame, kui hapu kromofooriga liitub nitro- või sulfogrupp. Hapude omadustega on ka aniliinvärv, kui ta sisaldab karboksüülgruppi ühes hüdroksüülgrupiga või ainult karboksüülgruppi. Segades baasilisi värve hapude värvidega saame neutraalsed aniliinvärvid.

Baasilistel aniliinvärvidel on suur affiinsus taimeliste rakkude tuumale, ja et bakterite rakus võtab enese alla suurema osa tuumollus (BÜTSCHLI), siis on baasilised värvid kõige sündsamad mikroobide värvimiseks.

Baasilistest aniliinvärvidest on kõige rohkem tarvitusel: 1) sinised: methylenblau, victoriablau, toluidinblau, polychrommethylenblau, azur; 2) punased: fuchsin, rubin, safranin, neutralrot; 3) violetsed: gentianaviolett, krystallviolett, thionin, methylviolett, dahliaviolett; 4) rohelised: malachitgrün, methylgrün; 5) pruunid: vesuvin (Bismarckbraun); 6) mustad: inulin.

Hapud aniliinvärvid ei värvi mikroobe ja neid nimetatakse protoplasmavärvideks. Neid tarvitatakse koe-elementide värvimiseks. Hapudest värvidest on tarvitusel: fluorescein (resortsiini derivaat), eosin (tetrabromfluorescein), aurantia, hapu fuchsin, orange G, tropeolin, congo, erythrosin.

Neutraalseist värvidest on tarvitusel: methylenviolett, asuureosinaadid jne.

Müügile lastakse aniliinvärvid harilikult kuiva pulbri näol, ja et nad oma väärtuse poolest väga mitmekesised võivad olla, siis peab neid muretsedes silmas pidama, et nad oleksid saadud häist allikaist.

Mikroobide värvumise peale tuleb vaadata kui füsikaalse (adsorptsioon) ja keemilise protsessi peale. Siin ei ole tegemist ainult mehaanilise protsessiga, kus värv tungib mikroobi raku sisse ja lahustub selle protoplasmas. Mikroobiraku protoplasma ja aniliinvärvide keemilise liitumise poolt räägivad järgmised asjaolud: BUCHNER'i mürgilised bakterite proteiinid muutuvad aniliinvärvide toimel mittemürgilisteks, mis näitab, et värv + protoplasma on uus ühend, mille omadused lahku lähevad komponentide omadest. KNAAK pani tähele, et bakterite rakuga seotud metüleensinine redutseerub raskemini kui vaba värv. DREYFUSS leidis, et mikroobirakud NaOH toimel võivad täielikult kaotada värvi vastuvõtvuse.

Nähtavasti laguneb värv mikroobirakus, mille tagajärjel vabanenud värvibaas liitub raku hapu komponendiga, andes uut, soolasarnast ühendit. See ühend on lodev ja värv dissotsieerub kergesti nende vedelikkude toimel, mis värvi hästi lahustavad (50° alkohol). GÜNTHER pani tähele, et aniliinvärvide lahused absoluutses alkoholis

ei värvi mikroobe. Samuti ei võta ka absoluutne alkohol värvitud mikroobidelt värvi ära, vaatamata selle peale, et aniliinvärvid absoluutses alkoholis hästi lahustuvad.

Mida täielikumalt lahustub värv ühes või teises vedelikus, seda nõrgemalt värvib see värvilahus mikroobe. Sellest näeme, et nõrgemakontsentratsioonilise alkoholiga valmistatud värvilahused on sündsamad mikroobide värvimiseks kui absoluutse alkoholiga valmistatud värvilahused. Lisame värvilahusele juurde olluseid, mis suurendavad värvi lahustumist (salpeeterhapet, äädikhapet), siis kahaneb lahuse värviv jõud. Sääraseid nõrku värvilahuseid tarvitatakse kergemalt värvitavate mikroobide osade värvimiseks (polaarsed terad).

Lisame värvilahusele juurde ollust, mis kahandab värvi lahustumist, siis kasvab värvilahuse värviv toime mikroobide peale. Seesugused ollused kannavad peitside nime. Peitsid suurendavad värvi affiinsust mikroobirakkudele, nad kiirendavad värvimist ja võimaldavad värvi püsivat sidumist mikroobirakuga. Peitside abil kõvendatud värvilahused ei ole ise püsivad. Juba mõne päeva jooksul tekib nendes sade, mis värvi kõlbmatuks muudab. Aniliinvärvid võivad märksa muutuda peitside toimel: alkaalid muudavad metüleensinise asuuriks ja metüleenvioletiks (MICHAELIS), fenool ja alaunid annavad mõnede värvidega ühendeid, mis palju intensiivsemalt värvivad; jood liitub pararosaniliinidega ja annab uue värvi, mida ei dissotsieeri alkohol, jne.

Peitsideks tarvitatakse järgmisi aineid: acid. aceticum, phenol, acid. tannicum, Lugoli lahust, broomisoolasid, sublimaati, KOH, ammoniaaki, booraksit, aniliinõli, fenüülamiini, toluidiini, alauni jne.

Mikroobide värvimist kiirendab soendamine. Selleks mahutatakse preparaat värvilahusesse, mida soendatakse 60° ja 100° C. vahel.

Mikroobide värvumine oleneb nende protoplasma omadustest, vanadusest ja ka söötmest, milles nad kasvavad. Ühed mikroobid lasevad endid kergesti värvida ja annavad kergesti ka värvi ära. Teiste mikroobide värvimine on raskustega seotud ja nad ei anna värvi endast kergesti ära (b. tuberculosis, b. leprae, eosed). Värvi püsiv liitumine mikroobirakuga oleneb nähtavasti mikroobi protoplasma keemilistest omadustest ja mikroobi kestast, mis värvi läbipääsmist takistab.

MIRONE leidis, et värvitud mikroobid annavad värvi ära hiina tuši toimel. Kui me määrime värvitud preparaadi peale õhukese kihi tuši, siis kaotavad mikroobid oma värvi ja me saame umbes sarnase preparaadi, kui on BURRI meetodi järele valmistatud preparaadid. Värvi ei anna ära mikroobide eosed ja raskesti värvitavad mikroobid (b. tuberculosis). Seesugust nähtust võib seletada osalt sellega, et tušis asetsevad väikesed söe-osakesed absorbeerivad värvollust.

Värvide lahused.

Valmis värvilahused on harilikult vähe püsivad; seepärast on soovitav, et värvide tagavarasid hoitaks kuiva pulbrina. Nendest valmistatakse tarbekorral vastavad lahused. Mikro-organismide värvimiseks tarvitatakse väga mitmekesiseid värvilahuseid, kuid peab tähen-

dama, et praktiliseks otstarbeks jätkub kaunis väikesest hulgast värvilahuste modifikatsioonidest.

Kõige laiemat tarvitust leiavad mikrobioloogias metüleensinine (methylenblau), fuksiin (fuchsin) ja gentsianiviolett (Gentianaviolett). Metüleensinisega värvitud mikroobis paistavad väiksemad kui fuksiiniga ja gentsianivioletiga värvitud mikroobid, sest esimene värvib peaasjalikult endoplasmat, kuna viimased kaks ka ektoplasmat värvivad.

Lihtsad lahused. Alglahustena tarvitatakse küllastatud värvilahuseid absoluutses alkoholis. Nende valmistamiseks võetakse 1 g värvollust ja 10 sm^3 alcohol. absol., segatakse segi klaaskorgiga pudelis, lastakse seista 6—24 tundi toasoojuses ja kurnatakse enne tarvitust läbi paberkurna. Sääraseid lahuseid võib pika aja jooksul alal hoida pimedas kohas. Tioniin lahustub paremini lahjendatud kui absoluutses alkoholis; seepärast valmistatakse need alglahused 70—80° alkoholiga. Alglahused ei ole kõlvulised mikroobide värvimiseks, nendest valmistatakse vee-alkoholilahuseid.

Vee-alkoholilahuste valmistamiseks segatakse 1—5 sm^3 kurnatud alkoholilahust 100 sm^3 destilleeritud veega, lastakse seista 2—3 tundi ja kurnatakse läbi paberist kurna. Need lahused ei ole püsivad, neid peab iga kord enne tarvitamist filtreerima. Soovitavam on need lahused iga kord värskelt valmistada. Selleks võetakse prooviklaasi mõni sm^3 destilleeritud vett ja lisatakse juurde niipalju alglahust, et segu enam läbi ei paistaks ja värvilahuse pinnale ilmuks metalliläikega nahake.

Küllastatud veelahuste valmistamiseks segatakse 0,25 g värvollust 25 sm^3 destilleeritud veega, loksutatakse segi, lastakse mõni tund seista ja kurnatakse läbi paberist kurna. Need lahused on vähe püsivad, nad värvivad aeglaselt, kuid hästi.

Üldiselt peab tähendama, et paremini värvitud preparaadid saame siis, kui lahjendatud värvilahustega värvime kauema aja jooksul; kontsentreeritud lahused värvivad kiiresti, kuid preparaat ei ole küllalt ilus ega selge.

Kõvendatud lahused. Leeliste juurdelisamine metüleensinise lahusele transformeerib metüleensinise ja annab uued värvollused, mis värvivad väga elektiivselt ja energiliselt.

1. Loeffleri metüleensinise lahus: 30 sm^3 küllastatud alkoholilist metüleensinise lahust + 100 sm^3 sol. kal. caustic. 1:10 000, segada klaaskorgiga pudelis. See lahus on püsiv, teda võib tarvitada ka ilma filtreerimata.

2. Kühne metüleensinise lahus: 30 sm^3 küllastatud alkoholilist metüleensinise lahust + 100 sm^3 sol. ammon. carbonic. 1:100, segi segada, filtreerida enne tarvitamist. See on püsivam kui Loeffleri sinine.

3. Ziehl'i karboolfuksiin: 1 g fuksiini + 10 sm^3 alcohol. absol. + 5 g acid. carbol. cryst. + 100 sm^3 aq. destill. Alguses hõõrutakse fuksiin väikeses uhmris alkoholiga segi, lisatakse juurde acid. carbol., segatakse segi; lisatakse juurde väikeste hulkadena $^2/_3$ aq. destill., segades vahet pidamata; segu valatakse pudelisse ja uhmer loputatakse

ülejäänud veega ära. Lastakse seista 24 tundi, kurnatakse läbi paberkurna teise pudelisse ja hoitakse klaaskorgiga pudelis. See värvilahus on püsiv ja värvib intensiivselt (b. tuberculosis, eosed, spiroheedid).

Sagedasti tarvitatakse mikroobide värvimiseks lahjendatud ZIEHL'i karboolfuksiini. Selleks võetakse 1 sm^3 Ziehl'i lahust ja segatakse 3—10 sm^3 destilleeritud veega. Valmistada ex tempore, kurnata enne tarvitamist.

4. Karboolgentsianiviolett (NICOLLE): 1 g gentsianivioletti + 10 sm^3 alcoh. absol. + 2 g acid. carbolic. cryst. + 100 sm^3 aq. destill. Valmistada nagu Ziehl'i fuksiin. Lahus on püsiv; enne tarvitamist kurnata. Tarvitatakse harilikult värvimiseks Gram'i meetodi järele.

Gentsianivioleti asemel võib tarvitada metüülvioletti või jälle kristallvioletti.

5. Karbooltioniin (NICOLLE): 1 g thionini + 10 sm^3 alcoh. 80° + 1 g acid. carbol. cryst. + 100 sm^3 aq. destill. Valmistada nii kui Ziehl'i fuksiin. Lahus on püsiv; ta värvib aeglaselt, kuid preparaadid on ilusad ja selged. Tioniinil on silmapaistev elektiivsus rakutuumale ja metakromaatilised omadused.

6. Karboolmetüleensinine (KÜHNE): 1,5—2,0 g metüleensinist + 10 sm^3 alcohol. absol. + 2 g acid. carb. cryst. + 100 sm^3 aq. destill. Valmistada nii kui Ziehl'i fuksiin.

7. Karboolglütseriinfuksiin (CZAPLEWSKI): 1 g fuksiini + 5 sm^3 acid. carbol. liquef., hästi hõõruda uhmris + 50 sm^3 glycerini pur. + 100 sm^3 aq. destill. Püsiv; annab vähem sadet kui Ziehl'i fuksiin.

8. ROUX' sinine: lahus A: 1 g dahliavioletti + 10 sm^3 alcohol. absol. + 90 sm^3 aq. destill.; lahus B: 2 g metüülrohelist + 20 sm^3 alcohol. absol. + 180 sm^3 aq. destill.

Mõlemad lahused valmistatakse nii kui Ziehl'i fuksiinilahus, lastakse seista 24 tundi. Lahused A ja B segatakse segi, kurnatakse ja hoitakse kindla korgiga pudelis.

9. Aniliinivee-värvilahused (EHRLICH). Alguses valmistatakse aniliinivesi. Selleks võetakse 5 sm^3 aniliiniõli ja loksutatakse hoolega segi kollasest klaasist pudelis 100 sm^3 destilleeritud veega; lastakse seista. Tarbekorral kurnatakse sellest tarvilik hulk läbi veega märjaks tehtud paberkurna, valvates, et õlitilgad läbi filtri ei läheks (takistavad värvimist); juhtub aga see, siis peab korduvalt filtreerima. Viimast osa ühes õliga ei tohi kurna peale valada. Filtraat peab täielikult vesiselge olema.

10 sm^3 filtraadile (aniliiniveele) lisatakse juurde tilkade viisi kurnatud, küllastatud alkoholilist gentsianivioleti lahust niipalju, et lahuse peale tekiks läikiv nahake. Samuti võib valmistada värvilahust metüülvioletist, kristallvioletist, fuksiinist jne.

Need värvilahused on vähe püsivad (2—3 päeva). Parem on, kui nad enne tarvitamist 6—12 tundi seisavad, siis annavad nad vähem sadet. Enne tarvitamist peab neid filtreerima. Samuti ei ole püsiv ka aniliinivesi. Neid lahuseid võib püsivamaks teha, kui neile juurde lisame 1—2 sm^3 alkoholi iga 10 sm^3 peale. Nende värvivat jõudu võib suurendada, kui 100 sm^3 värvilahusele juurde lisame 1 sm^3 1% NaOH-lahust.

Aniliinivee-lahused ei ole paremad karboolilahustest; seepärast tarvitatakse neid viimsel ajal vähem.

Alkaalilistel metüleensinise lahustel, tioniini, toluidiini, pararosaniliini derivaatide (gentianaviolett ja methylviolett) lahustel on metakromaatilised omadused; nad värvivad mikroobide ning koerakkude osasid mitmevärviliselt (metachromasia): osa sinine või violetne, teine osa punakas-sinine või punane (volutiin, kromatiin), kolmas osa roosakas või roosa.

Teistest lihtsatest värvilahustest tarvitatakse: vesuviini- (Bismarckbraun) veelahust 1:100—1:500. Värv lahustatakse keevas vees ja filtreeritakse enne tarvitamist. Värvib hästi kudesid, halvemini mikroobe.

Eosiini-veelahus 1:500—1:1000 peale ehk 1:100 alkoholi (60°) lahus. Värvib hästi koe-elemente, ei värvi mikroobe.

Neutraalpunase (Neutralrot) veelahus 1:1000 kurnatakse enne tarvitamist.

Elusate mikroobide värvimine.

Elusate mikroobide värvimise ehk nõndanimetatud vitaalse värvimise abil on võimalik uurida mikroobirakkude ehituse peenusi, ilma et need värvimismanipulatsioonide tagajärjel muutuksid. Vitaalseks värvimiseks tarvitatakse mikroobidele mitte toksiliste värvide veelahuseid: vesuviin (METŠNIKOV), metüülrohelist (BABÈS), neutraalpunast, fuksiini, metüleensinist, toluidiinsinist jne.

PLATO ja HIMMEL tarvitasid vitaalseks värvimiseks neutraalpunase veelahust: soojas destilleeritud vees lahustatakse neutraalpunast kuni saturatsioonini; lastakse jahtuda, sellest võetakse 1 sm^3 ja segatakse 100 sm^3 0,85% NaCl-lahusega. Mikroobide suspensioonist võetakse üks tilk esemeklaasi peale, kaetakse kateklaasiga ja viimase serva alla lastakse tilk värvilahust, kust viimane kapillaarsuse tagajärjel klaaside vahele tungib ja mikroobe värvib. Võib esemeklaasile võtta ka tilga mikroobide suspensiooni, sellele juurde lisada väikese tilga värvilahust, segi segada pipeti otsaga, katta kinni kateklaasiga ja vaadata mikroskoobi varal. Selle meetodiga ei ole võimalik kõiki mikroobe värvida.

NAKANISHI tarvitas vitaalseks värvimiseks järgmist meetodit: puhta esemeklaasi peale kallatakse keeva metüleensinise küllastatud veelahust. Värv lastakse ära kuivada ja pühitakse rätikuga klaasi pealt ära, nii et klaas taevakarva sinise värvi omandaks. Seda korratakse tarbekorral 2—3 korda. Siis võetakse puhta kateklaasi peale tilk mikroobide suspensiooni ja kaetakse sellega värvitud esemeklaas. Selle meetodi järele laseb end värvida enamik mikroobe. Vaadates säärast preparaati mikroskoobis näeme, kuidas mikroobiraku üksikud elemendid mitmesuguse kiirusega ja intensiivsusega värvuvad.

Vitaalvärvimist võib ka sel teel toimetada, et me mikroobide suspensiooni rippuvale tilgale juurde lisame väikesel määral üht või teist värvilahust.

Protozoide vitaalseks värvimiseks on kõlvulised järgmiste värvide veelahused: neutraalpunane, metüleensinine, vesuviin, nilblau, brillant-kresylblau. 1% alglahustest lisandatakse aasaga 3—4 sm^3 veele niipalju, et see paistaks vaevalt värvituna (umbes 1 : 100 000). Värvimist toimetatakse rippuvas tilgas ja see kestab 1—24 tundi. Protozoidelt värvi äravõtmiseks mahutatakse nad puhtasse vette.

Fikseeritud preparaatide värvimine.

Fikseeritud preparaatide värvimiseks tarvitatakse peaasjalikult kaht värvimismeetodit: 1. lihtsat värvimist ja 2. värvimist Gram'i meetodi järele. Tarbekorral tarvitatakse spetsiaalseid värvimismeetodeid: kihnude, eoste, viburite jne. värvimiseks.

Lihtne värvimine. Vedelaist uuritavaist aineist (puljongikultuur, mikroobide suspensioon, veri, mäda jne.) võetakse 1 tilk plaatina-aasaga ja määritakse laiali puhta eseme- või kateklaasi pinnale (1—2 sm^3). Määritud kiht peab olema õhuke ja võimalikult ühtlane. Kui on karta, et aasaga määrimise puhul võivad vigastuda või purustuda mikro-organismid ja teised elemendid, siis määritakse võetud tilk laiali teise klaasi servaga.

Kõvadel söötmetel kasvavaist kultuuridest valmistatakse preparaat järgmiselt: klaasi peale võetakse tilk vett; aasaga või nõela otsaga võetakse kultuurist mikroobe ja segatakse veega suspensiooniks. Suspensioonitilk määritakse laiali õhukese kihina.

Uuritavate organite (maks, põrn jne.) küljest rebitakse steriilse pintsetiga väike tükike ja määritakse sellega klaasi pinda või klaasiga litsutakse organitüki pinna vastu.

On uuritav aine tahke või koguni kõva, siis peab seda enne leotama destilleeritud vees, 0,85% NaCl-lahuses või jälle kal. caustic. lahuses.

Limasest, raskesti määritavast ainest (röga, mõned mikroobikultuurid jne.) võetakse pintsetiga osa esemeklaasi peale ja litsutakse teise klaasiga laiali; siis tõmmatakse neid liugemisi üksteise küljest lahku. Sisaldab uuritav aine palju rasva (või, rasv), siis peab seda enne eetriga ekstraheerima.

Kasvab kõva söötme pinnal hulk mikroobide pesi, siis võib pintsetiga võtta puhta kateklaasi, selle panna söötme pinnale, kergelt peale litsuda, 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 võib ühe esemeklaasi peale 6—12 kõrvutist rida aineid määrida, neid ära tähendades numbritega.

Klaasile määritud ainet peab enne värvimist õhus täielikult kuivatama. Kuivamise kiirendamiseks mahutatakse klaasid termostaati või Koch'i valmistatud vaskplekist alusele, mida soendatakse 45—50° C. Ka võib klaasi kergesti soendada Bunseni lambi tagavaratulel, segades vedelikku vahet pidamata plaatinanõelaga, et ära hoida kontsentriliste rõngaste tekkimist.

Et mikroobid ei vabaneks klaasi küljest värvimise ja loputamise korral, selleks peab ainet klaasi külge fikseerima. Harilikult toimetatakse fikseerimist kuumuse abil. Selleks tõmmatakse kateklaas (määritud pinnaga ülespoole) 2—3 korda läbi gaasi- või alkoholilambi tule, nii et see umbes 2 sek. tuleleegis viibiks. Esemeklaasile määritud aine fikseerimiseks peab klaasi niikaua soendama, kui see käeselja naha vastu puudutades kuum tunduks, aga nahka ei põletaks. Soovitavam on fikseerimist toimetada soendusekapis 120° C. kuumuses.

Kuumusega fikseerimisel on palju puudusi: värvimise ja loputamise korral vabaneb palju mikroobe (75%), mikroobid deformeeruvad, mitte täielikult kuivanud mikroobirakud rebenevad, muutuvad mikroobide värvi-vastuvõtmise omadused.

Paremaid tagajärgi annavad järgmised fikseerimisvahendid:

1. Alcohol absolutus. Klaasile kuivanud aine peale valatakse mõni tilk alkoholi, lastakse seista 2—5 min., valatakse alkohol pealt ära, ülejäänud osa hoitakse põleva tule peal ja puhutakse tuli kohe ära.

2. Alcohol absol. + aether sulfur. aa. Tilgutatakse peale mõni tilk ja lastakse ära aurata.

3. Alcohol methylic. absolut. Kallatakse peale, lastakse seista 2—3 min.; kallatakse pealt ära, kuivatatakse õhus.

Fikseerimine on kindlam, kui mahutame klaasid 15—20 minutiks alcohol. absol. ehk alcohol. methylic. sisse ja kuivatame siis õhus.

4. Formaldehüüdi aur. Hoiame õhus kuivanud preparaadi mõne sekundi jooksul formaldehüüdi aurus, siis on see hästi fikseeritud ja mikroobirakud vähe deformeeritud.

5. Osmiumihappe auruga fikseerimist tarvitatakse siis, kui ainet enne kuivamist soovitakse fikseerida. Selleks võetakse klaaskorgiga purk, selle põhja mahutatakse tassike 5 sm^3 1% osmiumihappe-lahusega, traatvõrgu peale mahutatakse klaasid rõske uuritava ainega (ainega külg allapoole) $^1/_2$—3 minutiks.

Lihtsaks värvimiseks võetakse harilikult tioniini, toluidiinsinise või metüleensinise lahused karboolivees. Need on väga elektiivsed mikroobidele, ei värvi neid liiga ja on soovitavad siis, kui mikroobid on segatud koerakkudega ehk koe-osadega. Raskesti värvitavate mikroobide värvimiseks võetakse Ziehl'i karbool-fuksiin lahjendatult 1:10 veega.

Värvimise puhul võetakse preparaat pintseti vahele, tilgutatakse peale 2—3 tilka filtreeritud värvi lahust, nii et värvilahus klaasi alumisele küljele ei läheks, lastakse seista 1—2 minutit külmalt või 10—20 sek. kergelt soendades tule peal. Peab värvimine kauemini kestma, siis mahutatakse klaasid vannikesse värvilahusesse.

Värvitud preparaati loputatakse veega, valades vett ühe serva peale, mitte aga preparaadi keskkohta, et mikroobid ära ei uhtuks.

Loputatud preparaati kuivatatakse õhus, lastes seista längus. Kuivatamise kiirendamiseks pannakse preparaat mitmekordse filtreerimispaberi vahele ja triigitakse sõrmedega. Kardetava materjaliga töötades peab sõrmede infitseerimise ärahoidmiseks paberi katma papitükikesega, mis vedelikku ühes mikroobidega läbi ei lase. Kuivatamispaber peab kohe ära põletatama.

Värvitud preparaadi väärtust määratakse eeluurimise abil. Selleks võetakse värvitud koha peale tilk destilleeritud vett, kaetakse kateklaasiga ja vaadatakse alguses kuivade süsteemidega (objektiiv 7 või 8, okulaar III või IV). Pärast võetakse kateklaasi pinnale tilk ol. lig. cedri ja vaadatakse õli-immersiooni objektiiviga. Eeluurimisel võime tähele panna mitmekesiseid vigu: 1) liiga paksult määritud aine, 2) üleliigselt fikseeritud preparaat (preparaadis praokesed) ja 3) puudulik fikseerimine, mis selles avaldub, et me näeme aineosakeste ja mikroobide passiivset liikumist või aine on osati klaasi pinnalt ära uhetud. Neid vigu ei ole enam võimalik parandada pärast värvimist. 4) Nõrgalt värvitud preparaati peab uuesti värvima, 5) üleliia värvitud preparaadi lahjendatud alkoholi, nõrkade hapete, nelgiõli või glütseriini sisse.

Peale eeluurimist kõrvaldatakse kateklaas, preparaat kuivatatakse ära, värvitud koha peale võetakse tilk ol. cedri ja uuritakse immersiooniobjektiiviga. On kateklaas esemeklaasi külge kinni jäänud, siis lastakse esimese serva peale tilk vett, mille järel kateklaas vabaneb.

Kui soovitakse preparaati alal hoida, siis pestakse õli pealt ära ksülooliga märjaks tehtud filtreerimispaberiga, kleebitakse etiketid peale ja hoitakse alal preparaadikastides, kaitstult valguse ja tolmu eest. Pärast ksülooliga pesemist võib värvitud koha peale võtta tilk neutraalse reaktsiooniga kaanada palsamit ja katta puhta kateklaasiga.

GIEMSA soovitab värvitud preparaatide konserveerimiseks paraffiiniõli: värvitud koha peale võetakse tilk õli, kaetakse kateklaasiga, litsutakse seda vastu esemeklaasi, filtreerimispaberiga imetakse üleliigne õli ära ja servad joodetakse kinni vahaga või 10% želatiiniga (juurde lisada 1% karboolhapet).

Värvimismanipulatsioonide puhul peab meeles pidama klaasipinda, kuhu määriti uuritav aine. Selle ülesleidmiseks kriimustatakse preparaadi servasid terava nõelaga, mille tagajärjel määritud kohal joonekesed ilmuvad. Eksitusevõimaluse ärahoidmiseks hoitakse preparaat alati niiviisi Cornet' või Debrand'i pintsettide vahel, et määritud külg vastaks pintseti ühe haru küljes olevale augule või nööbikesele.

Gram'i värvimismeetod.

Chr. GRAM leidis (1884. a.), et kui värvida mikroobe baasiliste aniliinvärvidega pararosaniliini grupist (gentianaviolett, methylviolett ja victoriablau) aniliinivee- või karboolhappe-lahustes, ja kui toimida pärast nende peale jood-joodkaaliumi lahusega, siis ei dekoloreeru ühed mikroobid absoluutse alkoholi toimel, kuna teised mikroobid kiiresti dekoloreeruvad. Jood annab pararosaniliinidega uue ühendi (joodpararosaniliin), mis fikseerub väga energiliselt ühtede mikroobidega ja ei fikseeru teistega. Ühtedel mikroobidest on suur affiinsus joodpararosaniliinile, teistel aga puudub seesugune omadus.

Üldaltähendatud nähtust silmas pidades jaotatakse mikroobid kahte liiki: 1) mikroobid, kes värvuvad Gram'i järele (Gram-positiivsed), kui

nad joodpararosaniliini püsivalt kinni hoiavad; 2) mikroobid, kes ei värvu Gram'i järele (Gram-negatiivsed), ja kes alkoholi toimel värvi kiiresti ära annavad. Kauakestva alkoholi toimel annavad ka Gram-positiivsed mikroobid oma värvi ära.

Gram'i meetodiga värvides võib sagedasti tähele panna, et mikroobiraku üksikud osad värvi püsivalt kinni hoiavad, kuna teised osad seda kergesti ära annavad. Säärasel korral näeme mikroobirakus värvitud teri.

BRUDNY ja EISENBERG arvavad, et Gram'i värvimine oleneb mikroobi plasma ja kesta permeabiliteedist. HOTTINGER arvab, et nukleoproteiidid on need ained, mis joodpararosaniliini mikroobirakus kinni hoiavad. Gram-positiivsete mikroobide rakus on nukleoproteiidid kas ühetaoliselt jaotatud või kokku koondatud teradena (granula). Gram-negatiivseis mikroobides on nukleoproteiidide terakesed sedavõrt väikesed, et me neid ainult kinnise kondensoriga või nõrgema valgustuse korral vaevalt värvilistena näha võime.

Ühed mikroobidest on igal tingimusel Gram-positiivsed (b. anthracis, staphylococcus aureus), teised alati Gram-negatiivsed (vibrio choler. asiat., gonococcus, b. pestis), kolmandad on ühel juhtumusel Gram-positiivsed, teisel jälle Gram-negatiivsed (b. vulgare). Viimane nähtus oleneb sagedasti mikroobikultuuri vanusest, söötme koosseisust ja paljudest teistest faktoritest.

Värvimist Gram'i meetodi järele toimetatakse järgmiselt:

1. Uuritav aine määritakse eseme- või kateklaasile, kuivatatakse ja fikseeritakse, nii kui sellest kuulsime lihtsa värvimise puhul.

2. Värvitakse karboolgentsianivioletiga ehk aniliinivee gentsianivioletiga (EHRLICH) 1—2 min.

3. Värvilahus valatakse ära (mitte veega loputada!) ja kallatakse peale Grami või Lugoli lahus: jodi puri 1,0 g + kal. jodati 2,0 g + aq. destill. 300,0 sm^3, lastakse toimida 30 sek.—1 min.

Lugoli lahuse valmistamiseks võetakse 5 sm^3 aq. destill., lahustatakse selles 2 g kal. jodat., lisatakse juurde 1 g jodi puri, sulatatakse ära ja lisandatakse vähehaaval ülejäänud 295 sm^3 aq. destill.

4. Lugoli lahus valatakse ära. Preparaat hoitakse längus ja tilgutatakse peale alcohol. absol., 95° alcohol või järgmist Nicolle lahust: 5 osa alcohol. absol. + 1 osa acetoni; pesemisvedelik muutub violetseks; pesema peab niikaua, kui preparaat enam värvi ära ei anna, 20 sek.—1 min.

See moment (dekoloratsioon) on kõige delikaatsem ja nõuab vilumust. Tema kestus oleneb värvilahusest, värvimise intensiivsusest, mikroobide hulgast jne. Head tagajärjed olenevad värvija osavusest, mis omandatakse proovimise teel.

5. Pesta kiiresti veega.

Sellega on Gram'i meetod lõpul ja preparaati võib uurida mikroskoobis, kusjuures Gram-positiivsed mikroobid paistavad tumevioletsetena. Gram-negatiivsete mikroobide uurimine on siin raskendatud; et seda võimaldada, tarvitatakse järelvärvimist.

6. Järelvärvimiseks võetakse kas lahjendatud Ziehl'i fuksiini (1 : 8—1 : 10), millega värvimine kestab 10—30 sek., vesuviinilahust — 10 — 20 sek., pikrokarmiini — 2—10 min.

7. Loputada veega. Kuivatada. Uurida.

Gram-positiivsed mikroobid on tumevioletsed, Gram-negatiivsed mikroobid omandavad järelvärvimiseks tarvitatud lahuse värvi.

Grami värvimismeetodi kohta peab veel järgmist tähendama: Lugoli lahus peab värske olema. Kultuuridest saadud mikroobide värvimiseks ja alkoholiga dekoloreerimiseks jätkub 30 sekundist; röga, mäda, vere jne. uurimise puhul peab seda aega kuni 1 min. pikendama. Tihti leiame värvitud preparaadis tumevioletseid terakesi, mis tunnistust annab, et värvilahus oli liiga värske või alkohol toimis liiga lühikest aega.

Grami meetodi järele on värvitavad: suurem osa kokkidest (staphylococcus, streptococcus, enterococcus, pneumococcus, mikrococcus tetragenus), pea kõik eostega aeroobsed batsillid (b. anthracis), anaeroobidest: b. tetani, vibrion septique, ilma eosteta batsillidest mõned liigid: proteus (mitte kõik), b. diphtheriae, b. tuberculosis, b. leprae, b. pseudotuberculosis, b. pseudodiphtheriae, actinomyces, saccharomyces, soor, sarcina jne.

Gram-negatiivsed on kokkidest: gonococcus, meningococcus, micrococcus catarrhalis ja mõned streptokokid, enamus ilma eosteta batsillidest ja spirillaceae liik, b. typhi, b. paratyphi, b. coli, b. dysenteriae, b. pestis, b. mallei, b. influenza, pneumobaccillus Friedländer'i, b. pyocyaneus, streptobacillus, vibrio cholerae asiat., spirillid, spiroheedid jne.

Claudius'e värvimismeetod.

See meetod annab sagedasti paremad resultaadid kui Gram'i oma. Siin on kõrvaldatud vigade võimalus, kui vähe vilunud värvija ei oska alkoholi toime kestust õigelt reguleerida. Claudius'e meetodiks on tarvis: 1) metüülvioleti veelahus 1 : 100 (võib võtta ka karboolhappe gentsianivioleti lahust); 2) sol. acidi picronitr. concentr. aquos. 1 osa + aq. destill. 1 osa.

Värvimist toimetatakse järgmiselt:

1. Preparaat valmistada nii kui harilikult.
2. Värvida metüülvioleti lahusega 1 min.
3. Loputada veega.
4. Lasta toimida pikriinhappe lahust 1 min.
5. Pikriinhappe-lahus ära imeda filtreerimispaberiga.
6. Mahutada kindla kaanega klaasvanni kloroformi sisse niikauaks, kui värvi eraldub.
7. Pesta kiiresti ksülooliga; kuivatada; uurida.

Happekindlate (happeresistentsete) mikroobide värvimine.

EHRLICH pani tähele, et mõned mikroobid (nõndanimetatud happekindlad ehk happeresistentsed mikroobid) lasevad endid raskesti värvida baasiliste aniliinvärvidega; on nad aga juba värvitud, siis

hoiavad nad värvi energiliselt kinni ja ei anna seda ära mineraalhapete toimel (b. tuberculosis, b. leprae jne.). Sääraste mikroobide värvimiseks tarvitatakse energiliselt värvivaid lahuseid, lastes neid toimida pikema aja jooksul ja suurendades värvilahuse toimet soendamise abil. Mahutame värvitud preparaadi lahjendatud hapetesse, siis hoiavad värvi kinni ainult happekindlad mikroobid. Säärane mikroobide omadus oleneb nähtavasti vaha- või rasvollusest, mis happekindlaid mikroobe ümbritseb või nende rakuprotoplasmas viibib. Mõned nendest on happe- ja alkoholiresistentsed: b. tuberculosis, b. leprae, sõnniku- ja timutheina-batsillid (MOELLER), või- ja piimabatsillid (BINOT, KORN, TOBLER, BECK, RABINOVITŠ, MOELLER), teised on ainult happeresistentsed: smegmabatsillid (kõrvavaigus, ninalimas, mädas, koolnuis jne.).

I. Ziehl-Neelsen'i meetod:

1. Uuritav aine määritakse klaasile, kuivatatakse ja fikseeritakse.
2. Värvitakse kurnatud Ziehl'i karboolfuksiiniga, soendades tule peal 5—10 min., kuni auru ilmumiseni.
3. Värvilahus valatakse ära ja kallatakse preparaadile peale 5% H_2SO_4 ehk 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.

Kui klaasile määriti happekindlate mikroobide kultuuri, siis jääb preparaat punaseks.

5. Loputada veega.
6. Järel värvida Loeffleri metüleensinise lahusega lahjendatult veega 1 : 3, 10—20 sek.
7. Loputada veega; kuivatada; uurida.

Happekindlad mikroobid punased, teised sinised.

II. Jötten-Haarmann'i meetod:

1. Värvida Ziehl'i karboolfuksiini lahusega, nii kui ülal kuulsime.
2. Dekoloreerida 15% HNO_3 umbes 20 sek.
3. Kiiresti loputada veega, veel kord 15% HNO_3 10 sek.
4. Veega loputada.
5. Peale kallata 30 sekundiks järgmist lahust:

Sol. acid. picronitr. aquos. concentr. 1 osa + alcoh. absol. 1 osa.

6. Loputada veega; kuivatada; uurida.

Happekindlad mikroobid on punased, tagasein kollane.

III. Konrich'i meetod:

1. Värvida kuumalt Ziehl'i karboolfuksiiniga, mitte keeta, $^1/_2$—2 min.
2. Veega hoolsasti loputada.
3. Dekoloreerida 10% naatriumsulfiidi veelahusega, kuni värv ära kaob.

Naatriumsulfiidi lahus peab värske olema, sest see aine võib kiiresti muutuda naatriumsulfaadiks, mis ei toimi dekoloreerivalt.

4. Veega loputada.

5. Järel värvida lahjendatud Loeffleri metüleensinisega või malahiitrohelise lahusega, 15—30 sek.

IV. Kronberger'i meetod:

1. Värvida Ziehl'i karboolfuksiiniga, kergesti soendades kuni auru ilmumiseni, 1—2 min.

2. Dekoloreerida 15% HNO_3 umbes 30 sek.

3. Loputada 60% alkoholiga.

4. Tinct. jodi (1 : 10 alkoholis 90%) lahjendatult 4 osa 60% alkoholiga, mõni sekund.

5. Pesta kõva veevooluga; kuivatada tule peal; uurida. See meetod on hea happekindlate mikroobide struktuuri uurimiseks.

Eeoste värvimine.

Pärast harilikkude värvilahuste toimet jäävad eosed värvimatuks ja paistavad heledate punktidena värvitud mikroobirakkudes. Eoseid on raske värvida, sest neid ümbritseb tihe ja resistentne kest, mis värvi läbi ei lase. Eoseid võib värvilahustele vastuvõtlikkudeks muuta, kui: 1) hoida neid autoklaavis 120° C. kuumuses 1 tunni jooksul (BUCHNER); 2) mõjuda kuiva kuumusega, tõmmates preparaati 10 korda läbi Bunseni lambitule (HUEPPE); 3) peitsida enne värvimist mitmekesiste keemiliste lahustega.

Värvitud eosed hoiavad värvi kõvemini kinni kui mikroobiraku teised osad; sellepärast on nad resistentsed dekoloreerivate olluste toimele. Seesugune omadus võimaldab kahekordse värvimismeetodi tarvitamist. Dekoloreerimiseks tarvitatakse samu lahuseid kui happe-resistentsete mikroobide värvimise korral.

Möller'i meetod:

1. Uuritav aine määrida klaasile. Kuivatada. Fikseerida tule peal või absoluutse alkoholiga. Kloroformi sisse 2 minutiks. Kuivatada.

2. Peale valada mõni tilk 5% sol. acid. chromic. 5 sek. — 10 min. Aega peab iga mikroobitõu tarvis enne ära proovima.

3. Veega pesta.

4. Värvida Ziehli karboolfuksiiniga, soendades kuni keemiseni, 1 minut.

5. Differentseerida 5% H_2SO_4 5—10 sek.

6. Veega pesta.

7. Järel värvida metüleensinise veelahusega 3 min.

8. Veega pesta.

9. Kuivatada; uurida.

Eosed on punased, mikroobirakud sinised.

Fraenkel'i meetod:

1. Preparaat kuivatatakse õhus ja fikseeritakse tule peal.

2. Valatakse peale üks järgmistest peitsidest ja soendatakse kuni keemiseni 2—3 korda järjestikku. Peitsid: 1) 5% sol. acid. carbolic.;

2) 20% sol. acid. tannic.; 3) 10% sol. kal. bichromic. + 5% acid. chromic. ää.

3. Destilleeritud veega pesta ja vesi ära kuivatada filtreerimispaberiga.

4. Värvida Ziehli karboolfuksiiniga, soendades 1—2 korda keemiseni.

5. Differentseerida 5% H_2SO_4, kuni värv ära kaob.

6. Veega pesta.

7. Järel värvida lahjendatud metüleensinise lahusega.

8. Veega pesta; kuivatada; uurida.

Eosed punased, mikroobirakud sinised.

Eoste uurimiseks võib tarvitada järgmist lihtsat värvimismeetodit:

1. Tule peal fikseeritud preparaadile valada 5% sol. acid. chromic. 5 min.

2. Veega pesta.

3. Värvida Ziehli karboolfuksiiniga, soendades kuni keemiseni, 1 minut.

4. Veega pesta; kuivatada filtreerimispaberiga.

5. Preparaadile võtta üks tilk hiina tuši, laiali tõmmata teise klaasi servaga.

6. Kuivatada õhus; uurida.

Eosed punased, mikroobid on värvimata, tagasein must.

Kihnude (kapslite) värvimine.

Kihnude värvimine õnnestub kõige paremini elusas organismis või organismivedelikke sisaldavas söötmes kasvanud mikroobide juures. Kihnude uurimiseks peab värvitud preparaati vees vaatama; siis paistavad kihnud selgemalt kui ol. cedri's või kaanada palsamis.

Kihnude värvimismeetoditest nimetame siinkohal ainult üksikud:

Johne meetod:

1. Fikseeritud preparaati värvida 2% gentsianivioleti või metüülvioleti veelahusega, soendades auruni, 1—2 min.

2. Veega pesta.

3. Dekoloreerida 1—2% äädikhappega 6—10 sek.

4. Veega loputada, katta kateklaasiga ja uurida vees.

Kihnud helevioletsed, mikroobid tumevioletsed.

Aoki meetod:

1. Õhus kuivanud preparaati värvida 1% metüleensinise veelahusega, kergelt soendades, 2 min.

2. Veega loputada.

3. Värvida lahjendatud 1:5 Ziehli karboolfuksiiniga 5—30 sek.

4. Veega loputada; kuivatada; uurida.

Kihnud punased, mikroobid sinised.

Tušimeetod:

1. Puhta esemeklaasi ühe otsa peale võetakse tilk tuši, segatakse juurde aasatäis uuritavate mikroobide suspensiooni ja tilk tõmmatakse laiali teise klaasi servaga.

2. Õhus kuivanud preparaati fikseeritakse küllastatud $HgCl_2$ (sublimaat) veelahusega 1 min.
3. Veega pesta.
4. Värvida 2% gentsianivioleti veelahusega, kergelt soendades, 2 min.
5. Veega pesta; õhus kuivatada; uurida.
Mikroobid violetsed, kihnud värvita tumedal põhjal.

Kiire meetod:

1. Preparaat kuivatatakse õhus ja fikseeritakse.
2. Värvida Ziehli karboolfuksiiniga 1 minut.
3. Veega pesta.
4. Differentseerida 1% acid. acetic. 20—30 sekundit.
5. Veega pesta; kuivatada; uurida.
Mikroobid täielikult punased, kihnud roosad.

Viburite värvimine.

Üldised tingimused: 1) viburite värvimiseks peab võtma mikroobe, kes on kasvanud 12—18 tundi kõige soodsamais tingimusis agaarisöötmel (mitte vedelais söötmeis); 2) uuriklaasi peale võetakse harilikku vett (mitte destilleeritud vett) ja valmistatakse selles mikroobide ühtlane suspensioon, mis paistaks vaevalt hägune; 3) absoluutselt puhtale kateklaasile võetakse tilk suspensiooni; kateklaas lastakse längu ühte- ja teistpidi, et suspensiooni klaasipinnale laiali ajada; pipetiga imetakse ära üleliigne osa vedelikku, mis koondub klaasi alumisele nurgale; 4) lasta kuivada toasoojuses, kaitstult tolmu eest; mitte fikseerida; 5) mikroobid peavad viibima isoleeritutena preparaadil ja nendega ühes ei tohi klaasile sattuda söötme osasid.

Värvimise puhul peab preparaati hoidma näpitsate vahel, sest sõrmedega klaasi puutumise korral võib värvisade tekkida. Viburite värvimisel etendab tähtsat osa peitsimine, mis teeb vibureid värvile vastuvõtlikuks.

Viburite värvimise meetodeid on palju; nendest toome siinkohal ainult need, mis annavad kõige kindlamaid resultaate ja on tehniliselt lihtsamad.

Kiyoshi-Jokota meetod (vähe muudetud):

1. Agaarikultuurist (18—24 tundi) valmistada suspensioon 0,85% NaCl-lahuses; tsentrifugeerida 30 min. elektritsentrifuugis; pealmine vedelik ära võtta pipetiga; sade ettevaatlikult segi loksutada 0,85%-NaCl-lahusega; juurde lisada $^1/_2$—1% formaliini, kergelt segada.
2. Aasatäis suspensiooni määritakse täielikult puhtale kateklaasile.
3. Kuivatada õhus.
4. Preparaati fikseerida kahekordse tulest läbitõmbamisega.
5. Kateklaas mahutatakse uuriklaasi määritud pinnaga allapoole; kallatakse peale keev peits ja lastakse seista, kuni peits muutub häguseks.
Peits: 5% sol. acid. tannic. aquos., lisatakse juurde sol. tartar. stibiat. concentr. niipalju, et lahus keetes selgeks ja jahtudes mõne minuti jooksul häguseks muutuks.
6. Hästi veega pesta, kuivatada filtreerimispaberiga.

7. Värvida soendades keemiseni 1 min. jooksul lahusega:
Sol. fuchsini spirit. conc. 1,0
Aq. destill. 30,0
8. Pesta veega; kuivatada; uurida.

Van Ermengem'i meetod: annab väga head resultaadid ja põhjeneb argent. nitric. reduktsioonil, mis fikseerus viburitega.

1. Kateklaas ühes külgekuivanud mikroobidega mahutatakse 30 minutiks külma või 5 minutiks 50—60° C. sooja lahusesse: 2% sol. acid. osmic. aquos. 8 sm^3 + 10—20% sol. acid. tannic. aquos. 16 sm^3 + acid. acetic. glacial. 1 tilk. Enne tarvitamist peaks lahus mõni päev seisma.
2. Pesta hoolega aq. destillat., pärast absoluutse alkoholiga.
3. Mahutada 15—30 sekundiks 0,5—1,0% $AgNO_3$ veelahusesse.
4. Ilma veega loputamata mahutatakse 1 minutiks järgmisesse lahusesse: acid. gallic. 5,0 + tannini 3,0 + natr. acet. fus. 10,0 + aq. destill. 350 sm^3.
5. Ilma pesemata mahutada tagasi argent. nitric. lahusesse (3) ja liigutada selles niikaua, kui lahus mustjaks hakkab muutuma.
6. Hästi pesta veega. Uurida. Kui viburite värvumine ei ole küllalt intensiivne, siis korratakse 4—6.
7. Kuivatada. Kaanada palsam. Uurida.

Mikroobid ja viburid mustad. Kui võimalik, siis peab töötama päevavalges.

Nicolle-Morax'i meetod (Loeffler'i lihtsustatud meetod):

1. Preparaadile võetakse suur tilk järgmist peitsi: 10 sm^3 20% sol. acid. tannic. (20,0:80,0) + 5 sm^3. Külmalt küllastatud ferrosulfaadi veelahust + 1 sm^3 küllastatud fuksiinilahust absoluutses alkoholis; soendada kuni auru ilmumiseni $^1/_4$—$^1/_2$ min.
2. Hoolega pesta, hoides kateklaasi längus ja lastes vett joosta ülemise nurga peale, et mikroobid ära ei uhtuks.
3. Peitsimist ja pesemist korrata 2—3 korda.
4. Pesemise järel kuivatatakse kateklaasi alumist pinda ja näpitsate harusid, et neid täielikult puhastada peitsist.
5. Kateklaasile võetakse Ziehli karboolfuksiini, soendada 1—2 korda kuni auru ilmumiseni, 10—15 sek.
6. Pesta veega; uurida vees; kui preparaadi värvimine on õnnestunud, kuivatada, katta kaanada palsamiga ja uurida.

Ernst Babès'i polaarsete terade värvimine.

Mitmekesiste värvimismeetoditega võib nähtavaks teha bakterite rakus metakromaatilisi või nõndanimetatud polaarseid terakesi. Kõige selgemini esinevad need terad, kui värvime 12—18 tunni vanust difteriabatsillide kultuuri, kuna nad vanades kultuurides võivad puududa. Peale selle leiduvad metakromaatilised terad pseudodifteria ja paljude teiste batsillitõugude rakkudes.

Neisser-Gins'i meetod:

1. Preparaati fikseerida tule peal.

2. Värvida 3—10 sek. jooksul värvilahusega, mis sisaldab kaks osa lahust: 1,0 g methylenblau (Höchst) + 20,0 sm^3 alcohol. absolut. + 50,0 sm^3 acid. acetic. glacial. + 1000,0 sm^3 aq. destill. ja üks osa lahust: 1,0 g kristallvioletti + 10,0 sm^3 alcohol. absolut. + 300,0 sm^3 aq. destill.

3. Pesta destilleeritud veega.

4. Kallata peale Lugoli lahust, millele on juurde lisatud 1% acid. lactic., 3—5 sek.

5. Pesta destilleeritud veega.

6. Järel värvida lahusega: chrysoidini või vesuviini 2 g + aq. destill. 300 sm^3 (kuumalt lahustada!), 10—15 sek.

7. Pesta destilleeritud veega.

8. Kuivatada; uurida.

Ernst-Babès'i terakesed on tumesinised või mustad, batsillid helepruunid.

Mikroorganismide rakusisaldiste värvimine.

Tuuma ja tuumaterade värvimine:

1. Preparaat kuivatatakse õhus ja ei fikseerita.

2. Värvida 1—24 tunni jooksul järgmise lahusega: 0,25 g methylgrün + 1,0 sm^3 acid. acetic. glacial. + 100,0 sm^3 aq. destill.

3. Pesta veega ja uurida vees.

Preparaat ei ole püsivalt värvitud ja teda võib ainult vees uurida.

Mikroobide rasva värvimine:

1. Õhus kuivanud preparaati fikseeritakse kergelt tules.

2. Värvida kauema aja jooksul järgmiste lahustega: 1% sol. acid. osmic. aquos. — rasvaine mustjaspruuni värvi; sudan III küllastatud lahus 96° alkoholis või kontsentreeritud piimahappes — rasv heleoranži värvi; tinct. alcannae — rasv punakat värvi; amylenhydrat-pyridin — sudan III lahus (Kahlbaum) Czapek'i järele — rasv punakat oranži värvi.

Rasvaõlisid võib differentseerida eetriõlidest chloralhydrat'i lahusega (5,0 g chloralhydrati + 2,0 sm^3 aq. destill.) või 96° alkoholi abil: eetriõlid lahustuvad täielikult, rasvaõlid lahustuvad vähe või ei lahustu sugugi.

Glükogeeni ja granuloosi (cellulosa) värvimine:

Kateklaasile võetakse tilk mikroobide suspensiooni ja lisatakse juurde väike tilk Lugoli lahust; uurida rippuvas tilgas: valk—kollane, glükogeen — pruunikaspunane, granuloos — taevakarva sinine.

Tselluloosi võib veel järgmiselt tõestada: fikseeritud preparaadi peale kallatakse lahust: 1,0 g jodi puri + 3,0 g kal. jodat. + 60 sm^3 aq. destill. ja selle järel väävelhapet (2 osa H_2SO_4 + 1 osa aq. destill.). Tselluloos — taevakarva sinine. Alguses proovida hügroskoopilise puuvillaga; kui ei õnnestu, siis peab muutma H_2SO_4 kontsentratsiooni.

Spiroheetide värvimine.

Ühed spiroheedid lasevad endid kergesti värvida harilikkude värvilahustega: spiroch. bronchialis, spiroch. dentium—Loeffleri metüleensinisega; spiroch. Obermeieri—karboolfuksiiniga; teised ei võta värvi kergesti vastu. Et neid värvile vastuvõtlikuks muuta, peab tarvitama mitmekesiseid peitsisid ja suurendama värvilahuse toimet.

Spiroheetide värvimismeetodeid on palju; nendest nimetame siinkohal meetodid, mis annavad paremaid tagajärgi.

Hoffmann'i meetod:

1. Uuritav materjal määritakse õhukese kihina klaasile ja fikseeritakse osmiumhappe auruga $^1/_2$—1 min.
2. Värvitakse 12—24 tundi värskelt valmistatud lahjendatud Giemsa lahusega: 40 sm³ aq. destill. + 5—10 tilka 1% sol. kal. carbonic. + 50—60 tilka Giemsa lahust. Värvilahus kallatakse Petri kaussi, preparaat pannakse määritud pinnaga allapoole ühe otsaga klaasist pulgakese peale ja kaetakse pealt kinni kausi kaanega.
3. Pesta destilleeritud veega.
4. Dekoloreerida 25—30% sol. acid. tannici 1—2 min.
5. Pesta veega; kuivatada; uurida.

Spiroheedid punakasroosad.

Becker'i meetod (kiire meetod):

1. Preparaati kuivatada õhus.
2. Korduvalt (3—4 korda) peale valada ja ära kallata lahust: 1,0 sm³ acid. acetic. + 20,0 sm³ formalini + 100,0 sm³ aq. destill., 1 min. jooksul.
3. Pesta veega 20—30 sek.
4. Peitsida 20 sek. jooksul, soendades kuni auruni, lahusega: 1,0 sm³ acid. carbol. + 10,0 g acid. tannic. = 100,0 sm³ aq. destill.
5. Pesta veega 30 sek.
6. Värvida Ziehli karboolfuksiiniga, soendades kuni auruni, $^1/_2$—$^3/_4$ min.
7. Pesta veega; kuivatada; uurida.

Spiroheedid punased.

Fontana-Tribondeau hõbetamismeetod (vähe muudetud):

1. Uuritav materjal määrida õhukese kihina klaasile; kuivatada õhus; fikseerida 3—5 min. lahusega: 50,0 sm³ alcohol. absolut. + 0,5 sm³ acid. acet. glacial.
2. Korduvalt (3—4 korda) peale valada ja ära kallata Ruge lahust, kuni täielikult ära sulab aines viibiv hemoglobiin, mis hõbetamist võib takistada.

Ruge lahus: 1,0 sm³ acid. acetic. glacial. + 2,0 sm³ formalini (40%) + 100,0 sm³ aq. destill.

3. Pesta 96° alkoholiga, hoides preparaati längus. Klaasi külge jäänud alkohol põlema lasta ja kohe kustutada puhumise teel.
4. Preparaadile kallata peitsilahust, soendada väikese tule peal kuni auru ilmumiseni, kuid mitte keemiseni; tule pealt ära võtta ja hoida 30 sek.

Peits: 1,0 g acid. tannic. + 20,0 sm³ aq. destill. Lahustada kuumas vees, juurde lisada väike tükk kamprit konserveerimiseks.

5. Pesta hoolega hariliku veega 30 sek. Loputada destilleerit. veega.

6. Peale kallata Fontana hõbeda lahust, lasta seista külmalt, kuni preparaat omandab pruunika värvi (30—60 sek.); ära kallata ja uus lahus peale valada; soendada väikese tule peal kuni auruni; tulelt ära võtta ja seista lasta, kuni preparaat omandab metallilise läikega pruuni värvi, 15—30 sek.

Fontana lahus: 1,0 g argent. nitric. cryst. + 20,0 sm^3 aq. destill. lahustada külmalt, lisada juurde tilkade viisi ammoniaaki, segi segada klaasist kepikesega; tekib pruunikas pretsipitaat, mis pärast kiiresti kaob; ammoniaaki peab niipalju juurde lisama, et lahuses veel vähe sadet oleks ja lahus paistaks opalestseeruv. Kui lahus muutus täielikult selgeks, siis peab juurde lisama 1% sol. argent. nitric. kuni opalestsentsi ilmumiseni.

7. Pesta 10—15 sek. destilleeritud veega. Kuivatada. Uurida. Spiroheedid on kollakaspruuni või mustjaspruuni värvi.

See meetod on lihtne, kiire ja annab väga head resultaadid.

Metüleensinise derivaadid ja Romanowsky meetod.

Mitmekesiste leeliste toimel vabaneb metüleensinisest (tetramethylthioninchlorhydrat) sinine baas (tetramethylthionin) ja transformeerub osalt oksüdatsiooni tagajärjel kaheks uueks kehaks: methylenazur'iks ja methylenviolett'iks. Säärane transformatsioon toimub aeglaselt toasoojuses, kiiremini soendamise tagajärjel ja mõne minuti jooksul keemistemperatuuris. Ammoniaagiga, kal. caustic., natr. caustic., natr. carbonic., kal. carbonic, borax'iga jne. läbitöötatud metüleensinise lahuses leiduvad: muutumata metüleensinine, methylenazur ja methylenviolett, segu, mida sagedasti polükroomsiniseks nimetatakse. Tähendatud komponentide proportsioon oleneb leelise iseloomust, temperatuurist, koosviibimise ajast jne.

Methylenazur ja methylenviolett värvivad spetsiifiliselt metazoide ja protozoide rakutuuma kromatiini ainult siis, kui nad on segatud metüleensinisega või eosiiniga. Puhtalt ei leia nad tarvitust värvimistehnikas.

Kui me lisandame kauemat aega seisnud metüleensinise veelahusele ehk ühele või teisele leelisega segatud lahusele kloroformi, siis muutub see punaseks (azur'i ja violeti segu); kordame sama proovi värske metüleensinise veelahusega, siis ei värvu kloroform.

Azur'i ja violetti valmistas puhtalt esimesena Giemsa. Praegusel ajal ei ole enam tarvis neid olluseid valmistada puhtas olekus, vaid valmistatakse transformeerunud metüleensinise lahused ja kombineeritakse neid eosiiniga, mis paremaid resultaate annavad kui endised lahused.

Polükroomsiniste valmistamise viisid on väga mitmekesised. Kirjeldame siinkohal ainult tähtsamaid.

Loeffleri ja Kühne leelised metüleensinise lahused, millest kõne oli ülalpool, kujutavad polükroomsiniseid.

Polychrom-Unna:

1. Valmistada lahus: 1,0 g methylenblau (purissimum) + 1,0 g kal. carbonic. + 20,0 sm³ alcohol. 90° + 100,0 sm³ aq. destill.

2. Keeta vesivannis ja aurutada niikaua, kui 100,0 sm³ järele jääb. Kurnata läbi filtreerimispaberi.

Mikro-organismide värvimiseks on soovitav tarvitada lahjendatud värvi. Selleks võetakse: Polychrom-Unna 20 sm³ + acid. carbol. cryst. 1,0 gr + 90° alcoholi 10,0 sm³ + aq. destill. q. s. ad. 100,0 sm³.

Värvimist toimetatakse nii kui Loeffleri sinisega.

Manson'i sinine: 5 g borax + 2 g methylenblau (purissimum) + 100 sm³ aq. destill.; keeta vesivannis 5 min. jooksul. Kurnata läbi paberi. Värvida nii kui harilikkude värvilahustega. Parem on tarvitada lahjendatult destilleeritud veega 1 : 2 — 1 : 4 peale.

Ammoniaagi polychrom:

1. 100 sm³ metüleensinise veelahusele 1 : 100 lisatakse juurde 5 sm³ ammoniaaki. Keeta vesivannis 5 minuti jooksul; lasta jahtuda; ilma segi loksutamata eraldada pealmine vedelik, mis sisaldab methylenviolett'i.

2. Kolvi põhja jääb azur'i pretsipitaat. Sellele peale valada 50 sm³ destilleeritud vett, lasta seista mõne tunni jooksul, kuni lahustub azur.

3. Segada mõlemad lahused, valada laia kaelaga pudelisse, katta filtreerimispaberiga, hoida termostaadis 37° soojuses 24—48 tundi. Kurnata kaks korda läbi filtreerimispaberi.

Selle meetodiga saame väga hea polükroomi.

Tarvitamisviis: 1. Valmistada preparaat, kuivatada õhus.

2. Fikseerida alcohol. absolut. või alcohol + aether.

3. Värvida polükroomsinise lahusega 30—60 sek.

4. Pesta destilleeritud veega. Kui värvimine paistab puudulik, differentseerida kiirelt absoluutse alkoholiga. Pesta uuesti destilleeritud veega.

5. Kuivatada. Uurida.

Polükroomsinised värvivad mitmekesiselt raku osasid (metachromasia): protoplasma — helesinine: rakutuum — violetne või sinakas-violetne; erütrotsüüdid — rohekad; lima — roosakas-violetne; mikroobid — sinised või violetsed.

Romanowsky meetod. Romanowsky pani tähele, et metüleensinise lahus, segatud eosiinilahusega, värvib protozoide tuuma kromatiini. Michaelis näitas, et niisuguse segu värviv funktsioon oleneb azur'ist ja metüleenvioletist, mis tekivad spontaanselt segus. Samuti on ka tarvilik, et segus viibiks väike hulk muutumata metüleensinist. Sellest näeme, et Romanowsky värvilahus võib anda ainult siis konstantsed resultaadid, kui ta sisaldab tarvilikul hulgal metüleensinise transformatsiooni produkte, kuna eosiin seejuures otsekohest värvivat toimet ei avalda. Eosiin soodustab nähtavasti azur'i värvivat elektsiooni ja eosiini asemel võib tarvitada teisi happevärvisid: resortsiini, hydrochinoni jne.

Giemsa valmistas puhtalt azur II ja azur II-eosiini, milledest võimalik oleks valmistada lahuseid, mis sisaldavad eksaktse hulga üht

või teist substantsi. Kahjuks ei avaldanud Giemsa nende produktide valmistamisviisi ja Grübleri äri poolt lastakse müügile valmis Giemsa lahus või saladuses hoitud koosseisuga komponendid: azur II ja azur II-eosiin.

Giemsa lahus ei anna sugugi paremaid resultaate kui praegusel ajal tarvitusel olev universaalne meetod, mis seisab järgmises: metüleensinise lahus transformeeritakse ühe või teise leelisega, ilma et isoleerida tekkinud produkte. Segule lisatakse juurde eosiini-lahust, mille tõttu sadestub metüleensinise transformatsiooniproduktide eosinaat (azur'i ja violeti eosinaadid). Eosinaat ei lahustu vees, teda lahustatakse puhtas metüülalkoholis või etüülalkoholis, mille tõttu saame alglahuse. Viimast lahjendatakse destilleeritud veega tarvitamise eel.

Eosinaatide valmistamismeetodeid on väga palju. Nendest tähendame siinkohal ainult need, mis annavad paremaid resultaate. Eosinaatide valmistamisega on tarvilik ligemalt tutvuda, sest nendest valmistatud värvilahused on võrdlemisi kallid ja nende valmistamisviisi hoitakse saladuses.

Lihtsad metüleensinise eosinaadid. Kui me segame värske metüleensinise lahuse eosiinilahusega, siis saame lihtsa metüleensinise eosinaadi, mida vähe tarvitatakse mikrobioloogilises värvimistehnikas. See eosinaat on aluseks May-Grünwald'i, Jenner'i ja Simonelli-Baudi värvilahustes.

Metüleensinise eosinaat ei värvi protozoide tuuma kromatiini, ta värvib siniseks basofiilsed ja punaseks atsidofiilsed elemendid. Heade resultaatide saavutamiseks peab preparaati enne värvima metüleensinise eosinaadi lahusega ja selle järel veel azur-eosinaadi lahusega või tarvitama nende kahe lahuse segu.

Metüleensinise eosinaadi valmistamine:

1. Valmistada puhtast metüleensinisest veelahus 1 :100 ja eosiinist veelahus 1 : 500.

2. Eosiin sadestab metüleensinist vähemal või suuremal hulgal. Et täielikku sadestumist saavutada, selleks peab enne proovima, kui palju tarvis võtta eosiinilahust. Selleks võetakse 5 uuriklaasi; igaühte valatakse 1 sm^3 metüleensinise lahust. Lisada juurde esimesele klaasile 1 sm^3, teisele 2 sm^3, kolmandale 3 sm^3, neljandale 4 sm^3 ja viiendale 5 sm^3 eosiinilahust, hästi segi segada ja seista lasta 5—10 min. Klaas, kus pretsipitatsioon on kõige täielikum, näitab, kui palju peab võtma eosiinilahust 1 sm^3 metüleensinise lahuse peale. Leiame näiteks 3 sm^3, siis segatakse 100 sm^3 metüleensinise lahust 300 sm^3 eosiinilahusega.

3. Kaks lahust segatakse hoolega segi kolvis ja lastakse seista harilikus temperatuuris 24—48 tundi. Samad resultaadid saame, kui hoiame kolvi vesivannis 100° C temperatuuris 10 min. jooksul.

4. Lasta seista 2 tundi. Sade kogutakse väikese paberfiltri peale (ilma voltideta).

5. Pesta kurna peale jäänud sadet destilleeritud veega niikaua, kui vesi pea täielikult selgeks jääb.

6. Filtrit ühes sademega kuivatatakse termostaadis 37° C. soojuses; sade kogutakse uhmrisse ja hõõrutakse pulbriks.

7. Tarvitamiseks lahustatakse osa pulbrist 100 osas metüülalkoholis (purum). Enne tarvitamist lastakse lahust valmida 2—3 päeva jooksul.

Grübleri poolt valmistatud May-Grünwald'i värv ei anna paremaid resultaate kui ülalkirjeldatud eosinaadilahus.

Värvitakse ilma fikseerimata preparaate.

Liiteosinaadid, mida sel teel saame, kui metüleensinise enne eosiini juurdelisamist ühe või teise leelisega transformeerime.

Hollande värv: 1. Lahustada 5 g eosiini (vees lahustuvat) 500 sm^3 natr. caustic. veelahuses 1:10.

2. Kui lahustumine on täielik, lisada pikkamisi juurde, vahet pidamata loksutades, 500 sm^3 metüleensinise veelahust 1:100.

3. Lasta seista toasoojuses 30 min. Kurnata mitu korda läbi hüdrofiilse puuvilla, mis on litsutud suure lehtri põhja. Filtreerimine lõpetada, kui läbijooksev vedelik on selge.

4. Puuvilla peale kogunenud pretsipitaat seista lasta 48 tunni jooksul, siis ta eraldada, pressida puuvillast rätiku või filtreerimispaberi vahel, lõpuks laiali ajada klaasplaadile.

5. Lasta seista termostaadis 56° C. soojuses 24 tundi; pulbriks hõõruda uhmris, laiali ajada läikiva (glasuur-) paberi peale ja lasta seista õhu käes 3 päeva jooksul. Selle manipulatsiooniga saame metüleensinise, metüleenazuri ja metüleenvioleti eosinaatide segu.

6. Tarvitamiseks lahustatakse üks osa pulbrit 100 osas absoluutses metüülalkoholis. Enne tarvitamist lasta seista 24 tunni jooksul.

Värvitakse fikseeritud preparaate.

Goubault'i värv. 1. Valmistada kolvis kerge soendamise abil järgmine lahus: 1 g methylenblau pur. + 5 g borax + 50 sm^3 aq. destill.

2. Lahust keeta vesivannis 5—6 min.; lasta jahtuda; ilma segi loksutamata eraldada pealmine lahus, mis sisaldab metüleenvioletti.

3. Kolvi põhja jääb metüleenazuri pretsipitaat. Seda lahustada külmalt 50 sm^3 destilleeritud vees.

4. Segada saadud kaks lahust: violeti- ja azurilahus. Segu mõõta gradueeritud silindris.

5. Segule juurde lisada üks kolmandik kogu sellest värskelt valmistatud metüleensinise veelahusest 1:100.

6. Lisada juurde 2—3 korda suurem hulk eosiini (vees lahustuva) veelahust 0,5:100. Eosiinilahuse hulka määratakse, nagu sellest kuulsime ülalpool.

7. Segu lasta seista 15—16 tundi; sade koguda filtri peale; sadet pesta destilleeritud veega, kuni vesi veel vähe värvituks jääb. Sadet kuivatada termostaadis 37° C. temperatuuris. Hõõruda pulbriks uhmris.

8. Tarvitamiseks lahustatakse kuiv pulber absoluutses etüülalkoholis, mis sisaldab 10:100 glycerini puri, võttes alkoholi + glütseriini segu $^2/_3$ metüleensinise- ja eosiinilahuse hulgast, mida tarvitati värvi valmistamiseks.

Värvida fikseerimata preparaate.

Peale ülaltähendatud eosinaatide valmistatakse veel palju teisi: Leishman transformeeris metüleensinist natr. carbonicumiga, Marino ja Tribondeau eosinaate, millede valmistamine on keerulisem ja värvimisresultaadid taha jäävad Hollande ja Goubault'i omadest.

Eosinaatide tarvitamine.

Eosinaatidega värvimise puhul peab tarvitama absoluutselt puhtaid klaasnõusid: pesta hoolsasti kaevuveega, järel loputada destilleeritud veega ja täielikult kuivatada.

Esemeklaasid preparaatide valmistamiseks peavad olema täielikult puhtad (parem uued) ja ilma kriimustusteta, sest eosinaat sadestub ja fikseerub klaasi kriimustustes.

Destilleeritud vesi, mida tarvitatakse, peab olema täielikult neutraalse ehk nõrgalt leelise reaktsiooniga. LAVERAN soovitab keeta destilleeritud vett enne tarvitamist 30 minuti jooksul täielikult puhtas kolvis.

Eosinaatidega värvimiseks võib tarvitada kaht meetodit:

A. Ilma fikseerimata preparaadid.

1. Preparaadi peale kallatakse 12—15 tilka eosinaadilahust absoluutses metüülalkoholis. Preparaat kaetakse Petri kausiga, et takistada alkoholi lendumist. Lasta seista 3 min. jooksul, millega saavutatakse fikseerimist.

2. Pöörata preparaat längu, nii et värvilahus koonduks ühe serva poole, ja ettevaatlikult juurde tilgutada sama tilkade arv (12—15) destilleeritud vett (soendatud termostaadis 37° C. temperatuuris), kui oli võetud värvilahust.

3. Kerge liigutamise abil segada värvi veega; preparaat panna laua peale ja katta Petri kausiga; pärast seda mitte enam liigutada (tekib sade); lasta seista 20—30 min.

4. Pesta ühe minuti jooksul destilleeritud veega, lastes vett jooksta preparaatipidi. Kuivatada kiiresti filtreerimispaberiga. Kui preparaadil on sadet, siis võib kuivatatud preparaati kiiresti pesta nelgiõliga; loputada ksüloolis ja kuivatada.

B. Fikseeritud preparaadid.

1. Õhus kuivatatud preparaati fikseeritakse absoluutse etüülalkoholiga, metüülalkoholiga ehk etüülalkohol + eeter.

2. Peale valada 15—20 tilka järgmist värvilahust, mida valmistatakse värvimis-silmapilgul: 1 osa eosinaadi alkoholi lahust + 9 osa puhast destilleeritud vett.

3. Lasta seista 20—30 min. kaetult Petri kausiga.

4. Pesta puhta destilleeritud veega 1 min. jooksul. Kuivatada kiiresti filtreerimispaberiga.

Värvimine Giemsa värvilahusega. Giemsa lahus sisaldab azur II ja azur II-eosiini lahustatult metüülalkoholi ja glütseriini segus.

Aeglane meetod: 1. Õhus kuivanud preparaati fikseerida 30 min. jooksul absoluutses alkoholis.

2. Värvida 20—24 tundi Petri kausis järgmise ex tempore valmistatud lahusega: 35 tilka Giemsa lahust + 20 sm^3 puhast destilleeritud vett.

3. Pesta destilleeritud veega; kuivatada filtreerimispaberiga.

Kiire meetod: 1. Fikseerida 30 min. alcohol. absolut.

2. Värvida 1 tunni jooksul ex tempore valmistatud lahuses: 10 tilka Giemsa lahust + 10 tilka 1% sol. natr. carbonic. aquos. + 10 sm^3 aq. destill.

3. Pesta destilleeritud veega. Kui preparaat on liialt värvitud, lasta aq. destill. toimida 1—5 min. jooksul. Kuivatada filtreerimispaberiga.

Kiire meetod soendamise abil: 1. Uuritav aine määrida õhukese kihina esemeklaasile; kuivatada; kergelt fikseerida tule peal.

2. Valada peale mõni tilk järgmist lahust, mis valmistatakse ex tempore täielikult puhtas prooviklaasis: 10 sm^3 aq. destill. + 10 tilka Giemsa lahust + 5—10 tilka 1% sol. natr. carbonic. aquos.

3. Soendada mõne sekundi jooksul väikese tule peal, niikaua kui ilmub aur, mitte keemiseni.

4. Värv ära kallata; uus värvilahus peale kallata; uuesti soendada. Kolmat korda lastakse värvi toimida 1—2 minuti jooksul.

5. Pesta destilleeritud veega; kuivatada filtreerimispaberiga.

Ülaltähendatud eosinaatide lahused on soovitavad mitmekesiste protozoide värvimiseks. Et protozoide deformeerumist ära hoida, soovitavad autorid fikseerida rõsket preparaati osmiumhappe auruga või sublimaadi ja alkoholi seguga. Harilikkude uurimiste puhul võib ainet klaasil lasta ära kuivada, seda fikseerida absoluutse metüül- või etüülalkoholiga ja siis värvida. Häid tagajärgi saame vereprotozoide uurimisest, kui vere õhukese kihina klaasile määrime ja seda fikseeritult või ilma fikseerimata eosinaatide lahustega värvime.

Hallitusseente ja dermatofüütide uurimine.

Hallitusseente uurimiseks peab substraati, mille peal seened kasvavad, mikroskoobi alla mahutama ja vaatama nõrga suurendusega. Selle järel vaadatakse neid kahe klaasi vahel kuivalt. Soovitakse seente preparaati kauema aja jooksul konserveerida, siis võetakse osa materjali esemeklaasile ja selle peale üks tilk järgmist segu: 42 sm^3 aq. destill. segatakse segi 50 sm^3 glütseriiniga, selles lahustatakse soendamise abil 7 g valget želatiini, lisatakse juurde 1 sm^3 karboolhapet ja kurnatakse kuumalt läbi paberkurna; enne tarvitamist sulatatakse 50° C. soojuses. Preparaat kaetakse kateklaasiga, mille servad vahaga kinni joodetakse.

Värvitakse hallitusseeni harilikkude aniliinvärvilahustega.

Dermatofüütide uurimiseks epileeritakse pintseti abil juukseid või karvu kahtlasest kohast. Epidermisekestasid võib saada kerge kratsi-

mise teel. Saadud juuksed, karvad või nahakestad pannakse esemeklaasile ja valatakse peale 1—2 tilka 30% kal. causticumi veelahust; kaetakse kateklaasiga. Preparaati soendatakse väikese tule peal, kuni ilmuvad esimesed keemismullid. Kohe tulelt ära võtta ja jahtuda lasta. Kal. causticum lahustab rasva ja osalt ka vormilised elemendid ja ei purusta parasiite. Sagedasti peab kauemini soendama, et koe-elemendid lahustuksid. Kal. causticum'i asemel võib tarvitada acid. formicicum'i.

Dermatofüütide värvimine ei ole suuremalt jaolt tarvilik. Selle abil võib näha paremini mütseeliumi rakulist ehitust. Värvimiseks mõjutakse alguses kloroformiga, et rasva eraldada; siis soendatakse 2—3 minutit acid. formicicumis ja värvitakse 1 min. Sahli lahusega: 40 sm^3 aq. destill.+24 sm^3 sol. methylenblau concent. aquos.+16 sm^3 5% borax'i lahust. Pesta veega, alkoholiga ja ksülooliga; katta kaanada palsamiga.

Värvimata preparaatide konserveerimiseks pestakse kal. caustic. veega ära, võetakse peale tilk glütseriini või ülaltähendatud segu, kaetakse kateklaasiga, mille servad vahaga kinni joodetakse.

Lõikude bakterioloogiline uurimine.

Lõikude värvimine võimaldab mikroobide avastamist ühes või teises koes ja tutvumist nende patoloogiliste muutustega, mida mikroobid kudedes esile kutsuvad. Mikroobide värvimiseks kudedes on tarvilikud hästi õhukesed lõigud ($^1/_{200}$—$^1/_{500}$ mm). Uurimiseks võetud koetükke peab alguses samuti läbi töötama, kui seda toimetatakse histoloogilistel uurimustel.

Uurimiseks peab võtma võimalikult värsked kudede ja organite tükid: katseloomadelt otsekohe pärast surma, inimestelt kirurgiliste operatsioonide puhul ja selleks otstarbeks väljalõigatud koetükikesi. Sektsioonide puhul saadud tükid on juba märksa muutunud, sest sektsiooni toimetatakse harilikult 24 tundi või veel hiljemini pärast surma.

Kudedest ja organitest tükikeste väljalõikamiseks peab tarvitama steriilseid instrumente. Tükikeste paksus peab olema 5—6 mm, pikkus 8—10 mm ja laius 4—5 mm.

Fikseerimine. Selleks tarvitatavad vedelikud ei tohi muuta mikroobide keemilisi omadusi, mis takistaks värvimist. Seda silmas pidades ei ole bakterioloogiliste uurimiste korral kõlvulised kõik need fikseerivad lahused, mida tarvitatakse histoloogias. Kõige soovitavamad on alkohol, sublimaat ja formaliin.

Fikseerimiseks võetakse klaaspurgike, selle põhja mahutatakse kiht hüdrofiilset puuvilla, et selle peal viibiv fikseeritav tükike vedelikuga igast küljest kokku puutuks, siis valatakse purki fikseerimisvedelikku 25—30 korda suurem ruumala, kui on fikseeritavate tükkide oma.

1. Alkohol. a) Koe ja organite tükid mahutatakse 24 tunniks 60° või 70° alkoholi. b) Selle järel mahutatakse nad 24 tunniks 80° või 90° ja lõpuks 1—2 päevaks absoluutse alkoholi sisse. Müügil olev alkohol sisaldab alati vett; seepärast lisatakse alkoholile juurde täielikult kuivatatud (valget) cuprum sulfuric., mis alkoholi veetustab

ehk deshüdrateerib. Kui alkohol sisaldab vett, siis annab ta, segatult ksülooliga, emulsiooni (hägune lahus).

Alkohol fikseerib mikroobe hästi, kuid kudesid pahasti; need koed, mis sisaldavad rohkesti sidekudet ja lihaseid, muutuvad liiga kõvaks ja neid on raske lõigata.

2. Sublimaat on kõige kohasem fiksaator. Selleks tarvitatakse järgmist lahust: Sublimati 4—5 g + acid. acetic. glacial. 1,0 sm^3 + aq. destill. 100,0 sm^3. See lahus ei ole püsiv; teda peab valmistama tarbe korral.

a) Tükid lastakse seista fikseerivas lahuses, kuni viimane muutub mitte-läbipaistvaks (aeg on muutlik: mõnest tunnist kuni 24 tunnini). b) Selle järel mahutatakse tükid 70° alkoholi, millele lisandatakse tinct. jodi, kuni segu pruuni värvi omandab. Kui alkohol dekoloreerub, siis lisandatakse uuesti tinct. jodi, kuni segu enam oma pruuni värvi ei kaota. Hoida selles segus keskmiselt 24 tundi. c) Edasi mahutatakse tükid 80°—90°—100° alkoholi.

3. Formaliin on kõlvuline kõikide kudede fikseerimiseks. Fikseerimine ei ole küll täielik, kuid küllaldane jooksvaiks uurimisiks. Fikseerivate lahuste valmistamiseks segatakse müügil olevat formaliini (40%) 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, igaühesse 24 tunniks.

Ei valata fikseeritud tükke mitte kohe paraffiini sisse, siis võib neid alal hoida 80° alkoholis, mitte aga absoluutses alkoholis. Enne paraffiini valamist mahutatakse neid 90°—96°—100° alkoholi, igaühesse 24 tunniks.

4. Bouin'i fikseeriv lahus: formaliini (40%) 20,0 sm^3 + sol. acid. picrin. aquos. concentr. 75 sm^3 + acid. acetic. glacial. 5 sm^3. 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 konserveerib hästi rakkude vormi.

Õhukeste lõikude (õhikute) saamiseks, mis väga tarvilik mikrobioloogilistel uurimistel, peab tükikesi laskma läbi imbuda mõne substantsiga, mis harilikus soojuses kõvaks muutub. Selleks tarvitatakse pea alati paraffiini. Teiste substantsidega, mida tarvitatakse histoloogias (vaha, tselloidiin, kolloodium jne.), ei ole võimalik saada küllalt õhukesi lõike.

Paraffiini sissevalamine. Fikseeritud tükikesed peab täielikult deshüdrateerima. Selleks lastakse neid viibida 24 tunni jooksul absoluutses alkoholis, vahetades alkoholi kaks korda selle aja jooksul. Absoluutsest alkoholist võetakse tükikesed ja mahutatakse nad kindla korgiga purgikesse ksülooli sisse: väikesed tükid (1—3 mm paksud) 1—1½ tunniks, keskmised (3—5 mm paksud) 3 tunniks, suured (5—10 mm paksud) 4—6 tunniks. Suurte tükkide tarvis peab ksülooli 1—2 korda

vahetama, et alkoholi täielikult elimineerida. Ksülooliga impregneerimine lõpetatakse, kui tükid muutuvad ühetaoliselt läbipaistvaks.

Ksüloolist võetud tükikesed mahutatakse paraffiini ja ksülooli segu sisse; võtta: paraffiini (sulab 50° C. soojuses) 10—15 g + ksülooli 30 sm^3. Tükid ühes selle seguga hoitakse kindla korgiga pudelikeses 37—38° C. soojas termostaadis: väikesed tükid 1 tund, keskmised 3 tundi ja suured 6 tundi.

Paraffiini + ksülooli segust võetud tükid mahutatakse lahtisesse pudelikesse ehk kausikesse puhta paraffiini sisse, mis sulab 52—54° C. soojuses, ja hoitakse paraffiinikapis 55—56° C. temperatuuris. Kunagi ei tohi temperatuuri lasta tõusta kuni 60° C., sest siis koaguleerub valk. Paraffiinis hoitakse: väikesed tükid 30 min., keskmised 2—3 tundi ja suured 3—5 tundi. Paraffiini sulamise temperatuur muudab kudesid; seepärast ei ole tarvis tükkisid hoida selles soojuses rohkem kui tähendatud.

Lõpuks valatakse sula paraffiin ühes uuritavate tükkidega selle tarvis valmistatud vormi. Vormi võib järgmiselt valmistada: võetakse keskmise suurusega pudelikork (silindriline); ühe otsa ümber mähitakse filtreerimispaberi riba, nii et saaks 2—3 sm kõrgune silinder; paber kinnitatakse korgi külge nööpnõela või niidi abil. Korgi pinnale, mis kujutab paberist silindri põhja, lõigatakse väikesed rennikesed, et paraffiin paremini kinni jääks. Paberist silindri sisemist pinda määritakse õliga, nii et see korgi pinda ei määriks. Vormi valatud ja kõvaks läinud paraffiini ümbert võetakse paber ära ja kinnitatakse korgi abil mikrotoomi külge lõikamiseks.

Vormiks võib tarvitada ka väikesi papptopsikesi (salvarsanitopsikeste kaaned jne.) ja tinapaberist pudelimütsikesi. LEUCKART valmistas vormi, mida soovi järele võib suurendada ja vähendada. Selleks võetakse kaks L-tähe sarnast metallist ($1^1/_2$—2 sm kõrget) osa, mis klaasalusele pannakse, nii et kujuneks vähem või suurem kastike. Papist ja puust topsikeste sisemist pinda peab enne paraffiini sissevalamist õliga määrima, et hangunud paraffiin kergemini eralduks; Leuckarti vormil ei ole see tarvilik.

Vormist välja võetud paraffiinitükki lõigutakse noaga, nii et koetükkide ümber jääks 1—2 mm paksune kiht paraffiini.

Vormi valamist toimetatakse järgmiselt: põhja valatakse väike hulk sula paraffiini ja lastakse vähe hanguda (kuni pinnale tekib nahake); soendatud nõelaga võetakse koetükikesed ja mahutatakse vormi paraffiini peale, seades neid lõikamiseks määratud pinnaga allapoole; siis valatakse peale sula paraffiin, hoides nõelaga tükikesi soovitavas olekus niikaua, kui paraffiin hanguma hakkab, s. o. opalestseeruvaks muutub. Selle järel peab paraffiini kiirelt jahutama: vorm mahutatakse külma vette, alguses põhi ja kui paraffiini pinnal tekib küllalt kõva koorik, siis üleni. Külmas vees lastakse neid seista 1—2 tundi. Selle järel on nad lõikamiseks valmis.

Lõikamist toimetatakse mikrotoomi abil. Kõige kohasem on paraffiini lõikamiseks Minot'i mudel. Mikrotoomiga peab ettevaatlikult ümber käima: pärast tarvitamist peab iga kord puhastama, hoidma kaitstult tolmu ja rõskuse eest klaaskupli all või puust kastis.

Õhukeste lõikude saamiseks on tarvilik hea mikrotoominuga. Nuga peab iga kord enne tarvitamist teritama nahkrihmal, mis on kinnitatud puust alusele. Selleks tõmmatakse nuga, seljaga ees, minnes tera algusest otsa poole, korduvalt kumbagi külge, pöörates nuga ümber selja poolt, sileda, puhtaks pühitud naha peal.

Tarbe korral peab nuga teritama selle tarvis valmistatud kivi peal. Kivi võib märjaks teha kas hariliku veega või järgmise lahusega: aq. destill. 50 sm^3 + acohol 95°—50 sm^3 + glycerini 50 sm^3.

Noa külge jäänud paraffiini ärapesemiseks valatakse peale mõni tilk ksülooli ja kuivatatakse pehme lapiga.

Enne lõikude värvimist peab neid kinnitama esemeklaaside pinnale ja eraldama paraffiini, mis takistab värvimist.

Kui lõikamist toimetatakse Minot'i mikrotoomiga, ja kui paraffiini valamist toimetati täpsalt reeglite järele, siis liituvad lõigud automaatselt üksteisega, moodustades lindisarnase riba. Noa peale kogunenud lõigulindi vaba otsa hoitakse pintseti abil ja lint eraldatakse, kui on saadud soovitav pikkus. Lint tõstetakse ettevaatlikult paberilehele ja eraldatakse sellest üksikud lõigud klaasile kleepimiseks.

Klaasile kleepimist toimetatakse mitmel viisil. Lihtne ja väga hea on järgmine meetod: võetakse umbes 50 sm^3 destilleeritud vett ja aetakse keema. Sellele lisatakse juurde väike tükike puhast želatiini (1 : 500) ja niipalju kal. bichromic. lahust, et vesi omandaks nõrgalt kollaka värvi. Segu valatakse klaastassikesse ja soendatakse seda vahet pidamata plekist alusel. Kuuma lahust võetakse esemeklaasi peale niipalju, et selle pind oleks kaetud. Selle järel võetakse nõelaga lõik ja pannakse lahuse pinnale, kus lõik kiiresti sirgub. Esemeklaas pannakse soojale plekist alusele ja hoitakse seal niikaua, kui paraffiin sulama hakkab. Siis valatakse lahus klaasilt ära, nii et lõik jääks klaasi peale. Nüüd võib lõiku kahe nõela abil ettevaatlikult sirgeks tõmmata. Selle järel kuivatatakse üleliigne vedelik lõigu ümbert ära ja klaasid mahutatakse 24 tunniks termostaati 37° C. soojusesse. Lõigud on klaasi külge hästi fikseeritud ja ei eraldu värvimismanipulatsioonide tagajärjel.

Isoleeritud ja rulliläinud lõikusid võib väga hea tagajärjega klaasile fikseerida järgmise meetodiga: ülaltähendatud lahust (vesi + želatiin + kal. bichrom.) valmistatakse suuremal hulgal (100—200 sm^3), see valatakse kuumalt klaaskaussi ja selle pinnale mahutatakse lõigud, kus nad kuumuse mõjul kiiresti sirguvad. Et lõiku klaasile võtta, lastakse esemeklaas längus olekus vedelikku; nõela abil tõmmatakse üks neist klaasi keskkohani, lõigu ülemine nurk fikseeritakse klaasi külge ja klaas võetakse vedelikust pikkamisi välja, kusjuures lõik ise klaasi pinnale langeb.

Munavalge + glütseriini (Mayer) seguga klaasile fikseeritud lõigud eralduvad kiiresti, kui nende peale mõjutakse reaktiividega (leelised, Orth'i pikrokarmiin jne.), mis sulatavad valku. See puudus on kõrvaldatud, kui klaasile fikseerimiseks tarvitame ülaltähendatud meetodeid.

Paraffiini eraldamist toimetatakse järgmiselt: Esemeklaasid ühes nende külge kleebitud lõikudega pannakse alusele, valatakse peale mõni tilk ksülooli, mis paraffiini kiiresti sulatab. Lõigud muutuvad

läbipaistvaks. Ksülool valatakse ära ja selle järel kallatakse lühikeseks ajaks (10—20 sek.) peale alguses absoluutne alkohol, pärastpoole 96°—90°—70°—50° alkohol. Siis mahutatakse preparaadid kaussi destilleeritud vette, 1—2 min. Selle järel võib alata värvimist.

Värvimine. Bakterioloogiliste lõikude värvimiseks peab tarvitama niisuguseid meetodeid, mis võimaldavad mikroobide differentseerimist nendest kudedest, kus nad viibivad. Paljudel kordadel on tarvilik värvida ka koe elemente, et näha topograafilist vahekorda nende ja mikroobide vahel.

Värvimise puhul valatakse värvilahus klaasi pinnale, kus viibib lõik (mitte otse viimase peale); klaas lastakse längu, et värvilahus lõiku kataks, ja lastakse seista. Esemeklaasi ühes lõiguga võib mahutada ka värvilahust sisaldava vannikese sisse, milleks rohkem värvilahust tarvis läheb kui eelmise meetodi puhul.

Preparaatide pesemiseks pärast värvimist mahutatakse nad vannikese sisse, mis on täidetud veega.

Värvitud lõiku võib uurida tilga vee sees kateklaasi all. Parem on aga teda panna kaanada palsamisse. Selleks peab lõik enne täielikult vabastatama veest (deshüdratatsioon): vees pestud preparaadilt kõrvaldatakse suurem vesi filtreerimispaberiga; valatakse 3—4 korda peale absoluutset alkoholi, lastes klaasi üht- ja teistpidi längu. Selle järel valatakse alkohol klaasilt ära ja klaasile jäänud osa imetakse ära filtreerimispaberi-tüki servaga. Siis valatakse lõigu peale paar tilka nelgiõli (võib tarvitada ka ol. origani, ol. lign. cedri), mis suurendab koe läbipaistvust; õli dekoloreerib kergesti preparaati; sellepärast ei ole õli tarvitamine iga kord soovitav. Alkoholi või õli järel valatakse preparaadi peale 3—4 korda järjest ksülooli. Kui deshüdratatsioon oli täielik, siis ei teki ksüloolis valkjat pilvekest. Ksülool valatakse klaasilt ära ja lõigu peale lastakse tilk kaanada palsamit (parem on bensoolis sulatatud kuiv kaanada palsam); samuti võetakse kateklaasi keskkohale tilk palsamit ja kaetakse sellega lõik, nii et õhku vahele ei jääks; siis litsutakse kergelt kateklaasi peale.

Värmismeetodid on väga mitmekesised; nendest nimetame siinkohal ainult kõige tarvilikumad.

Lihtne värvimine, mida tarvitatakse kõikide nende mikroobide värvimiseks, kes lasevad endid kergesti värvida aniliinvärvidega.

Nicolle'i meetod: 1. Värvida 2—3 minuti jooksul Loefflери või Kühne metüleensinise lahusega.

2. Pesta destilleeritud veega.

3. Peitsida mõne sekundi jooksul lahusega: 10 g tannini + 100 sm^3 destilleeritud vett.

4. Pesta destilleeritud veega; ära imeda filtreerimispaberiga suur vesi.

5. Deshüdrateerida kiiresti absoluutse alkoholiga.

6. Õli; ksülool; kaanada palsam.

Tioniiniga värvimine. 1. Värvida 2—3 minuti jooksul tioniini + karboolhappe lahusega.

2. Pesta destilleeritud veega; kuivatada paberiservaga.

3. Deshüdrateerida kiiresti absoluutse alkoholiga.
4. Ksülool; kaanada palsam.

Viimane meetod on väga hea, kuid peab harjuma õigesti tarvitama alkoholi: toimib alkohol liiga kaua, siis kaotavad mikroobid ja koerakud värvi; toimib ta liiga vähe, siis on koerakud üleliia tumedad ja mikroobid vähe silmapaistvad.

Kahekordne värvimine, mikroobide tarvis, kes lasevad ennast värvida Grami meetodi järele.

Grami meetod: 1. Värvida 20—40 sekundi jooksul (aeg oleneb lõigu paksusest) kurnatud karboolgentsianivioleti lahusega.

2. Värvilahus ära valada; peale valada Grami või Lugoli joodilahust, seista lasta 10—30 sekundit, vahetades seda 2—3 korda selle aja jooksul.

3. Kiiresti loputada destilleeritud veega.

4. Dekoloreerida absoluutse alkoholiga või alkohol + aceton'i seguga, kuni lõigud kaotavad värvi pea täielikult.

5. Pesta destilleeritud veega.

6. Järel värvida eosiini-veelahusega 1:1000, kuni roosaka värvini, 15—30 sek. Järelvärvimiseks võib tarvitada ka pikrokarmiini-, fuksiini- ja safraniinilahuseid.

7. Pesta destilleeritud veega.

8. Deshüdrateerida absoluutse alkoholiga.

9. Ol. lig. cedri; ksülool; kaanada palsam.

Mikroobid (Gram-positiivsed) tumevioletsed, koe elemendid roosakad. Gram-positiivsed mikroobid ei ole seejuures ühtlaselt värvitud kogu preparaadis.

Kolmekordne värvimine, mis võimaldab paremat kudede differentseerimist ja uurimist.

Nicolle'i meetod: 1. Värvida 15 minuti jooksul Orth'i karmiinilahusega: sol. lith. carbon. concentr. aquos. 40 sm^3 + karmiini 1 g; hõõruda uhmris; kurnata; juurde lisada kuuendik osa alcohol. absolut.

2. Pesta destilleeritud veega.

3. Värvida kurnatud karboolgentsianivioletiga 6 sek.

4. Värvilahus ära kallata. Peale valada Grami või Lugoli lahust, uuendades seda 2 korda, 4—6 sek.

5. Dekoloreerida alkohol + aceton'i seguga (alkohol. absol. 5 osa + acetoni 1 osa).

6. Toimida mõne sekundi jooksul lahusega: alcoh. absol. 150 sm^3 + acid. picrin. 1 g.

7. Deshüdrateerida absoluutse alkoholiga.

8. Ksülool; kaanada palsam.

Gram-positiivsed mikroobid violetsed; rakutuumad roosad; protoplasma kollane.

Tuberkuloosibatsillide värvimine. Formaliiniga fikseerimine takistab b. tuberculosise värvimist; seepärast on soovitavamad teised meetodid (sublimaat, alkohol).

1. Värvida Ziehli karboolfuksiini-lahusega (parem aniliiniveefuksiini-lahusega) $^1/_2$—1 tund 37° C. soojuses.

2. Dekoloreerida 5% H_2SO_4 või 25% HNO_3 10 sekundit.
3. Loputada 70% alkoholiga, kuni preparaat värvi ära annab, 2—3 min.
4. Pesta destilleeritud veega.
5. Järel värvida metüleensinisega: 1 osa Loeffleri sinist + 3 osa destilleeritud vett, 2—5 min.
6. Loputada $^1/_4$—$^1/_2$% äädikhappega.
7. Deshüdrateerida absoluutse alkoholiga.
8. Ksülool; kaanada palsam.

Tuberkuloosibatsillid punased, koerakud ja teised mikroobid sinised.

Leeprabatsillide värvimine. Modifitseeritud Baumgarteni meetod: 1. Värvida Ziehli karboolfuksiiniga 3 min.
2. Pesta destilleeritud veega.
3. Differentseerida mõne sekundi jooksul: acid. hydrochlor. conc. 3 sm^3 + spirit. vin. 95° — 100 sm^3.
4. Loputada destilleeritud veega.
5. Järel värvida Loeffleri metüleensinisega 10—20 sek.
6. Loputada $^1/_2$% äädikhappega.
7. Deshüdrateerida absoluutse alkoholiga.
8. Ksülool; kaanada palsam. Õli tarvitamine ei ole soovitav, — võtab batsillidelt värvi ära.

B. leprae punased, kude sinine.

Giemsa meetod, spiroheetide ja trüpanosoomide värvimiseks.

1. Mitte üle 5 mm paksused koetükid fikseeritakse 48 tunni jooksul sublimaatalkoholi-lahuses (vahetada lahust 24 tunni takka!); välja võtta sarvest pintsetiga (mitte metallist); paraffiini valada; lõigata; klaasile kleepida; paraffiin ära sulatada ksülooliga; toimida alkoholiga, lõpuks veega.
2. Paraffiinist vabastatud lõikude peale lastakse toimida 5—10 minuti jooksul lahjendatud Lugoli lahust (3 osa Lugoli lahust + 100 osa 2% joodkaaliumi-lahust).
3. Pesta destilleeritud veega. Joodi elimineerimiseks mahutada preparaadid 10 minutiks 0,5% naatriumtiosulfaadi-lahusesse.
4. Pesta 5 min. jooksvas vees.
5. Värvida 2—12 tunni jooksul lahjendatud Giemsa lahuses (1 tilk Giemsas Lösung iga 1—2 sm^3 destilleeritud vee peale). Värvi vahetada esimese $^1/_2$ tunni järel.
6. Pesta destilleeritud veega.
7. Loputada järjekorras segudes: a) acetoni 95 sm^3 + xyloli 5 sm^3; b) acetoni 70 sm^3 + xyloli 30 sm^3; c) acetoni 30 sm^3 + xyloli 70 sm^3; d) xylol.
8. Peale võtta tilk ol. lig. cedri; katta kateklaasiga.

Lõikude hõbetamine (nitratatio). 1. Värsked koe ja organite tükid fikseeritakse 24 tunni jooksul 10—20% formaliinis.
2. Formaliinist võetud tükid lõigatakse habemenoaga 1 mm paksusteks tükkideks ja mahutatakse nad 24 tunniks 90° alkoholi.
3. Pesta destilleeritud vees niikaua, kui tükid langevad põhja.

4. Tükid mahutatakse 1% argent. nitric. lahusesse 5 päevaks termostaati 37° C. soojusesse (pimedas).

5. Kiiresti pesta destilleeritud vees (5 min.).

6. Tükid hoitakse 24 tundi pimedas, toasoojuses järgmises lahuses: acid. pyrogallic. 2,0 g + formaliini (40%) 5,0 sm³ + aq. destill. 100,0 sm³.

Valmistada lahus ex tempore.

7. Pesta destilleeritud vees.

8. Deshüdrateerida järjekorras 50°—70°—96°—100° alkoholis, hoides igaühes mõne minuti jooksul.

9. Hoida ksüloolis, kuni tükid läbipaistvaks muutuvad.

10. Valada paraffiini; lõigata õhukesed lõigud.

11. Kleepida esemeklaasile. Paraffiin ära sulatada ksülooliga. Kaanada palsam.

See meetod on väga kohane spiroheetide (spirochicterohaemorrhag.; spiroch. bronchialis j. t.) hõbetamiseks. Spiroheedid mustad, koe-elemendid kollased.

Levaditi hõbetamismeetod. 1. 2 mm paksused koe või organi tükid fikseeritakse 24 tunni jooksul 10% formaliinilahuses.

2. Hoitakse 15 tundi 96% alkoholis.

3. Pestakse destilleeritud vees, kuni tükid põhja langevad. Vett mitu korda vahetada.

4. Tükikesed kinnitatakse niidi külge ja riputatakse 1—6 päevaks ex tempore valmistatud segusse: 90 sm³ 1,5% argent. nitr. veelahust + 10 sm³ kõige puhtamat püridiin'i; hoitakse pruunist klaasist klaaskorgiga purgis termostaadis 37° C. soojuses.

5. Kiiresti loputada 10% püridiinilahuses.

6. Mahutada järgmisse värskelt valmistatud lahusesse: 90 sm³ värsket 4% pürogallooli veelahust + 10 sm³ acetoni; sellest võetakse 85 sm³ + 15 sm³ pyridini puris. Tükid riputatakse 15 tunnist kuni 2 päevani tähendatud lahusesse, pruunist klaasist purki, mis kaetakse kindla klaaskorgiga. Soovitav on tükid enne purki mahutamist loputada pimedas ruumis ülaltähendatud lahuses.

7. Loputada vees; lahjendatud alkohol, siis absoluutne alkohol; ksülool; parafiini valada; lõigata ja uurida.

Spiroheedid on mustad. Väga kohane meetod spiroch. pallida hõbetamiseks.

Mikroobide söötmed ja nende valmistamine.

Praegusel ajal tarvitatakse väga mitmesuguse koosseisuga mikroobide söötmeid. Ühed nendest on kõlvulised enamiku mikroobitõugude kultiveerimiseks, teisi tarvitatakse ainult teatavate mikroobitõugude kasvatamiseks. Siinkohal kirjeldame peaasjalikult esimesse liiki kuuluvaid söötmeid.

Iga kõlvuline sööde peab: 1) sisaldama neid substantse, mis on tarvilikud kultiveeritava mikroobi kasvuks; 2) söötme keemiline reaktsioon peab vastama mikroobi nõuetele; 3) sööde peab olema

täiesti steriilne; 4) söödet peab hoidma nõudes, mis neid kaitsevad ümbritsevate mikroobide sissetungimise eest ja ei eralda endast kõrvalisi olluseid söötmesse; 5) soovitavad on läbipaistvad söötmed, mis kergendavad märksa kultuuride uurimist.

Vedelad söötmed.

Vedelaid söötmeid võiks jagada kolme liiki: 1) loomalikud söötmed; 2) taimelised söötmed ja 3) enam-vähem kindla koosseisuga kunstlikud söötmed.

1. Loomalikud söötmed. Nendest tarvitatakse järgmisi:

Lihapeptooni-puljong, mis kannab hariliku puljongi nime.

Valmistamine. 1. Võetakse 500 g rasvast ja aponeuroosidest vabastatud veise- või hobuseliha, lastakse läbi lihahakkimismasina; lisatakse juurde 1000 sm³ harilikku vett ja lastakse matsereeruda 12 tunni jooksul külmas kohas (suvel jääkapis). Soovitakse matsereerimist kiirendada, siis hoitakse segu $^1/_2$ tundi 50—55° C. soojuses. Kui tahetakse elimineerida lihasuhkrut, siis hoitakse segu alguses 10—12 tundi termostaadis 37° C. soojuses.

2. Keeta emailitud kastrulis väikese tule peal 10 minuti jooksul, segades kõige aja jooksul puust lusikaga või kepikesega. Selle tagajärjel koaguleeruvad albuminoidid.

3. Kurnata alguses läbi puhta linase riide, pigistades kogu vedelik lihast välja, pärast läbi veega märjaks tehtud paberfiltri. Filtraati võib steriliseerida ja alal hoida (lihavesi).

4. Filtraat kogutakse emailitud kastrulisse ja lisatakse juurde 1000 sm³ peale: 10 g peptooni (Chapoteaux või Witte), 5 g natr. chlorat. pur. (soovitavam 5 g meresoola) ja 1 g natr. phosphoric. (natr. phosphor. asemel soovitatakse võtta 2 g magnes. phosphor.). Aetakse keema, liigutades vahet pidamata segi, et peptoon täielikult lahustuks.

5. Neutraliseerida või nõrgalt alkaliseerida. Selleks võetakse NaOH normaalne lahus (40 g NaOH + 1000 sm³ aq. destill.), lisandatakse puljongile pipetiga väikeste hulkadena, segades hoolega segi pärast iga juurdelisamist; reaktsiooni proovitakse punase ja sinise lakmuspaberiga. Kui punane paber läheb siniseks, aga sinine jääb muutumata, siis on puljong neutraalse reaktsiooniga (neutraalne lakmusele, hapu phenolphtalein'ile). Et saada leelist reaktsiooni, mis soodus enamikule mikroobidest, siis lisatakse lakmuse neutraalsele puljongile juurde 7 sm³ NaOH normaal-lahust ühe liitri peale. NaOH asemel võib tarvitada natr. carbonic. lahust.

Saksa autorid soovitavad puljongi reaktsiooni kontrollida phenolphtaleiniga: võetakse 5 sm³ puljongi, segatakse 45 sm³ destill. veega, aetakse soojaks (mitte keema!) ja lisatakse juurde 1 sm³ järgmist lahust: phenolphtaleini 0,5 g + alcohol. 50°—100 sm³. Kui puljongil on happereaktsioon, siis ei muuda ta värvi. Büretist lastakse tilkade viisi juurde detsinormaalset NaOH-lahust (100 sm³ NaOH normaal-lahust + 900 sm³ destill. vett), loksutades hoolega

segi. Puljongi reaktsioon on phenolphtaleinineutraalne, kui segu omandab roosaka värvi. Leelisehulga põhjal, mis oli tarvilik 5 sm^3 puljongi neutraliseerimiseks, võib välja arvutada, kui palju peab NaOH normaal-lahust juurde lisama 1000 sm^3 puljongile, et see omandaks neutraalse reaktsiooni phenolphtaleini suhtes. Lisandame selle ühele liitrile puljongile, siis saame reaktsiooni, mis ei ole küllalt soodus kasvuks enamikule mikroobidest. Soodsama reaktsiooni saame, kui ühele liitrile puljongile lisandame 7—8 sm^3 vähem NaOH normaal-lahust, kui oli see hulk, mis oleks tarvis läinud neutraalse reaktsiooni saamiseks phenolphtaleini punktini.

Lakmuse neutraalpunkt näitab, et puljongis viibivad vabad happed on neutraliseeritud, ja difosfaadid on ülekaalu saamas monofosfaatidest, kuna phenolphtaleini abil võib kindlaks määrata momenti, kus neutraliseeritud on puljongis viibivad mono- ja difosfaadid (NaH_2PO_4, Na_2HPO_4) ja algab Na_3PO_4 tekkimine.

Täpsamalt võib söötme reaktsiooni kindlaks teha H-ioonide kontsentratsiooni äramääramisega, millest kuuleme edasi.

6. Alkaliseeritud puljong valatakse kolbidesse ja mahutatakse autoklaavi 15 min. 115—117° C. soojusesse.

Kurnata läbi veega märjaks tehtud paberfiltri; filtraat peab olema täielikult selge.

7. Saadud filtraadile lisatakse juurde destilleeritud vett kuni 1000 sm^3.

8. Puljong valatakse soovi järele kas prooviklaasidesse või kolbidesse, kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 20 minuti jooksul 110—115° C. kuumuses.

Peab ettevaatlik olema, et lõpliku steriliseerimise puhul temperatuur ei tõuseks kõrgemale kui eelmiste keetmiste puhul (115—117° C.); vastasel korral muutub puljong häguseks.

Söötmeid prooviklaasidesse ja kolbidesse valades peab ettevaatust tarvitama, et nõude kael ei määrduks söötmega, sest siis kuivab puuvillast kork klaasi külge ja raskendab avamist. Et seda ära hoida, võetakse klaaslehter, selle ots varustatakse 4—5 sm pikkuse kummist toruga, mille vaba ots ühendatakse 6—8 sm pikkuse, ühest otsast tule peal kitsamaks tõmmatud klaastoruga. Kummitoru peale pannakse Mohr'i näpits. Valame söötme lehtrisse, juhime klaastoru sügavale prooviklaasi või kolvi sisse, surume näpitsa harude peale ja laseme söödet jooksta soovitaval hulgal; laseme näpitsa kinni ja võtame klaasi söötmega lehtri alt ära, nii et klaastoru ots ei puutuks kokku klaasi kaelaga.

Puuvilla-korkide valmistamiseks võetakse tükk lihtsat puuvilla ja litsutakse see klaaspulgaga prooviklaasi või kolvi kaela ülemisse ossa. Samuti võib puuvilla-tükki sõrmede vahel rulli mässida, nii et see kaetava nõu kaela sisse mahuks. Korgid ei tohi liiga kõvad olla; klaasi kaelast peab väljas olema nii suur osa korki, et sellest võimalik oleks sõrmedega kinni hoida pealt äravõtmise korral.

Puljongi valmistamiseks võib tarvitada: härja-, lehma-, vasika-, hobuse-, kana- jne. liha, mitmesuguseid organeid: maksa, põrna, soolte limanahka jne. Müügil on ka valmis lihaekstraktid — Liebig'i ekstrakt,

milledest võetakse keskmiselt 5 g 1000 sm^3 vee peale. Edasi valmistatakse puljongi nii, kuis ülalpool oli tähendatud.

Martin'i puljong. See on väga soodus kasvuks paljudele mikroobidele. Silmas pidades peptooni kõrget hinda ja selle väga mitmekesist väärtust (sagedasti on ta sootuks kõlbmatu), peab soovitama, et laboratooriumid ise valmistaksid peptoonilahuseid. Selleks on üks paremaist Martin'i meetod.

Martin'i peptoonilahust valmistatakse järgmiselt:

1. Võetakse värsked sea maod, lõigutakse rasv küljest ära; siis lõigatakse maod väikese kõveruse sihis lahti, pestakse kraani all, ilma limanaha pinda kratsimata, pitsitatakse käte vahel, et eraldada vett. Magu lõigatakse kääridega 4—5 tükiks ja aetakse läbi lihahakkimis-masina. Silmas pidades, et kõikide magude limanahk ei sisalda pepsiini ühesugusel hulgal, peab võtma mitu magu (3—5), — siis saame kindlama kontsentratsiooniga peptoonilahuse.

2. Segatakse: 250 g saadud magude putru (difteriatoksiini valmistamiseks võetakse 200 g, teetanusetoksiini valmistamiseks 300 g) + 10 sm^3 acid. hydrochloric. pur. (16° C.) + 1000 sm^3 50° C. sooja destilleeritud vett. Lastakse matsereeruda savist potis (mitte emailitud plekist pottides, mis oksüdeeruvad ja takistavad mikroobide kasvu) 50° C. soojuses 20—24 tunni jooksul (mitte üle 50° C., sest siis kaotab pepsiin oma toime). Mao limanahas viibiva pepsiini toimel seedivad valk-ollused peptooniks.

3. Soendatakse kuni 80° C., et lõpetada pepsiini toimet. Lastakse seista toasoojuses 4—5 päeva jooksul. Siis eraldatakse pinnale kogunenud rasv. Sifooni abil eraldatakse pealmine selge vedelik, jättes põhja sade.

4. Saadud vedelikku soendatakse 80° C. ja neutraliseeritakse selles temperatuuris kontsentreeritud soodalahusega, kuni lakmuspaber näitab veel nõrka happereaktsiooni.

5. Aetakse keema ja kurnatakse läbi veega märjaks tehtud paberfiltri. Mahutatakse 5 minutiks autoklaavi 117—118° C. kuumusesse, kurnatakse siis läbi paberi.

6. Valatakse kolbidesse ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C. temperatuuris 15—20 min.

Sel teel saame lahuse, mis sisaldab ligikaudu 4% peptooni. Sellest valmistatakse Martin'i puljong järgmiselt:

1. Võetakse 500 g läbi lihahakkimis-masina aetud liha, segatakse 1000 sm^3 veega ja lastakse matsereeruda 15—20 tundi termostaadis 37° C. soojuses (seejuures fermenteeruvad lihaste suhkrud).

2. Kurnata läbi riide, pressida, lisandada 5 g meresoola ehk NaCl.

3. Segada ühesugused osad lihavett Martin'i peptoonilahusega. Soendada kuni 70° C., et kalgenduksid (koaguleeruksid) albuminoidid, alkaliseerida, nii kui seda toimetatakse hariliku puljongi valmistamisel.

4. Mahutada autoklaavi 15 min. 117° C. kuumusesse. Kurnata läbi paberfiltri.

5. Valada soovitavaisse nõudesse, steriliseerida autoklaavis 115° C. temperatuuris 20 min. jooksul.

Difteriatoksiini valmistamiseks on soovitav, et puljongi steriliseeritaks p. 3. järele filtreerimise teel läbi Chamberland'i kurna.

Suhkurpuljongid. Mikroobide kasvu kiirendamiseks ja nende elutegevuse uurimiseks lisatakse puljongile sagedasti juurde mitmesuguseid suhkur-olluseid: glükoosi, roosuhkrut, laktoosi, galaktoosi, manniiti, dultsiiti, maltoosi, levuloosi jne. Suhkur-olluseid lisandatakse 1—4%. Neid võib juurde lisada puljongi valmistamise ajal või juba valmis puljongile, mida viimasel juhtumusel uuesti peab steriliseerima ja kurnama. Siin peab tähendama, et paljud suhkur-ollustest (peaasjalikult disahhariidid) kuumuse mõjul hüdrolüseeruvad; sellepärast peab söötmeid, mis sisaldavad neid olluseid, steriliseerima madalamal temperatuuril (mitte üle 105° C.). Suhkursöötmete lõplikku steriliseerimist on parem toimetada 100° C. soojuses, korrates seda 3 päeva järjest. Et ka selle juures nõrgad suhkur-ollused osalt võivad hüdrolüseeruda, siis on soovitav suhkurpuljongi steriliseerida läbi Chamberland'i kurna filtreerides. Täpsate uurimiste korral peab suhkurpuljongi valmistamiseks tarvitatavat liha matsereeruda laskma 37° C. soojuses termostaadis, ehk lihaveele juurde külvama b. coli kultuuri ja mõni tund termostaadis kasvatama, mille tagajärjel lihaste suhkrud fermenteeruvad.

Glütseriinpuljong. Selle valmistamiseks lisatakse puljongile juurde 2—5% neutraalse reaktsiooniga glütseriini. Lõplikku steriliseerimist toimetatakse samuti kui suhkurpuljongi puhul.

Calcium carbonic.-suhkurpuljong. Paljud mikroobid, kasvades suhkurpuljongis, produtseerivad suhkrust hapet, mis nende kasvu võib takistada. Et seda ära hoida, lisatakse prooviklaasidesse ja kolbidesse väljavalatud suhkurpuljongile juurde 2:100 calcium carbonic. ja steriliseeritakse autoklaavis. Calcium carbonic. neutraliseerib happe ja ei takista mikroobide kasvu.

Peptoonivesi (KOCH). 1. 1000 sm^3 soojas destilleeritud vees lahustatakse 10 g peptooni (Witte, Chapoteaux ehk Defresne'i oma) ja 5 g meresoola ehk NaCl. Alkaliseerimine ei ole harilikult tarvilik, sest segu on nõrgalt leelise reaktsiooniga. Reaktsiooni peab iga kord kontrollima.

2. Keedetakse mõne minuti jooksul. Kurnatakse läbi veega märjaks tehtud paberfiltri.

3. Valada prooviklaasidesse või kolbidesse. Katta puuvillast korkidega.

4. Steriliseerida autoklaavis 115° C. temperatuuris 15—20 min.

Piim. Seda tarvitatakse väga sagedasti mikroobide kultiveerimiseks. Piimast valmistatakse väga mitmel viisil söötmeid. Harilikult valmistatakse piimsööde järgmiselt:

1. Võetakse 500 sm^3 värsket rõõska piima, proovitakse selle reaktsiooni, mis peab olema neutraalne või nõrgalt alkaaliline. Happereaktsiooniga piim ei ole kõlvuline, sest piimas leiduvate mikroobide poolt esilekutsutud muutused (laktoosi fermentatsioon jne.) ja selle juures tekkinud produktid võivad takistada teiste mikroobide kasvu.

2. Piim valatakse prooviklaasidesse, 10—15 sm^3 igaühte, ja klaasid kaetakse puuvillast korkidega.

3. Steriliseerida autoklaavis 115° C. kuumuses 15 min. jooksul, veel parem Kochi aparaadis 100° C. soojuses 30 min. jooksul kolm päeva järjest. Selle järel hoitakse klaasid piimaga 48 tunni jooksul termostaadis 37° C. soojuses ja tarvitatakse ainult neid, kus piim ei kalgendu. Need klaasid, kus piim kalgendub, kõrvaldatakse kui mittesteriilsed.

Mõned mikroobid kasvavad ainult niisuguses piimsöötmes, mida ei steriliseerita 115° C. ja ka 100° C. soojuses, sest nendes temperatuurides muutub kergesti piima väärtus. Säärasel korral peab katsuma piima saada lüpsmise puhul võimalikult aseptiliselt (pesta ja steriliseerida lehma nisasid, lüpsja käsi ja riista, kuhu piim kogutakse) ja seda steriliseerida korduva soendamise abil 58° C. soojuses.

Prooviklaasides koguneb piima peale rasva-(koore-) kiht, mis võimaldab anaeroobide kasvatamist selles söötmes.

Sapp. Tapmise puhul võetud härja-sapipõiest saadud sapp kurnatakse läbi veega märjaks tehtud paberfiltri, valatakse prooviklaasidesse, 5 sm^3 igaühte, kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 110° C. soojuses 30 minuti jooksul. Parem on steriliseerida Kochi katlas 100° C. soojuses 30 minuti jooksul 3 päeva järjest.

Conradi järele võetakse värskelt saadud sapp, lisatakse juurde 10% peptooni ja 10% puhast glütseriini; segu steriliseeritakse autoklaavis 110° C. soojuses, valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse uuesti 110° C. temperatuuris 30 min. jooksul.

Sapist valmistatud söötmes kasvavad hästi typhus — paratyphus'e gruppi kuuluvad mikroobid. Sapist valmistatud söötmeid võib heade tagajärgedega tarvitada b. typhi ja b. paratyphi isoleerimiseks verest, uriinist jne.

Besredka sööde. Besredka valmistas kanamuna-kollastest söötme, milles hästi kasvavad tuberkuloosibatsillid. Selleks võetakse 350 sm^3 kanamuna-rebu (värsked munad pestakse pealt puhtaks 70% alkoholiga, lüüakse koor puhta noaga ühest küljest katki, muna murtakse pooleks ja eraldatakse rebu valgust), milleks keskmiselt 20 muna tarvis läheb; lisatakse juurde 1000 sm^3 neutraalse reaktsiooniga puhast, steriliseeritud destilleeritud vett ja loksutatakse suures kolvis hästi segi. Saadud emulsioonile lisatakse juurde 175 sm^3 natr. caustic. lahust 1 : 100 peale destilleeritud vees (pool vähem hulk, kui oli munakollast), loksutatakse hästi segi. Emulsioonist imetakse osa suurde pipetti ja vaadatakse vastu valget, kas ta on muutunud leelise toimel läbipaistvaks. On emulsioon hägune, siis lisatakse juurde 1—2 sm^3 natr. caustic. lahust, loksutatakse segi ja proovitakse läbipaistvust. Natr. caustic. lahust peab niipalju juurde lisama, et emulsioon oleks läbipaistev õhukeses kihis (pipetis) ja nõrgalt läbipaistev paksus kihis (kolvis). Siis lisatakse juurde kuni 7 liitrini destilleeritud vett (nii et rebu proportsioon oleks saadud segus 1 : 20 . 350 : 7.000 = 1 : 20). Sööde valatakse Roux' ehk Erlenmeyer'i kolbidesse, 50—150 sm^3 igaühte, kolvid kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 20 min. jooksul 110° C. temperatuuris. Kolvid hoitakse 48 tundi termostaadis 37° C. soojuses ja tarvitatakse neid, mis jäävad steriilseks (ei muutu häguseks).

Emulsiooni läbipaistvuse saavutamiseks ei tarvita kõik munarebud üht ja sama hulka leeliselahust.

Vereseerum, transsudaadid ja ekssudaadid. Seerum, mis saadakse vere hüübimise järel, samuti ka pleura- ja kõhukoopas põletikkude tagajärjel tekkinud vedelikke tarvitatakse mikroobide söötmeks. Vedelate söötmetena tarvitatakse neid vedelikke puhtalt võrdlemisi harva, rohkem tarvitatakse neid koaguleerunud olekus, millest alamal kuulda saame. Sagedasti lisatakse neid vedelikke juurde teistele söötmetele või tarvitatakse söötmeks lahjendatult veega või füsioloogilise lahusega.

Seerumpuljong. Võetakse prooviklaasid või kolvikesed, mis sisaldavad lõplikult steriliseeritud puljongi või suhkurpuljongi, ja lisatakse juurde 1—2 sm^3 vereseerumit (steriilne) või 2—5 sm^3 pleuravedelikku, astsiidi- või hüdrotseelevedelikku iga 10 sm^3 puljongile.

Selles söötmes kasvavad hästi paljud mikroobidest, kes ei kasva või kasvavad pahasti harilikus söötmes: streptokokid, meningokokid jne.

Noguchi sööde. Võetakse 1 osa vereseerumit (inimese, hobuse, härja, katsejänese j. t. oma), lisatakse juurde 3 osa destilleeritud vett (võib võtta ka harilikku vett, Ringeri lahust või füsioloogilist NaCl-lahust); kurnatakse läbi Chamberland'i filtri ja steriilne filtraat lastakse prooviklaasidesse, 15 sm^3 igaühte. Igale klaasile lisatakse juurde (steriilselt) merisea neeru või munandi (testiikli) tükk (terve merisiga surmatakse eetriga, kloroformiga või kaela veresoonte avamisega; sektsiooni puhul võetakse steriilselt organi tükk, tõmmatakse kiiresti läbi Bunseni lambi tule ja lastakse prooviklaasi seerumilahusesse). Anaeroobtingimuste saamiseks valatakse seerumilahusele peale 3 sm kõrgune kiht steriliseeritud paraffiiniõli. Klaasid hoitakse termostaadis 37° C. soojuses 48 tunni jooksul ja tarvitatakse neid, mis on steriilsed.

Parem on prooviklaase ühes seerumilahusega lõpuks steriliseerida soendamise abil 56° C. temperatuuris 30 min. jooksul, kolm päeva järjest.

Vereseerumi asemel võib tarvitada pleuravedelikku, astsiidivedelikku jne. Peab tähendama, et pea igal mikroobil on oma nõuded orgaanilise vedeliku suhtes: ühed kasvavad paremini inimese-, teised hobuse-, kolmandad jäneseseerumis.

Noguchi sööde on kõlvuline spiroheetide (spiroch. pallida) kultiveerimiseks.

Martin-Pettit sööde. 1 osale steriilsele katsejänese vereseerumile lisatakse juurde 5 osa steriliseeritud 0,85% NaCl-lahust. Kurnatakse läbi Chamberland'i filtri; filtraat valatakse prooviklaasidesse, 10—15 sm^3 igaühte; valatakse peale 2—3 sm kõrgune kiht steriliseeritud paraffiini-õli (ol. vaselini); kaetakse puuvillast korkidega ja tindaliseeritakse 56° C. soojuses 30 minuti jooksul, kolm päeva järjest.

Jäneseseerumi asemel võib tarvitada härja või hobuse vereseerumit. Sööde on soodsam kasvuks, kui ta seisab enne tarvitamist mõne nädala jooksul termostaadis 37° C. soojuses.

Selles söötmes kasvavad hästi spiroch. icterohaemorrhag., spiroch. bronchialis j. t.

Veri. Mikroobide kultiveerimiseks tarvitatakse sagedasti verd (inimese ja loomade oma). Veel sagedamini lisatakse verd juurde teisile söötmeile. Vere saamiseks võetakse vastava suurusega kolvike, milles viibivad klaaskuulikesed, kaetakse puuvillast korgiga ja steriliseeritakse kuiva kuumusega või autoklaavis. Veri kogutakse aseptiliselt (punktsiooni teel) kolvisse ja defibrineeritakse, loksutades kolbi verega 5—10 minuti jooksul. Defibrineeritud veri valatakse steriliseeritud prooviklaasidesse ja kaetakse nad puuvillast korkidega. Vere hüübimist võib veel järgmiselt ära hoida: kolvisse, kuhu soovitakse koguda verd, võetakse järgmist lahust: natr. chlorat. 8 g + natr. citric. 15 g + aq. destill. 200 sm^3 ja steriliseeritakse autoklaavis. Veeni punktsiooni puhul lastakse verd kolbi, nii et umbes 100 sm^3 segus oleks 20 sm^3 sooladelahust, loksutatakse segi ja valatakse prooviklaasidesse.

Steriilselt on raske verd saada; sellepärast võib tarvitada järgmist meetodit: steriilsesse kolbi, mis sisaldab 60 sm^3 ülaltähendatud natr. citricum'i lahust, võetakse 400 sm^3 härja või mõne teise looma verd, loksutatakse segi ja lisatakse juurde 0,5 sm^3 formaliini. Loksutatakse segi ja lastakse seista $^1/_2$—1 tund. Siis lisandatakse kolm osa 0,85% NaCl-lahust (steriilne) ja lastakse seista laboratooriumisoojuses 2 päeva jooksul. Selle järel valatakse segu prooviklaasidesse ja hoitakse enne tarvitamist 24 tundi termostaadis 37° C. soojuses. Formaliin, mis steriliseeris verd, aurab ära ja ei takista mikroobide kasvu.

Verepuljong. Lõplikult steriliseeritud puljongile lisatakse juurde üks kolmandik või üks neljandik osa defibrineeritud verd või 1 osa formaliiniga steriliseeritud ja lahjendatud verd 15 osa puljongi peale.

Selles söötmes kasvavad võrdlemisi hästi: pneumokokid, gonokokid, meningokokid, influentsabatsillid j. t.

2. Taimelised söötmed. Mikroobide kultiveerimiseks tarvitatakse mitmekesiseid taimelisi leotisi (infuusumeid). Säärased infuusumid sisaldavad vähe toitvaid olluseid; seepärast lisandatakse neile harilikult peptooni, suhkrut, soolasid jne. Selle peale vaatamata nõuavad mõned mikroobid oma kasvuks ühe või teise taimelise leotise viibimist söötmes.

Linnasevesi. 1. Võetakse 100 g linnaseid, hõõrutakse puruks ja lisatakse juurde 1000 sm^3 vett.

2. Segu hoitakse 1 tunni jooksul 55—58° C. soojuses. Diastaas transformeerib tärklise maltoosiks. Temperatuur ei tohi üle 58° C. tõusta, mis lõpetab diastaasi toimivuse.

3. Keeta mõne minuti jooksul. Kurnata läbi paberfiltri.

4. Valada prooviklaasidesse või kolbidesse. Steriliseerida autoklaavis 115° C. kuumuses 20 min. jooksul.

See sööde on soodus pärmseente kasvatamiseks ja alalhoidmiseks. Lisame sellele söötmele juurde $^1/_2$—1% peptooni ja 5—10% glükoosi, siis on söötme toitev väärtus palju suurem (linnasepuljong).

Spronck'i pärmipuljong. 1. Segatakse 1000 g müügil olevat leivapärmi 5 liitri veega. Keedetakse 20 minuti jooksul segades vahetevahel. Valatakse silindrilisse riista ja lastakse seista 24 tundi.

2. Eraldatakse pealmine hägune vedelik, lisatakse juurde iga liitri kohta 5 g meresoola või NaCl ja 10 g peptooni, keedetakse mõne minuti jooksul.

3. Neutraliseerida lakmuse suhtes ja lisada juurde igale liitrile 7 sm^3 NaOH normaal-lahust. Ajada keema ja filtreerida läbi paberfiltri.

4. Valada prooviklaasidesse või kolbidesse. Steriliseerida autoklaavis 115—120° C. soojuses 20 min.

Kuivatatud puuvilja leotis. 1. Võetakse 50—100 g rosinaid või kuivatatud ploome, lisatakse juurde 1000 sm^3 vett, lastakse seista 6—8 tundi, siis keedetakse 10—20 minuti jooksul. Kurnatakse läbi marli.

2. Saadud filtraat aetakse keema ja kurnatakse kuumalt läbi veega märjaks tehtud paberfiltri.

3. Valatakse prooviklaasidesse, kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C. temperatuuris 20 minuti jooksul.

Saadud sööde on nõrgalt leelise reaktsiooniga ja on kõlvuline hallitusseente kasvatamiseks. Teiste mikro-organismide kultiveerimiseks peab vedelikku neutraliseerima enne p. 2 ühe või teise leelisega.

3. Kindla keemilise koosseisuga söötmed. Lihast, puuviljast ja teistest orgaanilistest produktidest valmistatud söötmetes on raskendatud mikroobide füsioloogia uurimine, sest nende söötmete keemiline koosseis on liiga ebamäärane ja lähemalt tundmatu. Seda võimaldavad enam-vähem kindla keemilise koosseisuga söötmed; kuid peab tähendama, et nendes ei kasva hästi enamik mikroobe.

Fraenkel-Voges'i vedelik. 1000 sm^3 destilleeritud vees lahustatakse 6 g ammon. lacticum'i, 5 g natr. chlorat., 4 g asparagiini ja 2 g natr. phosphoric. Lahust keedetakse, kurnatakse ta läbi paberfiltri, valatakse prooviklaasidesse või kolbidesse ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C. kuumuses. Tarbe korral võib sellele söötmele veel juurde lisada 30 sm^3 glütseriini ja 20 g glükoosi, mis suurendavad selle söötme toitvaid omadusi.

Paljud mikro-organismid (nitrobakterid, nitroosobakterid j. t.) ei kasva söötmeis, mis sisaldavad orgaanilisi aineid. Nende kultiveerimiseks on katsutud valmistada mitmekesistest anorgaanilistest sooladest kindla keemilise koosseisuga kunstlikke söötmeid. Kõige soodsamad on nendest:

Gibbs'i sööde, mida tarvitatakse nitriite produtseerivate mikroobide (nitrosobacteria) kasvatamiseks.

Lahus 1: 1000 sm^3 kraanivees lahustatakse 1,0 g $(NH_4)_2SO_4$, 1,0 g K_2HPO_4, 2,0 g NaCl, 0,5 g $MgSO_4$ ja õige vähe $Fe_2(SO_4)_3$. Keedetakse, kurnatakse läbi paberfiltri, steriliseeritakse autoklaavis 110° C. temperatuuris.

Lahus 2: 100 sm^3 kraanivees lahustatakse 5,0 g $MgCO_3$. Keedetakse, kurnatakse, steriliseeritakse autoklaavis.

Söötmeks võetakse 5 sm^3 lahust 1 ja segatakse 0,5 sm^3 lahusega 2.

Külvame saadud söötmesse mulda, siis võib nitriitide tekkimist konstateerida 5—6-päevalise kasvu järele 37° C. soojuses. Külvame saadud kultuurist edasi uude söötmesse, siis võime saada 5—6 generatsiooni järel Winogradski arvates puhta kultuuri, kuna Govda uuemad uurimused on näidanud, et niisuguses kultuuris viibivad peale nitroosobakterite veel teised mikroobid.

Nitraate produtseerivate mikroobide (nitrobakterite) kultiveerimiseks soovitab Gibbs järgmist söödet: 1000 sm^3 kraanivees lahustatakse 1,0 g $NaNO_2$, 1,0 g Na_2CO_3, 0,5 g K_2HPO_4, 0,5 g NaCl, 0,3 g $MgSO_4$ ja väike hulk $Fe_2(SO_4)_2$. Steriliseeritakse autoklaavis.

Külvame kolbidesse, mis sisaldavad ülaltähendatud lahust, 1 g mulda ja kasvatame 37° C. soojuses, siis leiame, et kõik nitriidid ($NaNO_2$) on oksüdeerunud nitraatideks 10-päevase kasvu järel.

Kõvad söötmed.

Kõvade söötmete saamiseks lisandatakse ühele või teisele vedelale söötmele niisuguseid substantse, mis hanguvad harilikus temperatuuris. Samuti võib tarvitada kõvaks söötmeks koaguleerunud valkusid ja mitmekesiseid taimelisi produkte.

Harilik želatiinisööde. Lisandame vedelale söötmele teatud proportsioonis želatiini, siis saame söötme, mis jääb kõvaks keskmiselt kuni + 25° C. temperatuurini ja sulab, kui temperatuur tõuseb kõrgemale. Selle söötme valmistamiseks peab tarvitama head želatiini (gelatin extra — bakterioloogiliseks otstarbeks), harilik želatiin ei hangu, kui söödet steriliseerida 102°—105° C. soojuses või üle selle. Želatiin on happereaktsiooniga; söödet peab pärast želatiini juurdelisamist neutraliseerima kuni neutraalse või nõrgalt leelise reaktsioonini, sest želatiin kaotab hanguvuse, kui teda keedetakse koos kõva leelisega. Želatiinisöötmel võib mikroobe kasvatada ainult 20°—23° C. soojuses, kõrgemas temperatuuris sulab sööde.

Valmistamisviis: 1. 1000 sm^3 lihaveele, mille valmistamise üle hariliku puljongi puhul kuulsime, lisatakse juurde: 10 g peptooni, 5 g meresoola ehk NaCl ja 80—150 g želatiini: suvel lisandatakse 130—150 g, talvel — 80—100 g. Soendatakse emailitud kastrulis väikese tule peal, vahet pidamata segi liigutades puust lusikaga, kuni želatiini sulamiseni. Siis keeta 2—3 minuti jooksul.

2. Neutraliseerimiseks ettevaatlikult juurde lisada NaOH normaal-lahust, hoolega segi segada ja reaktsiooni proovida lakmuspaberiga. Leelist lisatakse juurde kuni neutraalse või ainult nõrgalt leelise reaktsioonini.

3. Valada suurde kolbi ja hoida autoklaavis 112° C. kuumuses 10 min.

4. Kurnata kuumalt läbi veega märjaks tehtud paberfiltri. Kuum želatiin filtreerub harilikult hästi laboratooriumisoojuses; hangub aga želatiin, siis peab filtreerima nii, kuis seda tehakse agaarsöötme valmistamisel.

Saadud filtraat peab olema selge ja täielikult läbipaistev. Juhtub, et filtraat ei ole küllalt selge, siis lastakse seda jahtuda kuni 50°—55° C. ja lisatakse juurde ühest kanamunast saadud valk segatult 50—100 sm^3 veega. Segatakse segi ja hoitakse autoklaavis 112° C. temperatuuris 5 minuti jooksul. Kurnata läbi paberfiltri. Soovitav on valguga želatiini selgitamist ära hoida, sest see ei jäta mõju avaldamata želatiini sulamispunkti peale.

5. Täielikult selge želatiin valatakse kuumalt prooviklaasidesse; kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse autoklaavis 110° C. kuumuses 10 minuti jooksul.

Kui on olemas juba valmis harilik puljong, siis võib sellele juurde lisada 8—15% kuiva želatiini, soendada tule peal kuni ärasulamiseni ja edasi toimetada valmistamist nii, kuis ülal kuulsime (p. 2, 3, 4 ja 5).

Agaarsöötmed. Agaar-agaar'i saadakse India meredes kasvavaist vetikaist (Gelidium spiniforme). Müügile lastakse agaar kuivatatud niitide näol või pulbriks hõõrutult. See substants absorbeerib suurel hulgal vett (200—250 korda rohkem oma kaalust) ja muutub keetmisel süldiks (želee), mis sulab 95°—98° C. soojuses; jahtudes hangub 40°—42° C. temperatuuris. Agaari tarvitatakse nende söötmete aluseks, milledega tahetakse kultuurisid saada 37°—38° C. soojuses. Agaari sisaldavat söödet on raske filtreerida. Läbipaistva söötme saamiseks peab toimetama valguga selgitamist, kuid ka siis jääb sööde opalestseeruvaks.

Agaar ei sisalda pea sugugi toitvat ainet mikroobidele.

Valmistamisviis: 1. Võetakse 20 g kuiva agaar-agaari, lõigutakse kääridega lühikesteks tükkideks, matsereeritakse 2 tunni jooksul külmas vees; pressida kuivaks linase rätiku sees.

2. Tursunud agaar lisatakse juurde 1000 sm^3 harilikule neutraliseeritud lihapeptooni-puljongile.

3. Segu soendatakse tule peal 100° C. temperatuuris emailitud kastrulis (mitte klaaskolvis — läheb katki), segades vahet pidamata puust lusikaga või kepikesega, kuni agaar ära sulab (umbes 30 min.).

4. Proovida reaktsiooni. See peab olema neutraalne või nõrgalt leeline. Tarbe korral neutraliseerida (mõni agaar võib anda söötmele happereaktsiooni).

5. Lasta jahtuda kuni 50°—55° C. ja lisada juurde ühe kanamuna valk segatult 100 sm^3 veega; hästi segi loksutada.

6. Hoida autoklaavis 120° C. kuumuses — 20 min. jooksul. Valk koaguleerub ja võtab kaasa osasid, mis võivad söötme häguseks teha.

7. Autoklaavist võetud kuum agaar kurnatakse läbi märjaks tehtud paberfiltri.

Agaar hangub kiiresti; seepärast peab kurnamist järgmiselt toimetama: võetakse lehter, millesse mahutatakse paberfilter, lehtri ja filtri vahele mahutatakse 3—4 klaaskepikest, et kiirendada kurnamist; lehter ühes filtraadi kogumise riistaga (kolviga) mahutatakse Kochi

aparaati. Kuum agaar valatakse filtri peale ja lehter kaetakse klaasplaadiga; Kochi katel aetakse keema ja soendamist jätkatakse niikaua, kui agaar filtreerub.

8. Kurnatud kuum agaar valatakse väljavalamis-lehtrisse ja kallatakse kiiresti prooviklaasidesse, 8—10 sm^3 igaühte. Klaasid kaetakse puuvillast korkidega.

9. Steriliseeritakse 115° C. kuumuses autoklaavis 20 minuti jooksul.

10. Autoklaavist võetud prooviklaasid sula agaariga:

a) lastakse hanguda vertikaalses olekus — püst-agaar;

b) lastakse hanguda längus, nii et agaari ülemine osa oleks mõni sentimeeter allpool korki — längus-agaar. Längus lasta seista 12—24 tundi selle tarvis valmistatud aluse peal.

Agaari võib vedelaile söötmeile juurde lisada: 0,4% — poolkõva sööde, 1½—2% — harilik agaarsööde ja 3—4% — väga kõva sööde. Viimast tarvitatakse siis, kui agaarile soovitakse pärast juurde lisada mõnd vedelikku: vereseerumit, verd, transsudaati või ekssudaati.

Et agaar kindlamini jääks prooviklaaside seinte külge, lisatakse söötmele juurde valmistamise ajal 2% želatiini või lastakse kuivada agaari servi termostaadis hoidmise abil.

Agaari filtreerimise kiirendamiseks tarvitatakse mitmesuguseid soendamislehtreid, mis kujutavad kahekordsete seintega metall-lehtrit, mida kõrvalt kuni keemiseni võib soendada. Klaaslehter ühes filtriga ja selle peale valatud agaariga mahutatakse säärasesse soendusaparaati ja filtreeritakse.

Et mööda pääseda kurnamisest, soovitab Fischer valada autoklaavist võetud kuuma agaari lehtrisse, mille alumine ots korgiga on kinni pandud, ja lastakse hanguda. Seejuures langeb sade alumisse ossa. Agaar võetakse lehtrist tervelt välja ja lõigatakse ära sadet sisaldav alumine osa. Ülemine läbipaistev osa sulatatakse, valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse. Sel teel saame küllalt kõlvulise agaari harilikkudeks uurimisteks.

Glütseriiniagaar. Harilikule agaarsöötmele lisatakse juurde 4—6% glycerini pur. (steriliseerida 100° C. temperatuuris).

Suhkur-agaar. Harilikule agaarsöötmele lisatakse juurde 1—2% glükoosi, laktoosi või mõnd teist suhkrut. Steriliseerida 100° C. kuumuses.

Mullaekstrakti ning pestud agaari sööde. Nitrooso- ja mitrobakterite isoleerimise otstarbel peab tarvitama hanguva söötme valmistamiseks niisugust ainet, mis ei sisalda valk-olluseid. Selleks võetakse kuiv agaar, lõigutakse väikesteks tükkideks ja hoitakse 8—10 päeva jooksul külmas vees, vahetades vett mitu korda. 2 liitrile veele lisatakse juurde 1 kg mulda, loksutatakse segi ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C. kuumuses 2 tunni jooksul. Kurnatakse läbi paberfiltri ja saadud filtraat kurnatakse veel läbi Chamberland'i filtri. Filtraati steriliseeritakse kolm päeva järjest autoklaavis 110° C. temperatuuris, iga päev 1 tunni jooksul.

Saadud mullaekstraktile lisatakse juurde $1^1/_2$—$2^0/_0$ pestud agaari ja ülaltähendatud Gibbs'i soolalahuseid. Keedetakse autoklaavis; kurnatakse; valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse autoklaavis.

Gibbs'i lahuseid ja mullaekstrakti võib segada mitmes proportsioonis.

Koaguleerunud vereseerum. Bakterioloogiliseks otstarbeks tarvitatakse peaasjalikult hobuse, härja, vasika, oina ja eesli vereseerumit. Teistel kordadel on soovitav tarvitada katsejänese või merisea seerumit.

Steriilse vereseerumi saamiseks tarvitatakse järgmisi meetodeid:

1. Veeni punktsioon. Valitakse terve loom ja punkteeritakse veeni (v. jugularis) 24-tunnilise 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. soojuses, et veri kiiremini hüübiks, hoitakse selle järel 24 tundi külmas kohas (+7—10° C.), mitte jääkeldris, kus veri muutub lakiliseks. Seerum imetakse koaagulumi pealt suure pipetiga ära ja valatakse steriilseisse pudelitesse, mis kindla korgiga pealt kinni kaetakse, või ampullidesse, mis tule peal kinni joodetakse. Et tähendatud protseduuri puhul mikroobid siiski seerumisse võivad sattuda, siis soovitatakse saadud seerumit lõpuks steriliseerida tindaliseerimise abil 3—4 päeva järjest.

2. Tapamajast saadud veri. Looma tapmise puhul kogutakse veri kõrgesse silindrisse ja lastakse hüübida, nii kui ülalpool kuulsime. Vereseerum kogutakse pipeti abil kolbidesse, pudelitesse või teissugustesse klaasnõudesse. Seesugune seerum sisaldab harilikult suurel arvul mikroobe ja teda peab hoolega steriliseerima. Steriliseerimist toimetatakse mitmel viisil: a) Tindaliseeritakse 7 päeva järjest: esimesel päeval 2 tundi 56—58° C. soojuses, järgmistel päevadel 1 tunni jooksul. Soendamiste vaheajal hoitakse seerum toatemperatuuris (mitte jääkapis). b) Iga 1000 sm³ seerumile lisatakse juurde 5—10 sm³ kloroformi, seerumit sisaldav riist kaetakse kindla kummikorgiga ja lastakse seista külmas kohas. Umbes 2 kuu järel surevad seerumis viibivad mikroobid (eosed võivad eluvõimeliseks jääda). Enne tarvitamist valatakse seerum kolbidesse või prooviklaasidesse, kaetakse need puuvillast korkidega ja hoitakse mõni tund termostaadis 37° C. soojuses, et kloroform ära auraks. Kui aga tahetakse seerumi steriliseerimist kiiremini saavutada, siis lastakse teda seista koos kloroformiga 48 tunni jooksul, seerumit sisaldav riist kaetakse puuvillast korgiga ja tindaliseeritakse 6 päeva järjest. c) Seerum filtreeritakse läbi Berkefeld'i filtri, mis kaunis palju aega nõuab. d) Võetakse 9 osa seerumit ja lisatakse juurde 1 osa $15^0/_0$ NaOH-lahust; hoitakse 2 päeva termostaadis 37° C. soojuses, mille tõttu tekivad alkaali-albuminaadid, mis ei koaguleeru keetmise puhul (Klein). Parem on võtta vereseerumit ja lisada juurde normaal kal. caustic. lahust niipalju, et võetud proov ei koaguleeruks keetmise aegu (näiteks 300 sm³ seerumit + 30 sm³ normaalset KOH-lahust). Hoida termostaadis 1—2 päeva jooksul (Czaplevski). Steriliseerimist toimetatakse Koch'i aparaadis 100° C. kuumuses 15 min. kolm päeva järjest või autoklaavis 105° C.

temperatuuris. Kleini meetodi järele valmistatud seerumit peab enne tarvitamist neutraliseerima soolhappega, kuni võetud proov ei koaguleeruks keetmise aegu prooviklaasis. Sel teel võib kiiresti saada steriilse seerumi, mis on kõlvuline teistele söötmetele juurdelisamiseks. Koaguleeritud seerumi valmistamiseks peab seda enne täielikult neutraliseerima (ei ole kõige kohasem).

Seerumi koaguleerimine. 1. Prooviklaasidesse valatakse umbes 10 sm^3 steriliseeritud vereseerumit ja mahutatakse längus olekus Kochi koaguleerimisaparaati. See aparaat kujutab kahekordsete seintega vaskplekist kasti, mida vähem või rohkem längu võib lasta. Seinte vahel on vesi, mida jalgadel seisva kasti põhja alt võib soendada. Aparaat on varustatud termoregulaatoriga ja termomeetriga. Teda kaetakse harilikult kahekordse kaanega: sisemine kaas klaasist, välimine metallist. Aparaadi põhja pannakse õhuke kiht liiva, mille peal seisavad prooviklaasid seerumiga.

2. Temperatuur tõstetakse soendamise abil kuni 68—72° C. (olenedes seerumist) ja hoitakse sel kõrgusel 2—3 tunni jooksul. Hästi läbipaistva koaguleerunud seerumi saamiseks peab koaguleerimist toimetama minimaalse soojuse abil, milles seerum võib koaguleeruda.

3. Koaguleerumise käiku kontrollitakse vahetevahel; selleks võetakse prooviklaas aparaadist ja vaadatakse, kas seerum seisab längus, kui klaasi püsti tõstame.

Enne tarvitamist proovitakse söötme steriilsust; selleks hoitakse klaasid 36 tundi termostaadis 37° C. soojuses.

Kui ei ole koaguleerimisaparaati, siis võib koaguleerimist toimetada 68°—72° C. peale reguleeritud termostaadis või võetakse plekkkastike, millesse mahutatakse prooviklaasid seerumiga längus olekus, kast kaetakse klaaskaanega ja pannakse veega täidetud kastruli peale, mis tule peal keema aetakse.

Koaguleerunud seerum peab olema kollakat värvi ja läbipaistev.

Loeffler'i seerum. 1. Võetakse 3 osa vereseerumit (steriilne), lisatakse juurde 1 osa steriliseeritud, nõrgalt leelise reaktsiooniga glükoosipuljongi (1% glükoosi) ja valatakse prooviklaasidesse.

2. Koaguleeritakse 70—95° C. temperatuuris, nii kui ülalpool kuulsime.

See sööde on väga kohane b. diphtheriae kasvatamiseks.

Glütseriinseerum. 1. Kolbi võetakse 6—8 g puhast glütseriini ja steriliseeritakse autoklaavis, 110° C., 15 min.

2. Jahtunud glütseriinile lisatakse juurde 100 sm^3 steriilset vereseerumit, segatakse segi ja valatakse prooviklaasidesse.

3. Koaguleerimist toimetatakse 75—78° C. soojuses.

See sööde on väga kohane b. tuberculosis'e kasvatamiseks.

Agaarseerum ja agaar-astsiit. 1. Võetakse prooviklaasid hariliku steriliseeritud agaariga ja sulatatakse agaar täielikult 100° C. kuumuses vesivannis.

2. Lasta jahtuda ja hoida 45—50° C. soojuses.

3. Igale klaasile lisatakse juurde $^1/_3$—$^1/_2$ osa vereseerumit või astsiidivedelikku ja segatakse segi, veeretades klaasi käte vahel.

4. Lasta hanguda längus olekus või valada segu Petri kaussi ja lasta hanguda horisontaalsel alusel.

Samuti võib agaarile juurde lisada pleura ekssudaati, hüdrotseelevedelikku jne.

Veri-agaar. 1. Võetakse prooviklaasid agaariga (tarbe korral glütseriin-agaariga), sulatatakse agaar 100° C. kuumuses, lastakse jahtuda kuni 45° C.

2. Igale klaasile lisatakse juurde 1 sm^3 verd (jänese, inimese j. t.), mis saadakse värskelt veenist või arteerist punktsiooni abil, segatakse segi.

3. Lastakse hanguda längus olekus või valatakse Petri kaussidesse.

Vereseerumi asemel, mille saamine on teinekord raskustega seotud, võib tarvitada pleura ekssudaati, mis hästi koaguleerub. Selleks kogutakse aseptiliselt toimetatud punktsiooni puhul ekssudaat steriilsesse kolbi, kaetakse puuvillast korgiga ja lastakse seista külmas kohas 48 tundi, missuguse aja jooksul koaguleerub fibriin. Ekssudaat valatakse steriilse pipeti abil kolbidesse või prooviklaasidesse. Enne tarvitamist peab proovima saadud ekssudaadi steriilsust. Selleks võetakse prooviklaas 10 sm^3 hariliku puljongiga, lisatakse juurde 3—5 sm^3 ekssudaati ja hoitakse 24—48 tundi termostaadis 37° C. soojuses. Sagedasti peab ekssudaati steriliseerima, nii kui seda toimetatakse vereseerumiga.

Astsiidivedelikku tarvitatakse peaasjalikult juurdelisamiseks teistele söötmetele. Seda peab iga kord proovima steriilsuse suhtes. Iga vedelik ei ole ühesuguse toitva väärtusega; sellepärast peab iga uut vedelikku proovima, kas ta kõlbab kasvuks nõudlikkudele mikroobidele (gonococcus, meningococcus j. t.).

Munasööde. Sagedasti valmistatakse kanamunast mitmekesiseid söötmeid. Munad on tihti infitseeritud, seepärast peab alati proovima nende steriilsust, hoides neid termostaadis 37° C. soojuses.

Loomulik munasööde. Võetakse värske muna ja raputatakse tugevasti, et segada valku rebuga. Muna koort pestakse sublimaadilahusega (1 : 1000) ja alkoholiga, siis kuivatatakse filtreerimispaberiga. Muna teravat otsa põletatakse tule peal, kuni koor pruuniks muutub. Sinna otsa tehakse väike auk steriilse jämeda naaskliga, mille kaudu külvatakse muna sisse uuritavat materjali pipeti või plaatinanõela abil. Auk joodetakse sula vahaga kinni ja koor kaetakse harilikult kolloodiumikihiga.

Petrof'i sööde. 1. Võetakse suur tükk värsket vasikaliha, mille sisemisest osast lõigatakse tule peal steriliseeritud noaga tükid ja lastakse läbi autoklaavis steriliseeritud lihahakkimis-masina (võimalikult aseptiliselt toimetada). Steriilses kolvis segatakse 250 g hakitud liha, 212 sm^3 steriliseeritud aq. destill. ja 37,5 g steriliseeritud glütseriini. Lastakse seista 12—20 tundi jääkapis ja kurnatakse siis läbi steriilse marli.

2. Võetakse 16—20 värsket kanamuna, mahutatakse need 15 minutiks 70% alkoholi. Töötades steriliseeritud kummikinnastega, lüüakse munad katki, valk ja rebu kogutakse steriilsesse kolbi ja loksutatakse hästi segi. Siis kurnatakse läbi steriilse marli.

3. Segatakse 200 sm^3 lihafiltraati 400 sm^3 munafiltraadiga.

4. Ühele osale segule lisatakse juurde iga 100 sm^3 kohta 1 sm^3 lahust: gentsianivioletti 0,5 g + 95° alkoholi 50,0 sm^3; segatakse hoolega segi ja valatakse steriilseisse prooviklaasidesse. Samuti valatakse prooviklaasidesse ka ilma gentsianivioletita osa.

5. Prooviklaasid söötmega mahutatakse längus olekus koaguleerimisaparaati ja soendatakse seda: esimesel päeval 85° C. temperatuuris 30 min., teisel ja kolmandal päeval 75° C. soojuses 30 min. Soendamise vaheajal jäetakse klaasid aparaati.

Gentsianivioletti sisaldav sööde on väga kohane tuberkuloosibatsillide isoleerimiseks; ilma värvita söödet tarvitatakse nende batsillide kultuuride edasikülvamiseks ja alalhoidmiseks.

Kartulid ja porgandid. Võetakse suured, hästi valminud, ilma mädaplekkideta valged kartulid ja pestakse neid jooksva kraanivee all harjaga. Siis kooritakse nad tules steriliseeritud noaga puhtaks. Edasi toimetatakse järgmiselt: 1. Puhtaks kooritud kartul lõigatakse hõbenoaga (terasnoaga lõigatud kartuli pind muutub sagedasti mustaks) 10—15 mm paksusteks lipsudeks ja mahutatakse nad suurde Petri kaussi steriliseeritud destilleeritud vette ja ei puudutata neid enam sõrmedega. Kartulilipsud kuivatatakse steriilse filtreerimispaberi vahel ja mahutatakse Petri kaussi või Kochi kartulikaussi. Steriliseeritakse autoklaavis 120° C. kuumuses 20 min. jooksul.

2. Kooritud kartulist lõigatakse noaga või selle tarvis valmistatud puuriga silindrikujulised tükid, 4—5 sm pikad, mis siis diagonaalipidi pooleks lõigatakse. Kiilusarnased tükid pestakse steriilses destilleeritud vees puhtaks, kuivatatakse filtreerimispaberi vahel, mahutatakse Roux' kartuliklaasidesse ja kaetakse puuvillast korkidega.

Roux' klaas kujutab harilikku prooviklaasi, mille alumises osas on kitsus. Selle peale jääb püsima klaasi lastud kartul. Samaks otstarbeks võib tarvitada harilikku prooviklaasi, mille põhja mahutatakse 2—3 sm pikkune klaaspulgake, mis kartuli üleval hoiab. Klaasi põhja valatakse mõni sm^3 vett, et kartul ära ei kuivaks. Steriliseerida autoklaavis 120° C. kuumuses 20 min. jooksul. Autoklaavist väljavõtmise järel hoitakse klaasid längus, nii et kartuli tasane pind oleks allapoole ja et kumer pind oleks vabastatud klaasi küljest. 24 tunni seismise järel tõstetakse klaasid püsti, mille järel kumer külg ei jää enam klaasi külge ja kartul ei lähe kõveraks.

Mõned kartulid on happereaktsiooniga; siis peab valmislõigatud tükkisid hoidma 6—12 tundi 1% soodalahuses.

Mõnedel juhtumustel (näiteks b. tuberculosis'e kultiveerimiseks) mahutatakse valmislõigatud kartulitükid 5—10% glütseriinivette ja hoitakse seal 24 tundi. Prooviklaasi põhja valatakse glütseriinivett kuni kartuli alumise otsani, kartulitükid lastakse klaasidesse ja steriliseeritakse, nii kui ülalpool kuulsime.

Samuti kui kartulist võib söödet valmistada porgandist ja teistest juurviljadest.

Värvilised söötmed.

Sagedasti lisatakse söötmeile juurde üht või teist värvollust, mis võib muutuda mikroobide kasvu puhul tekkivate produktide

(happed, aldehüüdid jne.) toimel. Seesugused söötmed võimaldavad mikroobide identifitseerimist ja isoleerimist. Kõige sagedamini tarvitatakse selleks lakmust, mis muutub punaseks hapete mõjul, fuksiini, neutraalpunast jne.

Lakmussöötmed: 1. Võetakse harilikku steriliseeritud suhkur- (1—4%) glükoosi, laktoosi, manniiti, galaktoosi, maltoosi, roosuhkrut j. t.) puljongi, agaari või želatiini prooviklaasides.

2. Valmistatakse prooviklaasid steriliseeritud lakmustinktuuriga. Selle valmistamiseks võetakse kuivatatud sinist lakmust ja keedetakse 85° alkoholis; lastakse seista, eraldatakse pealmine vedelik ja sademele lisatakse juurde 6—8 osa destilleeritud vett; soendatakse tule peal ja kurnatakse läbi paberfiltri. Saadud filtraati hoitakse puuvillast korgiga pudelis. Saadud lahuse poolele osale lisatakse juurde lahjendatud väävelhapet, kuni segu muutub peaaegu punaseks. See segatakse järelejäänud teise poolega, et saada tundlikku tinktuuri. Segu valatakse prooviklaasidesse, kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse 115° C. kuumuses 10 min. jooksul. Tinktuur peab olema sinist värvi, vähe violetse jurnega. Muutub tinktuur seismise tõttu punakaks, siis võib teda soodalahuse juurdelisamisega sinakaks muuta.

3. Tarbe korral võetakse puljong, želatiin või agaar, viimased kaks sulatatakse vesivannis, ja nendele lisatakse steriilse pipetiga juurde lakmusetinktuuri, kuni sööde omandab selgelt sinise värvi.

Ei ole soovitav söödet steriliseerida pärast lakmuse juurdelisamist, sest siis võib muutuda tema värv.

Tekib mikroobide kasvu puhul hape, siis muutub sööde kordkorralt punakaks.

Petruscky sööde (Lakmusmolke). 1. Kooritud piim aetakse keema; lisatakse juurde lahjendatud (1:10) soolhapet, niikaua kui veel sadestub kaseiini. Prooviks kurnatakse mõni sm^3 läbi paberfiltri ja lisatakse hapet juurde. Hapet peab ettevaatlikult juurde lisama, — üleliigne hape on kahjulik mikroobidele, ka pärast selle neutraliseerimist.

2. Lastakse seista mõni tund jääkapis, eraldatakse pealmine vedelik ja kurnatakse seda mitu korda läbi paberfiltri, kuni filtraat peaaegu selgeks jääb.

3. Neutraliseeritakse kontsentreeritud soodalahusega, keedetakse 1 tunni jooksul, kurnatakse ja neutraliseeritakse veel kord.

4. Lisatakse juurde lakmusetinktuuri kuni selgelt sinise värvini. Valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse kolm päeva järjest 100° C. kuumuses igapäev 20 min. jooksul.

Kui happe tekkimist uuritakse piimsöötme abil, siis lisandatakse steriliseeritud piimale lakmusetinktuuri kuni selgelt sinise värvini.

Kongopunase-agaar (Liebermann ja Acél). 1 liitri harilikule agaarile, mis alkaliseeritud nõrgalt soodalahusega, lisatakse juurde 15 g laktoosi ja 3 g kongopunast (pulbris). Keeta, hästi segi loksutada. Välja valada klaasidesse väikeste hulkadena ja steriliseerida 3 korda 100° C. kuumuses 20 min. jooksul. Sellel söötmel kasvavad b. typhi pesad on punased, b. coli omad sinakasmustad.

Endo sööde (fuksiin-agaar). 1 liitrile 3% harilikule agaarile, mis neutraliseeritud lakmusepunktini, lisatakse juurde 10 sm³ 10% soodalahust ja 10 g keemiliselt puhast, väikeses hulgas destilleeritud vees keetmise teel lahustatud piimasuhkrut (laktoosi). Siis võetakse 5,0 sm³ küllastatud fuksiin-alkoholi lahust (kurnatud läbi paberfiltri) ja lisatakse juurde kuumale agaarile. Fuksiinilahus valmistatakse 24 tundi enne tarvitamist. Selle järel valmistatakse 10% natr. sulfit'i (keemiliselt puhas) lahus steriilses destilleeritud vees (ex tempore) ja lisatakse seda juurde värvitud kuumale agaarile niipalju (umbes 25 sm³), et kuumalt roosa agaar oleks jahtumise ja hangumise järel täielikult värvitu või nõrgalt roosakas. Kontrolliks valatakse mõni tilk kuuma agaari tassi peale ja lastakse hanguda. Valatakse väikestesse kolbidesse ja steriliseeritakse kaks korda 30 min. ja üks kord 20 minuti jooksul Kochi katlas 100° C. temperatuuris. Hoitakse pimedas kohas võimalikult kaitstult õhu juurdepääsmise eest (kolvid kaetakse kummimütsikestega). Enne tarvitamist sulatatakse vesivannis ja valatakse Petri kaussidesse. See sööde ei ole kaua püsiv.

Mikroobide pesade kohal ja ümber, kus tekivad hape ja aldehüüdid, muutub sööde punaseks (b. coli).

Lakmusnutroosi-agaar (Drigalski ja Conradi). Hariliku meetodi järele valmistatakse agaar, mis sisaldab 3½% agaari, 1% peptooni, ½% NaCl ja 1% nutroosi; neutraliseeritakse kuni nõrgalt alkaalilise reaktsioonini lakmuse suhtes. Sulatatakse ära 1 liiter nutroosiagaari ja lastakse jahtuda kuni 50° C. Siis võetakse 130 sm³ lakmusetinktuuri, keedetakse 10 minuti jooksul, lisandatakse 15 g keemiliselt puhast laktoosi ja keedetakse 15 min. (mitte kauemini). Lastakse jahtuda kuni 50° C., lisatakse juurde agaarile ja loksutatakse hästi segi. Selle järel lisatakse segule juurde tilkade viisi kuuma 10% soodalahust destilleeritud vees, kuni loksutamise tagajärjel tekkiv punane vaht muutub sinikasvioletseks (umbes 2 sm³). Lõpuks lisandatakse 10 sm³ värskelt valmistatud lahust: 0,1 g kristallvioletti B (Höchst) + 100 sm³ kuuma destilleeritud vett; loksutatakse segi ja valatakse kolbidesse 100 sm³ igaühte (mitte rohkem, — raske pärast sulatada). Ei tarvitata söödet kohe, siis steriliseeritakse seda 100° C. temperatuuris 10 minuti jooksul. Sööde peab olema sinist värvi, vähe violetse jumega. Happe mõjul muutub sööde punaseks (b. coli).

Neutraalpunase-agaar. Valmistatakse hariliku meetodi järele 0,4% agaarsööde. Lisandatakse iga liitri kohta 2 g glükoosi ja neutraalpunase veelahust (umbes 0,75 sm³ 1 : 100 neutraalpunase lahust iga 100 sm³ agaari kohta), kuni sööde omandab selgelt roosa värvi. Valatakse prooviklaasidesse ja steriliseeritakse 115° C. kuumuses 20 min.

B. coli, kasvades selles söötmes, dekoloreerib söötme ja annab sellele silmapaistva fluorestsentsi.

Peale ülaltähendatud värvide lisatakse söötmetele juurde veel mitmesuguseid teisi värvolluseid: chinablau, malachitgrün, alizarin, jne.

Söötmete reaktsiooni määramine vesinikuioonide kontsentratsiooni abil.

Nii kui uuemad uurimused näitavad, nõuavad mõned mikroobid oma kasvu optimumiks söötme alkaliteeti, mis ainult kitsastes piirides võib kõikuda. Alkaliteedi kontrolli võib saavutada kõige täpsamalt vesinikuioonide kontsentratsiooni äramääramisega. Happereaktsiooniga on niisugune lahus, mis sisaldab liigmääral vesinikuioone [H·], alkaaliline on see lahus, kus viibib liigmääral hüdroksüüli-ioone [OH']. Näiteks on ringivas veres vesinikuarv $0{,}5 \cdot 10^{-7} = 10^{-7{,}3}$. Sörensen soovitas vesinikuarvu asemel tarvitada selle logaritmi ehk nõndanimetatud vesinikueksponenti P_H. Selle järele oleks vere vesiniku eksponent $P_H = 7{,}3$. $[H\cdot] = [OH'] = 0{,}85 \cdot 10^{-7} = 10^{-7{,}07}$, mis tähendab neutraalset reaktsiooni. P_H on neutraalse reaktsiooniga lahuses = 7,07, happereaktsiooni korral vähem, alkaalilise reaktsiooni korral suurem kui 7,07.

Praktiliseks otstarbeks annab P_H määramine Michaelis'e indikaatorite meetodi järele küllalt täpsad resultaadid. Seda meetodit võib tarvitada P_H määramiseks söötmetes, veres, vees, uriinis ja teistes vedelikkudes.

Prooviks on tarvilikud:

1. Komparaator, nurgeline puuklopp 8,5 sm kõrge, 9 sm lai ja 4,5 sm paks. Prooviklaaside mahutamiseks puuritakse puuklopi sisse 6 vertikaalset silindrilist auku: 8,5 sm sügavad ja 1,75 sm laiad. Augud puuritakse kahes paralleelses reas ja märgitakse järgmiselt: eesmine rida nr. 1, 2 ja 3, tagumine nr. 4, 5 ja 6. Külje pealt puuritakse klopi sisse veel kolm auku (1,3 sm laiad), mis eelmise ja tagumise vertikaalse rea aukude alumisest verandist risti läbi lähevad. Nende aukude läbi võib näha vertikaalseisse aukudesse mahutatud prooviklaase ja võrrelda 1. ja 4., 2. ja 5. ehk 3. ja 6. prooviklaasis viibiva vedeliku värvi.

2. Alglahused järgmistest 4 indikaatorist destilleeritud vees: a) 0,1% p-nitrofenool; b) 0,3% m-nitrofenool; c) 0,25% γ-dinitrofenool; d) 0,5% α-dinitrofenool. Neid aineid lahustatakse soojas vees.

3. Püsivad, valguse vastu kaitstud 4 indikaatori lahjendid, mis näitaksid P_H 2,8—8,4. Nende valmistamiseks võetakse 4 rida ühelaiusi prooviklaase, igas reas 9 klaasi. Igast alglahusest valmistatakse kümnekordne lahjend 0,1 n-soodalahusega. Esimese rea 9 klaasi sisse võetakse järjest 0,16; 0,25; 0,4; 0,63; 0,94; 1,4; 2,08; 3,0 ja 4,05 p-nitrofenoolilahust (0,1% p-nitrofenooli lahus lahjendatud kümme korda 0,1 n-soodalahusega) ja lisatakse juurde 0,1 n-soodalahust igale klaasile kuni 7,0 sm^3. Nendes prooviklaasides on P_H järjekorras: 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,2; 6,4; 6,6; 6,8; 7,0. Teise rea prooviklaaside sisse võetakse samuti 0,3% m-nitrofenooli (lahjendatult kümme korda 0,1 n-soodalahusega): 0,27; 0,43; 0,66; 1,0; 1,5; 2,3; 3,0; 4,2 ja 5,2 sm^3. Igale klaasile lisatakse juurde 0,1 n-soodalahust kuni 7,0 sm^3. Nendes klaasides oleks $P_H = 6{,}8$; 7,0; 7,2; 7,4; 7,6; 7,8; 8,0; 8,2; 8,4. Kolmandasse ritta samuti γ-dinitrofenooli: 0,74; 1,1; 1,65; 2,4; 3,4; 4,5; 5,5; 6,6 (ainult 8 klaasi sisse). Nendes on $P_H = 4{,}0$; 4,2;

4,4; 4,6; 4,8; 5,0; 5,2; 5,4. Neljandasse ritta võetakse α-dinitrofenooli: 0,51; 0,78; 1,2; 1,74; 2,5; 3,4; 4,6; 5,7 ja 6,7 sm^3. Nendes on $P_H = 2,8$; 3,0; 3,2; 3,4; 3,6; 3,8; 4,0; 4,2; 4,4. Lõpuks joodetakse prooviklaasid pealt kinni ja mittetarvitamise korral hoitakse neid pimedas kohas. Klaasisid võib korkidega katta ja paraffiiniga kinni joota.

P_H määramine. Uuritav vedelik lahjendatakse destilleeritud veega, kuni lahjend paistab ainult nõrgalt värvituna. Puljongi lahjendatakse 2 osa veega. Kõvad söötmed sulatatakse alguses vesivannis ja siis lahjendatakse. Mõõtmiseks võetakse 4 prooviklaasi, sama laiad kui indikaatorite klaasid. Klaasi 1 ja 2 võetakse kummassegi 6,0 sm^3 lahjendatud vedelikku ja mahutatakse komparaatori aukudesse 1 ja 2. Klaasile 1 lisatakse juurde 1 sm^3 sünnist indikaatorit (alglahust, mitte lahjendatud) ja klaasile 2 lisatakse juurde 1 sm^3 destilleeritud vett. 4. auku mahutatakse prooviklaas destilleeritud veega. 5. auku mahutatakse üht või teist klaasi püsiva indikaatori lahusega ja võrreldakse vaatamisaukude läbi selle värvi augus 1 viibiva vedeliku värviga. See püsiva indikaatori lahuseklaas, mille värv on täielikult sarnane uuritava vedeliku värviga, näitab uuritava vedeliku P_H. Vaadatakse vastu taevast või hoitakse komparaatori taga mattklaasi või läbipaistvat sinist klaasi.

Uuritavat vedelikku võib lahjendada destilleeritud veega kuni 1:10 ilma suurema veata saadud resultaatides. Kui uuritav vedelik ei ole värviline, siis peab P_H määramist toimetama vähemate lahjendustega või ilma lahjendamata. Näiteks võiks lahjendada puljongi 1:3, uriini 1:2—1:3, maomahla 1:3; vett võib uurida ilma lahjendamata.

Kindla P_H-sisaldusega puljongi saamiseks soovitab Michaelis lisandada sellele valmistamise ajal 5 g NaCl asemel ainult 3 g NaCl ja 2 g harilikku naatriumfosfaati (di-fosfaati). Steriliseerimise järel parandatakse reaktsiooni 15% NaOH või soolhappe tilkade viisi juurdelisamisega. Niisugune puljong ei muuda oma alkaliteeti steriliseerimise tagajärjel.

Harilikul puljongil peab P_H olema 7,4—7,6. P_H optimum on ligikaudu järgmine: b. anthracis 7,7—8,0, b. coli 6,8—8,2; b. dysenteriae (Shiga, Flexner ja Y) 7,2—8,0; b. typhi 7,2—7,9; b. paratyphi B 7,0—8,0; staphylococcus pyog. aureus 6,8—8,2; streptococcus 7,5—7,7.

Paljude mikroobide kohta ei ole veel teada P_H optimum; selle kindlaksmääramiseks on tarvilikud põhjalikumad uurimused.

Mikroobide kultiveerimine ja isoleerimine.

Mikroobidekultuuri saamiseks peab neid külvama vastavasse söötmesse ja kasvatama soodsas soojuses. Külvamisel peab alati silmas pidama järgmisi põhiseadusi:

1. Külvama peab mikroobe steriilseisse söötmeisse steriilsete instrumentidega. 2. Külvamise puhul ei tohi pääseda külvatava aine sisse mikroobid ümbruskonnast, samuti ei tohi vigastada aines viibivaid mikroobe (kuum instrument, desinfitseerivate ainete juurdepääsmine).

3. Külvamiseks tarvitatav instrument (plaatinanõel, pipett) peab steriliseeritama otsekohe pärast külvamist.

Külvamist peab toimetama ruumis, kus on puhas õhk ja kus on vähem õhu liikumist (parem eralditoas). Avatud söötmega riist (Petri kauss, prooviklaas) peab hoitama söötmepinnaga kas allapoole või hästi längus, et tolm õhust peale ei langeks. Söötme peale ei tohi külvamise aegu hingata. Tarbe korral (ruumis palju tolmu, külvatav materjal väga kardetav) toimetatakse külvamist selle tarvis valmistatud klaaskapikeses, kuhu ainult töötaja käed sisse pääsevad.

K ü l v a m i n e. Söötmele külvamiseks võib tarvitada mitmekesist materjali: puhast kultuuri, vett, mäda, verd, mulda, tolmu ja teisi aineid. Kui külvamist ei toimetata koha peal, siis peab uuritavat materjali koguma steriliseeritud riista ja seda niiviisi transporteerima, et mikroobid ümbruskonnast sisse ei pääseks, et aines viibivad mikroobid ei saaks viga ja et võimalikult oleks takistatud nende sigimine.

A. K ü l v a m i n e v e d e l a s s e s ö ö t m e s s e. 1. Võetakse prooviklaas puljongsöötmega ja prooviklaas külvatava kultuuriga; puuvillast korke põletatakse tule peal, et neid tolmust puhastada. Korke keerutatakse paar korda, et neid pärast vabalt võiks ära võtta. 2. Klaasid võetakse kõrvuti pahemasse kätte, nii et alumised osad oleksid peopesas, ülemised esimese-teise ja teise-kolmanda sõrme vahel; neid hoitakse võimalikult längus. 3. Parema käe esimese ja teise sõrme vahele võetakse plaatinanõel, põletatakse tules ja lastakse jahtuda. 4. Kultuuriga prooviklaasi kork võetakse parema käe sõrmede vahele: teise ja kolmanda, kolmanda ja neljanda või viienda ja peopesa vahele. 5. Plaatinanõel või -aas juhitakse klaasi, nii et see kokku ei puutuks klaasisuu servadega. Kastetakse kultuurisse ja võetakse kohe välja. Klaasisuu servi põletatakse tules ja klaas kaetakse korgiga. Korki ei ole soovitav põletada tules, sest siis langevad selle küljest söestunud osakesed söötmesse. 6. Siis avatakse söötmega klaas, plaatina-aas juhitakse söötmesse, loksutatakse kergelt söötmes, klaasi servi põletatakse tules ja kaetakse nad korgiga, nii kui eelmisel korral. 7. Plaatina-aasa steriliseeritakse tules kohe pärast külvamist. 8. Proovitakse, kas korgid on kõvasti peal; klaasile kleebitakse etikett ja tähendatakse selle peale külvi-aeg ning mikroobide nimetus.

Kui kultuure peab pika aja jooksul kasvatama või alal hoidma, siis kaetakse puuvillast kork paberist mütsikesega, mis teda kaitseb tolmu ja mustuse eest.

Külvamist peab toimetama kiiresti. Korki ei tohi käest laua peale panna. Plaatinanõela hoidja ei tohi kokku puutuda kultuuriga ega ka söötmega.

Külvamist võib toimetada plaatinanõela asemel Pasteuri pipetiga.

B. J o o n k ü l v k õ v a l e s ö ö t m e l e. 1. Nii kui öeldud A juures, võttes puljongi asemel prooviklaasid agaariga; 2, 3, 4, 5 nii kui A juures. 6. Kultuuriga plaatina-aas või nõel juhitakse klaasi, nõela ots litsutakse kergelt vastu klaasi põhjale ligidal olevat längus agaaripinda ja tõmmatakse agaaripinda-pidi kas õiget joont pidi või loogelist joont pidi agaari ülemise servani, hõõrudes kergelt agaaripinda. 7 ja 8 nii kui A.

C. Pistkülv. 1. Nii kui A, võttes külvamiseks vertikaalses olekus hangunud agaari või želatiini. 2. Klaasid võetakse pahemasse kätte: kultuuriga klaas peopesas esimese ja teise sõrme vahele; söötmega klaasi hoitakse teise ja kolmanda sõrme vahel, vertikaalselt, põhjaga ülespoole. 3. Plaatinanõel võetakse paremasse kätte (pihku); põletatakse tules. Plaatinanõel peab olema täielikult sirge. 4 ja 5 nii kui A juures. 6. Söötmeklaasi kork võetakse esimese ja teise sõrme otste vahele; kultuurisse kastetud nõel juhitakse klaasi ja puudutatakse söötme pinna keskkoha vastu; siis lastakse klaas langeda oma raskusega; kui nõela ots puutub klaasi põhja külge, siis tõmmatakse ta sama joont pidi välja tagasi. 7 ja 8 nii kui A juures.

Pistkülvi joon peab õige olema, lateraalseid söötme osasid ei tohi külvamise aegu purustada.

Külvatavat materjali (kultuuri) võib võtta plaatina-aasaga või -nõelaga kõva söötme pinnalt ja edasi külvata. Pipeti abil toimetatakse külvamist, kui soovitakse korraga suuremat hulka vedelat kultuuri või mõnd teist ainet edasi külvata. Sama ettevaatust peab tarvitama, kui külvatakse söötmele, mis asetseb suurtes riistades (Roux' kolvid, Soyka kolvid, Erlenmeyeri kolvid jne.). Säärasel korral seisab riist söötmega paigal laua peal ja tõstetakse ainult pärast külvamist servade põletamiseks tule peale.

Kultuuride kasvutingimused. Külvatud kultuuriklaasid hoitakse: 1) kaitstult tolmu ja liikuva õhuga kokkupuutumise eest (korgid, paberist mütsikesed); 2) termostaadis konstantsel soodsal temperatuuril: agaar- ja puljongsöötmed 37—38° C. soojuses (soodus enamusele mikroobidest), želatiinsööde 20—22° C. temperatuuris; 3) niipalju kui võimalik kaitstult valguse eest.

Külvamiseks peab valima söötme, mis vastab mikroobi kasvunõuetele. Vastasel korral ei sigi mikroobid.

Kultuuride uurimine. Kultuure vaadatakse iga päev 1—2 korda ja tähendatakse ära nende iseloom. Kultuuride uurimise puhul peab konstateeritama kõikide mikroobide kohta: 1) kasvu temperatuuri optimum ja äärmised kasvutemperatuurid (maksimum ja miinimum); 2) kultuuri nähtavaleilmumise moment.

A. Kultuuride iseloom vedelais söötmeis. Siin peab tähele panema: a) kultuur ühtlaselt hägune; loksutamise puhul näha laineid kultuuris (b. typhi), põhjas sade, pinnal nahake; b) kultuur ei ole hägune; pinnal õhuke, paks, rasvane, limane või kurruline (b. tuberculosis) nahk; pretsipitaat klaasi seintel (streptococcus), kultuuris ujuvad terakesed (b. pestis) või helbed, mis pärast põhja langevad; põhjas teraline sade; c) kultuuri värv; d) kultuuri lõhn võib olla väga mitmekesine; e) uute ainete ilmumine: toksiinid, indool, happed, leelised; f) piimsöötmes: koaguleerumine, reaktsioon, kaseiini sadestumine ilma koaagulumita.

B. Kultuuride iseloom kõvadel söötmetel. 1) Kultuuri vorm: a) kultuur kasvab joonena külvikohal: kultuuri joon õhuke, läbipaistev, homogeenne, üksikud lahus seisvad pesad; paks joon: rõske, limane, kuiv, kurruline; b) kultuur kasvab üle kogu söötme-

pinna: kuiv, rõske, limane, kurruline jne. 2) Kultuuri värv: kultuur värviline, sööde värvitu, sööde värvitud. 3) Lõhn.

C. Pistkultuuri iseloom. Želatiini sees: 1) Kultuuri vorm: ühtlane kultuurijoon, haraline kultuur; kultuur naela sarnane, peaga söötme pinnal; kasv ainult söötme pinnal, sügavas osas. 2) Želatiini sulamine: varane või hiline; sulamine silindriline, lehtri sarnane, kindasõrme sarnane, kupli sarnane; sulamine osaline, sulamine laguneb üle kogu söötme. 3) Õhumull söötme ülemises osas, õhumullid söötme sees ja sööde purunenud. 4) Kultuuri ja söötme värv. 5) Kultuuri lõhn.

Agaarsöötmes: ühtlane kasv pinnapoolses ja sügavas osas; kasv ainult pinna peal või sügavas osas; naela sarnane kultuur; kultuurijoon ühtlane või haraline, oksline.

Kultuuride konserveerimine. Mikroobid võivad oma vitaalsust alal hoida kultuuris mitmesuguse aja kestusel, olenedes mikroobitõust. Vitaalsuse peale avaldab paha mõju peaasjalikult õhu hapnik. Mikroobide vitaalsuse alalhoidmiseks on tarvilik: 1. Sagedasti ümber külvata. 2. Kõval söötmel kasvava kultuuri klaas kaetakse kummimütsikesega ja hoitakse konstantsel temperatuuril (20—25° C.) pimedas kohas, veel parem jääkapis või keldris. Kultuur, külvatud pistega sügavale agaarsöötme sisse, säilitab vitaalsust kauemini kui pinnapealne kultuur. 3. Vedelas söötmes kasvatatakse kultuuri, kuni see on täielikult arenenud. Siis võetakse Pasteuri pipett, steriliseeritakse tule peal, lastakse jahtuda ja imetakse sisse värske kultuur. Otsad joodetakse tule peal kinni ja hoitakse pimedas kohas või jääkapis.

Kui kultuuri peab kasvatama pika aja jooksul termostaadis, siis peab kultuuriklaasid pealt kinni katma, nii et sööde ära ei kuivaks. Selleks on kohased kummimütsikesed. Kõvadel söötmetel kasvavate kultuuridega võib järgmiselt toimetada: pipetiga imetakse ära kondensatsioonivesi, kui seda on; puuvillast korke põletatakse tule peal ja siis kastetakse korkidega klaasi otsad järgmise kuuma segu sisse: 1 osa vaseliini + 1 osa kollast vaha + 7 osa paraffiini (55°), hoolega soendada portselankausis.

Ungermann soovitab õrnade mikroobide alalhoidmiseks jänese vereseerumit. Selleks võetakse steriilne jänese seerum (võib ka veega lahjendada) prooviklaasidesse ja soendatakse 30 min. 58—60° C. temperatuuris. Seerumi peale valatakse kiht paraffiiniõli, mis takistab õhuhapniku juurdepääsmist. Kõva söötme pinnal kasvavale värskele (24 tundi) kultuurile kallatakse peale 2—3 sm^3 ülaltähendatud vereseerumist ja uhetakse mikroobid söötme pinnalt ära. Suspensioon imetakse pipetti ja valatakse prooviklaasi seerumi sisse. Hoida võib klaase kas toatemperatuuris, termostaadis või külmas keldris. Värske kultuuri saamiseks külvatakse klaasi põhjast võetud materjal vastavasse söötmesse.

Aeroobsete mikroobide isoleerimine.

Mikroobide isoleerimise all mõistetakse nende saamist puhta kultuurina. Mikroobide isoleerimine on bakterioloogiliste uurimuste esimene tingimus. Seda peab alati toimetama, kui tahetakse ligemalt

uurida ühe või teise mikroobi morfoloogilisi ja bioloogilisi omadusi. Isoleerimisel peab alati silmas pidama nende mikroobide iseloomu, keda soovitakse isoleerida, ja tarvitama säärast meetodit, mis võiks lubada kõige paremaid resultaate. Praegusel ajal ei ole veel üldist meetodit, mis oleks kõlvuline kõikide mikroobide isoleerimiseks.

Aeroobsete mikroobide isoleerimismeetodeid on väga palju. Nendest on hulk üldisi meetodeid, mida tarvitatakse siis, kui teada ei ole, missuguste mikroobidega on tegemist käesoleval juhtumusel. Spetsiaalseid meetodeid tarvitatakse siis, kui soovitakse isoleerida tuntud omadustega mikroobi.

Üldised meetodid.

Nende meetodite ülesandeks on eraldada mikroobe üksikult söötmes, nii et igast mikroobist kasvaks kõval söötmel isoleeritud pesa või absoluutselt puhas kultuur vedelas söötmes.

Lahjendamine vedelikkudes. Võetakse rida prooviklaase steriliseeritud puljongsöötmega. Uuritavast ainest (näiteks tilk vett) 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 termostaadis ja uuritakse, missuguses klaasis leidub puhas kultuur.

See Listeri soovitatud meetod on väga tülikas ja ei anna soovitavaid resultaate; seepärast tarvitatakse seda praegusel ajal ainult üksikuil juhtumusil.

Isoleerimine kõvade söötmete abil. Koch soovitas mikroobide isoleerimist toimetada kõvade söötmete abil. Selleks tarvitatakse kahesugust meetodit: A. Uuritavast ainest külvatakse osa sulatatud želatiin- või agaarsöötme sisse; B. uuritav aine määritakse kõva söötme pinnale.

A. Isoleerimine sulatatud kõvade söötmete abil. Selleks võetakse söötmega prooviklaasid; sööde sulatatakse vesivannis; lastakse jahtuda kuni teatud temperatuurini; sula söötme sisse külvatakse osa uuritavat ainet, loksutatakse hästi segi, segu valatakse plaadi peale laiali ja lastakse hanguda. Kui hoiame plaadid soodsas soojuses, siis kasvab igast mikroobist, keda dissemineeriti söötmes, iseseisev isoleeritud pesa. Kui uuritavas aines viibib palju mikroobe, siis peab tarvitama lahjendusmeetodit.

Želatiini tarvitatakse, kui on tegemist saprofüütide isoleerimisega (vee ja teiste välisilmast saadud materjalide uurimise korral). Ta on vähe kõlvuline patogeensete mikroobide isoleerimiseks, sest ta ei kannata temperatuuri, mis on tarvilik nende mikroobide kasvamiseks (37—38° C.). Kasv želatiinis on pikaldane (mitu päeva) ja mikroobipesade ümber sulab sööde mõne mikroobitõu toimel, mis takistab uurimist. Želatiinsöötme heaks omaduseks tuleb lugeda, et ta sulab madalamas temperatuuris, mis ei avalda paha mõju külvatavate mikroobide peale, ja et želatiinis kasvavad mikroobipesad on väga iseloomulikud.

Agaarsööde kannatab 37—38° C. temperatuuri; seepärast on ta kõlvulisem patogeensete mikroobide isoleerimiseks, kuid ta hangub 40—41° C. soojuses, mis külvamise korral võib mikroobe vigastada.

Isoleerimismeetod želatiinsöötmes: 1. Võetakse kolm prooviklaasi steriliseeritud želatiinsöötmega; želatiin sulatatakse vesivannis (mitte tule peal); jahutatakse kuni 30—35° C., et ei saaks viga mikroobid.

2. Klaasi I külvatakse uuritavat ainet steriilse pipetiga või plaatina-aasaga. Segada, lastes klaasi längu, nii et sööde ei puutuks korgi külge, ja veeretades klaasi käte vahel. Mitte loksutada, sest siis tekiks vaht ja söötmesse jääksid õhumullid.

3. Klaasist I külvatakse Pasteuri steriilse pipetiga mõni tilk või plaatina-aasaga 1—3 aasatäit klaasi II, segatakse, nii kui esimest klaasi.

4. Samuti külvatakse klaasist II edasi klaasi III. Sel teel saame kolm lahjendit, milledest klaas III sisaldab kõige vähem mikroobe.

5. Võetakse 3 steriliseeritud Petri kaussi, vabastatakse nad paberümbrikust ja pannakse laua peale. Klaasi I pealt võetakse ära puuvill-kork, klaasi servad põletatakse Bunseni lambi tules. Siis tõstetakse vähe üles Petri kausi üks serv, želatiin valatakse kiiresti prooviklaasist kaussi ja kaetakse kiiresti kaanega. Siis lastakse kauss üht- ja teistpidi vähe längu, et želatiini laiali ajada üle kogu kausi põhja (sööde ei tohi puutuda kaane külge). Kauss pannakse horisontaalsele pinnale (parem selle tarvis valmistatud jahutusaparaadi pinnale) ja lastakse hanguda.

6. Samuti valatakse kaussidesse II ja III klaasi sisaldus.

7. Kaussidele tehakse vastavad märgid ja mahutatakse nad termostaati 20—22° C. soojusesse. Kui ei ole vastava soojusega termostaati, siis võib kultiveerida toasoojuses.

Petri kausside asemel võib želatiini valada Roux' pudelitesse. Koch tarvitas selleks klaasplaatisid, mida viimsel ajal enam ei tarvitata.

8. Kultuuri kasvu vaadatakse iga päev, tähendades ära pesade ilmumise ja arenemise käiku, uurides pesade iseloomu varustamata või luubiga varustatud silmaga.

Hästi isoleeritud pesast tehakse külv mõnda söötmesse (puljong, agaar, želatiin) ja uuritakse edasi saadud puhast kultuuri.

Isoleerimine agaarsöötmes. 1. Võetakse 3 prooviklaasi agaarsöötmega. Agaar sulatatakse keevas vees (100° C.) täielikult ja lastakse jahtuda kuni 42—44° C. Hoida sellel temperatuuril vesivannis 10—15 min., et agaari temperatuur klaasides kõrgem ei oleks kui vees.

2. Klaasidesse külvatakse uuritavat ainet ja valmistatakse lahjendid samuti kui želatiini tarvitamise korral. Siin peab kiiresti töötama, sest vastasel korral hangub agaar ja ilmuvad tükid. Et seda ära hoida, mahutatakse klaasid vesivanni 42—44° C. soojusesse, kui lahjendeid valmistatakse. Samuti peab soendama Petri kausside põhjasid kas tulel või 42—44° C. soojal pinnal, et võimalik oleks väljavalatavat agaari ühtlaselt laiali ajada kausi põhjal.

3. Hangunud agaariga kausid mahutatakse termostaati 37—38° C. soojusesse. Kausside põhjad pööratakse ülespoole, et kondensatsioonivesi ei korjuks kultuuri pinnale, mis võib takistada isoleerimist. Et sööde kultiveerimise ajal ära ei kuivaks, mahutatakse kausid agaariga ja želatiiniga kupli alla, kus asetseb veega märjaks tehtud filtreerimispaber.

B. Dissemineerimine kõvade söötmete pinnale. Selle meetodi printsiip on lihtne: valame söötme Petri kaussi või mõnda muusse otstarbele vastavasse nõusse, laseme teda hanguda (agaar, želatiin jne.), võtame uuritavat ainet plaatina-aasaga ja hõõrume selle laiali söötme pinnale. Seejuures on võimalik, et isoleeritult söötme pinnale satuvad mõned mikroobid, kes alguse annavad isoleeritud pesadele. Viibib aines palju mikroobe, siis võib ainet enne külvi lahjendada füsioloogilises lahuses. Petri kaussi valatud söödet lastakse enne külvi kuivada termostaadis (6—12 tundi), et kondensatsioonivesi ei takistaks üksikute pesade arenemist.

1. Prooviklaasid põikagaariga. Seda meetodit käsitelles tarvitatakse söötmeks agaari, vereagaari, seerumiagaari, koaguleerunud vereseerumit jne. a) Plaatina-aasaga võetakse väike määr uuritavat ainet. b) Avatakse prooviklaas ja aine hõõrutakse söötme pinnale laiali, alates põhjapoolsest osast ja minnes ülespoole (klaas I). c) Sama aasaga, mille külge jäi osa ainest, hõõrutakse söötme pinda teises klaasis (klaas II). d) Siis hõõrutakse sama aasaga söötme pinda kolmandas klaasis (klaas III). e) Külvatud prooviklaasid mahutatakse termostaati 37—38° C. soojusesse.

Selle meetodi tarvitamisel vabaneb aas kord-korralt mikroobidest. Esimeses klaasis asetseva söötme pinnal kasvab suur hulk pesasid, teise klaasi pinnal vähem ja kolmandas klaasis veel vähem. Kahe viimase söötme pinnal võib leida isoleeritud mikroobipesasid.

2. Isoleerimine Petri kaussides. a) Vesivannis sulatatud agaarsööde valatakse Petri kaussidesse ja lastakse täielikult hanguda (soovitav enne kuivatada termostaadis). b) Plaatina-aasaga võetakse tilk uuritavat ainet I kausis asetseva agaari pinnale, avades kausi kaant ettevaatlikult, et õhust mikroobid sisse ei pääseks. c) Siis võetakse tules steriliseeritud ja täielikult jahtunud Drigalski kepike (roobitaoliselt kõveraks painutatud klaaspulk) või traadist valmistatud kolmenurgalise otsaga labidake 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 aines mikroobe, seda rohkem peab võtma kausse). d) Kausid mahutatakse termostaati ja kultiveeritakse 37—38° C. soojuses. Isoleeritud mikroobipesi võib oodata viimseis kaussides.

Uuritava aine laialihõõrumist võib veel järgmiselt toimetada: plaatina-aasaga võetakse ainet; sellega tõmmatakse Petri kausis oleva söötme pinnale õiged paralleelsed jooned, mis asetsevad üksteisest mõne millimeetri kaugusel. Iga joone peale jätab aas kordkorralt vähem mikroobe. Isoleeritud pesi leiame peaasjalikult viimseis joontes.

Sisaldab uuritav aine palju mikroobe (ekskremendid), siis võetakse sellest väike osa ja lahjendatakse seda mõnes sm^3 füsioloogilises lahuses, millest pärast aasaga külvamiseks võetakse.

3. Veillon'i meetod. a) Aasaga võetakse väike osa uuritavat ainet. b) Siis võetakse 4—6 prooviklaasi längus söötmega (agaar, vereseerum jne.) ja aas kastetakse järjest iga klaasi kondensatsioonivette. c) Klaasid kaetakse korkidega, lastakse längu, nii et kondensatsioonivesi puutuks kokku kogu söötme pinnaga; siis mahutatakse nad vertikaalses olekus termostaati 37—38° C. soojusesse.

Üldiste isoleerimismeetodite tarvitamise korral peab rõhku panema söötme peale. Harilikus puljongis ja agaaris ei kasva paljud patogeenseist mikroobidest, samuti ei kasva nendes ka paljud saprofüütidest. Seda silmas pidades toimetatakse isoleerimist söötmete abil, milledele lisatakse juurde suhkrut, vereseerumit, astsiidivedelikku, verd ja teisi aineid, mis soodustavad mikroobide kasvu.

Spetsiaalsed isoleerimismeetodid.

Spetsiaalseid isoleerimismeetodeid on väga palju; nendest kirjeldame siinkohal kõige tarvilikumaid.

Aine soendamine. Me teame, et enamik ilma eosteta mikroobe sureb lühema või pikema aja jooksul 60° C. soojuses, kuna eostega mikroobid kannatavad 80—100—105° C. soojust mõne minuti jooksul; mõned nendest veel palju kauema aja kestusel. Sellest näeme, et eostega mikroobide eraldamist ilma eosteta mikroobidest võime saavutada, kui me soendame segu mõne minuti jooksul temperatuuris, mis seisab 80° C. ja 105° C. vahel, ja külvame siis soendatud aine vedelasse söötmesse või kõva söötme pinnale. Et tarvitada seda meetodit, peab uuritavat ainet enne täielikult emulgeerima vedelikus, sest kuivanud mikroobid, samuti ka aine kõvades osades viibivad mikroobid on palju resistentsemad soojuse mõjule kui vedelas segus asetsevad mikroobid. Ka peab valvama, et soendamise korral soovitav temperatuur toimiks ühteviisi kogu segu peale.

Isoleerimist toimetatakse järgmiselt: a) Uuritav aine segatakse steriilse veega ühtlaseks suspensiooniks. b) Siis võetakse peenike Pasteuri pipett, mille ülemine lai ots on täidetud puuvillaga. Pipetti imetakse saadud suspensioon ja mõlemad otsad joodetakse tule peal kinni. c) Pipetid mahutatakse üleni vesivanni ja hoitakse soovitaval temperatuuril (80—100° C.) 5—10 minuti jooksul. Temperatuur ja soendamisaeg olenevad mikroobitõust: b. subtilis 5 min. 100° C.; b. anthracis 5 min. 85° C.; b. mesentericus 15 min. 100° C. Soendamist üle 100° C. toimetatakse autoklaavis. d) Pipetid võetakse vannist välja, kuivatatakse väljastpoolt, üht otsa steriliseeritakse tules ja murtakse see pintseti abil lahti. e) Teise hästi peenikese pipetiga imetakse soovitav hulk soendatud vedelikku ja külvatakse ühe või teise meetodi järele söötmele.

Kultiveerimine mitmekesises soojuses. Me teame, et mikroobid võivad kasvada väga mitmekesises soojuses, kuid sigimise seismajäämise temperatuur on paljudele mikroobidest väga ise-

loomulik. Näiteks kasvavad paljud saprofüütidest pahasti või ei sigi sugugi üle 30° C. soojuses; b. coli ja b. typhi sigivad veel 46° C. soojuses, kuna patogeensetest mikroobidest ei sigi paljud enam 41°—42° C. soojuses. Külvame aine, mis sisaldab b. coli ja teisi mikroobe, söötmesse ja kasvatame 43° C. soojuses, siis sigivad peaasjalikult b. coli ja kultuurist leiame suuremalt osalt neid mikroobe. Sel teel saadud kultuur ei ole veel puhas, sest 43° C. soojus takistab küll teiste mikroobide kasvu, kuid ei surma neid. Et täielikult eliminеerida b. coli, peab tarvitama fraktsioonilist kultiveerimist: selle järel, kui ilmub puljongis 43° C. soojusel silmapaistev kasv (I kultuur), võetakse sellest üks aasatäis ja külvatakse teise klaasi puljongi sisse (II kultuur), mida kasvatatakse samuti 43° C. soojuses. Tehes säärase meetodi järele mitu passaaži saame lõpuks puhta kultuuri.

Paljud mikroobid, nõndanimetatud termofiilsed ehk soojalembesed mikroobid, sigivad 65°—70° C. soojuses, mida ei kannata teised ilma eosteta mikroobid. Neid on kerge isoleerida, kasvatades kultuuri 65—70° C. soojuses.

Isoleerimine spetsiaalsete söötmetega. Kõige ideaalsem oleks niisugune isoleerimismeetod, kus tarvitatakse söötmeid, milledel kasvab ainult teatud mikroobitõug ja ei kasva teised mikroobid. Kahjuks ei ole veel võimalik seesuguseid söötmeid kokku seada. Praegusel ajal leiavad tarvitust isoleerimiseks söötmed, mis soodsad on kasvuks ühele mikroobitõule ja vähem soodsad teisele (relatiivne elektiivsus).

Sagedamini lisandatakse harilikele söötmeile olluseid, mis takistavad enamiku mikroobide kasvu ja ei avalda sarnast toimet mikroobi peale, keda soovitakse isoleerida. Näiteks soovitab Chantemesse b. coli ja b. typhi isoleerimiseks söödet, millele juurde lisatakse karboolhapet. Samuti sigivad pärmseened ja hallitusseened happereaktsiooniga söötmes. Elektiivsete söötmete saamiseks võib harilikele söötmeile juurde lisada: fuksiini (Endo), malahiitrohelist, lakmust, kofeiini jne. Nende söötmete valmistamine ja tarvitamine kuulub eribakterioloogiasse.

Eelkultuurid. Kui uuritav aine sisaldab väikesel arvul neid mikroobe, keda soovitakse isoleerida, siis võib nende isoleerimist sel teel kergendada, et me külvame aine ühte või teise elektiivsesse vedelasse söötmesse ja kasvatame vastavas soojuses. Saadud kultuur sisaldab palju suuremal arvul mikroobe kui uuritav aine ja nende isoleerimine on märksa kergendatud. Seesuguseid eelkultuure tarvitatakse paljudel kordadel: vibrio choler. asiat.—peptoonivees, b. typhi ja b. paratyphi — sapis jne.

Uuritavat ainet võime rikastada mikroobidega, kui me hoiame aine, mis kogutud steriilsesse prooviklaasi või kolbi, mõne tunni jooksul termostaadis 37° C. soojuses. Mikroobid sigivad ja selle järel jätkatakse isoleerimist vastavate meetoditega. See meetod on väga soovitav vere- ja selja-aju vedeliku uurimise korral.

Mikroobide sulatamine. Tuberkuloosibatsillide isoleerimiseks rögast, mädast, organitest ja teistest ainetest tarvitatakse mee-

todit, kus uuritava aine peale lastakse toimida niisugust lahust, mis ära sulatab kõik teised mikroobid ja jätab tuberkuloosibatsillid eluvõimeliseks. Selleks on kõige kohasemad NaOH ja antiformiini (5,32% kloori ja 7,5% NaOH) lahused. Vähem vigastab tuberkuloosibatsille NaOH-lahus. Isoleerimist toimetatakse järgmiselt: Vastavalt aine konsistentsile segatakse üks osa ainet ühe või mitme osa 4% NaOH-lahusega, loksutatakse hästi segi, hoitakse 30 min. termostaadis 37° C. soojuses, loksutatakse veel kord segi ja hoitakse 30 min. 37° C. soojuses termostaadis; tsentrifugeeritakse 10—15 min., eraldatakse pealmine vedelik, sadet neutraliseeritakse mõne tilga 10% soolhappega. Saadud sade külvatakse vastavale söötmele (Petrovi sööde, glütseriinkartul, glütseriinseerum). Prooviklaasid kaetakse puuvillast korkidega ja kummist mütsikestega. Külvama peab mitmesse (5—10) prooviklaasi, sest igaühes ei ilmu kasv puhta kultuurina.

Inokuleerimine loomadele. Kui on tegemist niisuguse materjaliga, mis sisaldab patogeenseid mikroobe, siis võime nende isoleerimist saavutada, kui me injitseerime ainet vastuvõtlikkudele loomadele. Niisugusel korral sigib infitseeritud looma organismis temale eriliselt patogeenne mikroob kõige kiiremini ja sagedasti päris puhta kultuurina. Näiteks pneumococcus'e isoleerimiseks rögast, mädast jne. injitseeritakse ainet valgele hiirele naha alla. Loom sureb ja tema verest leiame pneumokoki puhta kultuurina. Soovitakse isoleerida vibrion septique'i mullast, kus leidub väga palju mitmekesiseid teisi mikroobe, siis segatakse väike osa uuritavat mulda mõne tilga destilleeritud veega ja injitseeritakse seda meriseale naha alla. Merisiga sureb lühema või pikema aja järel ja tema kõhukoopas leidub ekssudaat, mis sisaldab kas puhta kultuurina vibrion septique või segi mõne teise mikroobiga, kust neid kerge on isoleerida. Samuti võib b. tuberculosis'e ja b. pestis'e isoleerimiseks injitseerida ainet meriseale, streptokokke katsejänesele jne.

Sagedasti tarvitatakse inokuleerimist loomadele, kui söötmete abil isoleeritud kultuuri iseloomu kohta tekib kahtlus. Näiteks uriinist isoleeriti happekindlate mikroobide kultuur; tekib kahtlus, kas need on tuberkuloosibatsillid, või nende sarnased mikroobid. Inokuleerime kultuurist valmistatud suspensiooni meriseale. Sureb siga tuberkuloosi, siis on tegemist tuberkuloosibatsillidega.

Isoleeritud mikroobipesade uurimine.

Isoleerimiseks külvatud kultuure peab kontrollima igapäev, üksikutel kordadel koguni kaks korda päevas. Vaatamise korral tähendatakse ära iga pesa iseloom.

Pesade uurimiseks pannakse Petri kauss põhjaga ülespoole mikroskoobi alla ja vaadatakse väikese suurendusega (okulaar 1 või 2, objektiiv 3). Seejuures peab silmas pidama pesa vormi: ümmarikud või piklikud, servad tasased või haralised, keskpaik paksem või samasugune kui servad, pesade struktuur teraline või niidiline. Edasi märgitakse ära pesa värv ja želatiini sulatav omadus.

Igast isoleeritult seisvast pesast võib osa edasi külvata ühele või teisele söötmele puhta kultuuri saamiseks. Enne edasikülvamist tehakse pesast võetud mikroobide preparaat, värvitakse ja uuritakse mikroskoobi all, et võimalik oleks võrrelda pesas viibivaid ja kultuuris saadud mikroobe. Edasikülvamist, samuti ka mikroobide saamist preparaadi valmistamiseks, peab toimetama ettevaatlikult, et õhust teised mikroobid sisse ei pääseks: kausi kaas tõstetakse ühest küljest üles ja materjali võetakse pesast steriilse plaatina-aasaga või -nõelaga. Et sama pesa oleks kergem pärast üles leida, tehakse selle ümber kausi põhjale rõngas rasvpliiatsiga.

Kui pesad on liiga väikesed, siis on neid raske leida varustamata silmaga. Säärasel korral mahutatakse kauss mikroskoobi esemelauale, võetakse kaas pealt ära ja pesade otsimist toimetatakse mikroskoobiga väikese suurenduse abil. Leitud pesast võetakse plaatina-nõelaga mikroobe, kontrollides mikroskoobi abil, et nõela ots pesa külge puutuks.

Sagedasti on tarvilik kindlaks teha mikroobide hulka uuritavas aines (vesi, veri jne.). Selleks võetakse teatav hulk ainet (kui ta sisaldab palju mikroobe, siis lahjendatult 1:10, 1:100, 1:500 jne. peale steriilse füsioloogilise lahusega), segatakse söötmega ja valatakse Petri kaussi. Kasvanud pesade arv näitab ligikaudu (mõned mikroobid ei kasva pesadeks) mikroobide arvu võetud aines. Täpsamad on resultaadid, kui uuritava aine enne kausi põhja valame, siis peale valame sulatatud söötme (mitte üle 45° C.) ja segi segame. Prooviklaasis segatud ainest jääb väljavalamise korral osa klaasi külge.

Pesade lugemist võib toimetada mitmel viisil: 1. Kui pesi ei ole palju, siis loetakse kõik pesad, märkides loetud pesa pliiatsiga, et ära hoida ühe ja sama pesa korduvat lugemist. 2. Kui pesi on palju, siis toimetatakse nende lugemist Wolfhügel'i ja Lafar'i lugemisplaatide abil. Petri kauss pannakse põhjaga ülespoole laua peale (must alus), kausi põhja peale pannakse ühesuurusteks ruutudeks jagatud (1 sm^2) klaasplaat (Wolfhügeli'i lugeja), siis loetakse pesade arv mitmes (10—20) ruudus ja arvutatakse keskmine arv ühes ruudus. Lugeda võib varustamata silmaga, parem aga luubi abil. Kausi diameeter on näiteks 10 ruutu, raadius 5 ruutu; sellega on kausi pinna suurus: $\pi r^2 = 3{,}14 \times \times 25 = 78{,}5$ ruutu. Korrutame ruutude arvu ühes ruudus viibivate pesade arvuga, siis saame pesade arvu kogu kausi pinnal. Lafar'i lugemisplaat kujutab klaasratast, mis on jagatud sektoriteks. Pesade lugemist toimetatakse sama printsiibi järele, kui eelmist meetodit tarvitades.

Kui pesad on liiga väikesed ja nende arv liiga suur, siis võib lugemist toimetada mikroskoobi abil (okulaar 3, objekt 3). Enne mõõdetakse ja arvutatakse (Thoma-Zeiss'i aparaadi abil) iga vaatevälja suurus. Siis loetakse pesade arv hulgas vaateväljades ja arvatakse välja keskmine pesade arv ühes vaateväljas. Mõõdame kausi pinna diameetri ja arvutame selle suuruse. Selle jagame vaatevälja pinna suurusega, siis saame arvu, mis näitab, mitu korda mahub vaatevälja suurus kausi pinna suurusesse. Korrutame saadud arvu pesade arvuga ühes vaateväljas, siis saame pesade arvu kausi pinnal.

Anaeroobsete mikroobide kultiveerimine ja isoleerimine.

Anaeroobsed mikroobid sigivad ainult siis, kui nende sööde on täielikult vabastatud vabast hapnikust. Sellega oleks anaeroobsete mikroobide kultiveerimise meetodite pea-ülesandeks kõrvaldada vaba hapnik söötmest ja hoida kultuurid kaitstult hapniku juurdepääsmise eest kogu kasvu ajal. Tarozzi, Guillemond'i, Ori j. t. uurimused on näidanud, et hapnik ei toimi otseteel kahjulikult anaeroobsete mikroobide peale, kuid hapniku viibimine söötmes takistab nende toitumist.

Anaeroobsete mikroobide kultiveerimis- ja isoleerimistehnika ei ole veel küllalt välja kujunenud. Need meetodid, mida tarvitatakse käesoleval ajal, on seotud paljude raskustega; seepärast on arusaadav, et anaeroobide uurimine ei leia veel tarvilikku huvi praktilises mikrobioloogias.

I. Vaba hapniku kõrvaldamine söötmeist.

1. Keetmine. Võtame prooviklaasid, mis sisaldavad rohkesti ($^2/_3$—$^3/_4$ klaasi) söödet, keedame neid 10—30 minutini vesivannis 100° C. soojuses, siis eraldub söötmest õhk ühes hapnikuga. Laseme neid kiiresti jahtuda külmas vees, parem veel katta klaasid hermeetiliselt kummikorkidega või valada vedelate söötmete pinnale 2—3 sm kõrgune kiht steriliseeritud vaseliiniõli, siis jäävad söötmed hapnikust peaaegu vabaks. Külvame sel teel saadud agaarsöötmesse nõelapistega uuritavat ainet, siis ilmub nendes anaeroobide kasv (iseäranis sügavais osades). Sel teel valmistatud vedelad ja kõvad söötmed on kõlvulised anaeroobsete mikroobide kultuuri alalhoidmiseks.

2. Inertne gaas. Anaeroobsed mikroobid võivad kasvada n.-n. inertsete gaaside: vesiniku, lämmastiku, CO_2, valgustusgaasi, atsetüleeni juuresolekul. Laseme inertse gaasi läbi toru, milles asetseb steriilne puuvill, siis vabastame gaasi mikroobidest. Laseme nüüd seda gaasi voolata läbi vedela söötme, siis viib ta kaasa õhu ühes hapnikuga, mis viibis söötmes. Kultuuride kasvatamist toimetatakse selle meetodiga järgmiselt: Võetakse suur prooviklaas või Erlenmeyer'i kolb vedela söötmega, külvatakse uuritav aine sisse, kaetakse kummikorgiga, mille läbi tungivad kaks klaastoru (välimised otsad kõveraks painutatud, otstes puuvill), üks ulatub läbi söötme kuni nõu põhjani, teine aga vähe allapoole korki. Siis lastakse söötmest läbi inertne gaas, kuni see kõik õhu enesega kaasa viib. Selle järel joodetakse klaastorude välimised otsad kinni ja kultiveeritakse termostaadis.

Inertse gaasina tarvitatakse praegusel ajal peaasjalikult vesinikku (H), mis ei ole mürgiline mikroobidele. Seda valmistatakse Kipp'i või Roux' aparaadi abil, nii kui see on tuttav keemias. Lämmastik ei ole mürgiline mikroobidele, kuid selle valmistamine on seotud raskustega; valgustusgaas ja CO_2 avaldavad mürgilist toimet mõne mikroobitõu peale.

3. Hapniku absorbeerimine. Võetakse suur prooviklaas, mille põhja valatakse lahust: acid. pyrogallic. 1,0 g + kal. caustic. 1,0 g + aq. destill. 10,0 sm^3. Selle klaasi põhja lastakse klaaspulgake, mis ulatub ülespoole lahuse pinda; selle peale mahutatakse

anaeroobidekultuuri klaas. Välimine klaas kaetakse hermeetiliselt kummikorgiga; hapnik pääseb läbi puuvill-korgi suurde klaasi ja seda absorbeerib lahus, mis selle tõttu pruuniks või mustjaks muutub.

Sagedasti lisatakse söötmele juurde kergelt oksüdeeruvat ainet, mis ei takista mikroobide kasvu ja mis absorbeerib vaba hapniku. Selleks otstarbeks lisatakse söötmele juurde: a) jänese või merisea värsket neeru- või teiste parenhümatoos-organite tükikesed, mis kohe pärast looma surmamist aseptiliselt välja lõigatakse; b) toore või steriliseeritud kartuli tükikesed; c) keemilisi aineid: glükoosi 1—1,5%-agaarile, 2% puljongile; natr. formicic. 0,3—0,5%; natr. sulfo-indigotat'i 0,1% jne.

Kui me külvame söötmesse koos anaeroobidega niisuguseid mikroobe, mis tarvitavad kasvuks palju hapnikku (b. subtilis, b. mesentericus), siis annavad viimased kasvu järele söötme pinnal nahakese, mille all võivad anaeroobid vabalt kasvada.

4. Õhu väljapumpamine. Söötme vabastamiseks hapnikust võib tarvitada õhu väljapumpamist sellest nõust, milles soovitakse kasvatada anaeroobe. Kõige paremad resultaadid saame elavhõbepumpadega, mis aga on kaunis kallid. Harilikult tarvitatakse selleks veepumpasid, milledega raske on kõike õhku ära imeda. Kultuuride kasvatamiseks võib tarvitada samasugust prooviklaasi või kolbi, kui p. 2 all tähendatud; ainult õhu imemist toimetatakse järgmiselt: väljaspool klaasi või kolbi asetsevate torude otsa pannakse 3—5 sm pikkused kummitoru tükid; selle toru otsas, mis ulatub söötme sisse, asetsev kummitoru suletakse kinni näpitsaga; teine toru ühendatakse veepumbaga ja imetakse õhk välja (osa õhku jääb seejuures sisse). Ühendame nüüd söötme sisse ulatuva toru inertse gaasi reservuaariga (Kipp'i aparaadiga), avame näpitsa ja laseme ettevaatlikult söötmest läbi inertse gaasi (H) voolu, siis viib see enesega kaasa õhu ühes hapnikuga, mis jäid söötmesse pärast pumbaga imemist. Joodame klaastorude otsad tule peal kinni ja kultiveerime termostaadis.

Sagedasti on tarvilik kindlaks määrata, kas gaas (vesinik Kipp'i aparaadist jne.) sisaldab hapnikku. Selleks võetakse kolvisse valge indigo lahust ja lastakse sellest läbi voolata uuritav gaas. Kui viimane sisaldab vaba hapnikku, siis omandab indigolahus sinaka värvi.

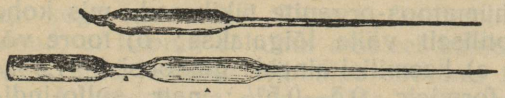
Anaeroobide kasvatamine.

Anaeroobsete mikroobide kultuuri kasvatamismeetodeid on väga palju; nendest kirjeldame siinkohal ainult praktilisemaid.

A. Vedelad söötmed. Söötme valmistamise puhul lisatakse sellele juurde üht või teist ülalpool-nimetatud redutseerivat ainet (2% glükoosi).

Roux' pipett. 1) Võetakse harilik Pasteuri steriliseeritud pipett ja venitatakse see osa, mis on otse allpool puuvill-tropist, väikese tule peal nii, et tekiks kitsas koht. 2) Murtakse lahti pipeti peenike ots, steriliseeritakse tule peal, mahutatakse lahtine ots prooviklaasi puljongi sisse, millesse külvati anaeroobseid mikroobe (puhast kultuuri või

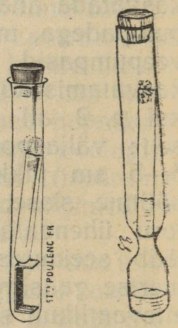
mõnd ainet), imetakse vedelikku pipetti, nii et $^3/_4$ sellest oleks vedelikuga täidetud. 3) Pipeti peenike ots joodetakse tule peal kinni. 4) Pipeti lai ots ühendatakse õhu imemise pumbaga; imetakse õhku välja, siis lastakse sisse vesinikku ja korratakse seda mitu korda (vesinikuga pesemine). 5) Ülemine ots joodetakse kinni kitsaksvenitatud kohalt ja pipett mahutatakse termostaati. 6) Kui kultiveerimine on lõppenud, siis murtakse peenike ots lahti ja võetakse materjali uurimiseks (47. joon.).



47. joon. Roux' pipett.

Würtz'i meetod. Võetakse suur prooviklaas, Erlenmeyeri kolb või pudel, valatakse sisse vedel sööde, kaetakse kummikorgiga, millest läbi lähevad kaks klaastoru (nii kui ülalpool kuulsime), steriliseeritakse autoklaavis, külvatakse uuritav aine juurde, imetakse õhk välja ja lastakse H sisse, korrates seda mitu korda. Torude otsad joodetakse kinni ja nõu mahutatakse termostaati.

Buchneri meetod. 1) Võetakse suur, kitsusega alumises osas (kartuliklaas) prooviklaas, mille põhja valatakse värskelt valmistatud acid. pyrogallic. + + KOH-lahust (vaata ülalpool). 2) Harilikus prooviklaasis olev steriliseeritud puljong aetakse keema vesivannis ja jahutatakse kiiresti. Külvatakse uuritav aine sisse ja mahutatakse suurde prooviklaasi, mis kummikorgiga hermeetiliselt kaetakse. Kultiveeritakse termostaadis (48. joon.).



48. joon. Buchner'i klaasid.

Legros' meetod. 1) Prooviklaasidesse valatakse 10—15 sm kõrgune kiht puljongi, mille peale valatakse 15—20 mm kõrgune kiht vaseliiniõli. Klaasid kaetakse puuvillast korkidega ja steriliseeritakse autoklaavis. 2) Peenikese pipeti abil külvatakse uuritav aine läbi vaseliini puljongi sisse ja klaasid mahutatakse termostaati. 3) Kasvanud kultuurist materjali saamiseks minnakse pipetiga läbi vaseliinikihi ja imetakse kultuuri sisse. Pipett võetakse välja, pühitakse õli filtreerimispaberiga küljest ära ja saadud materjali uuritakse bakterioskoobiliselt.

Tarozzi meetod. Võetakse prooviklaasid steriliseeritud puljongiga. Lisatakse juurde igaühele tükike värsket steriilselt väljalõigatud jänese, merisea või hiire maksa, põrna, neeru või lümfi nääret. Klaasid lastakse seista steriilsuse kontrollimiseks 1—2 päeva termostaadis ja tarvitatakse siis kultuuride kasvatamiseks.

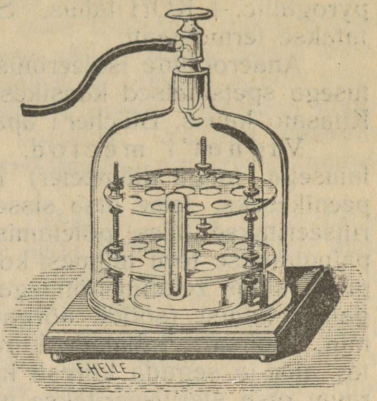
Samaks otstarbeks lisandatakse puljongile keedetud kana-muna-valge tükke, kartulit jne., nii kui ülalpool kuulsime.

Veillon'i meetod. a) Valmistatakse poolvedel agaarsööde: 0,8% agaari, 1,5% glükoosi. Valatakse prooviklaasidesse, nii et agaari kõrgus oleks 7—8 sm^3. Steriliseeritakse. b) Klaase keede-

takse vesivannis 15—20 min. jooksul ja lastakse hanguda külmas vees. c) Külvata nõelapistega, nii et nõela ots ulatuks klaasi põhjani. Kasvatada termostaadis.

Anaeroobide kasv ilmub söötme sügavamais osades.

Kui soovitakse kasvatada suuremat hulka anaeroobide kultuure, siis mahutatakse prooviklaasid klaaskupli alla või mõnda teise aparaati (Botkin'i aparaat j. t.), kust ühe või teise ülaltähendatud meetodi abil on võimalik kõrvaldada õhku ja vaba hapnikku (49. joon.).



49. joon. Aparaat anaeroobide kasvatamiseks (Besson'i järele).

B. Kõvad söötmed. 1) Valmistatakse želatiin- või agaarsööde, millele juurde lisatakse üht või teist ülaltähendatud keemilist redutseerivat ainet. Steriliseerida autoklaavis. 2) Prooviklaasidesse valatud ja hangunud sööde sulatatakse vesivannis ja keedetakse 15—20 min. jooksul. 3) Jahutatakse kiiresti külmas vees. Hangunud söötmele külvatakse nõelapistega mikroobid sisse, valatakse peale 1—2 sm paksune kiht steriliseeritud vaseliiniõli; kaetakse puuvillast korkidega ja kultiveeritakse termostaadis.

50. joon. Prooviklaas anaeroobide kasvatamiseks.

Buchner'i meetod. Sööde valmistatakse ja külvi toimetatakse nii, kuis eelmise meetodi puhul. Prooviklaasid mahutatakse Buchner'i klaasi, kus asetseb acid. pyrogallic. + KOH lahus. Kasvatada termostaadis (vaata vedelad söötmed).

Roux' pipetid. 15—20 minuti jooksul keedetud agaar- või želatiinsööde lastakse jahtuda: 42—45° C. agaar, 28—30° C. želatiin; külvatakse mikroobid sisse ja imetakse Roux' pipetti, nii kui seda toimetati vedelate söötmetega.

Anaeroobide kasvatamiseks kõvadel söötmetel võib tarvitada vaba hapniku kõrvaldamiseks üldjoontes samu printsiipe, mis maksvad vedelategi söötmete kohta, millest kuulsime ülalpool (50. joon.).

Anaeroobide isoleerimine.

Anaeroobsete mikroobide isoleerimise puhul tarvitatakse peaasjalikult samu meetodeid (lahjendamine, disseminatsioon) kui aeroobide isoleerimisel. Ainult kultuuride kasvatamist toimetatakse hapnikuvabas ruumis.

Plaatidemeetod. 1) Vesivannis sulatatud ja teatava soojuseni jahutatud agaar- või želatiinsöötmesse külvatakse uuritav aine ja sööde valatakse Petri kaussidesse, nagu seda toimetati aeroobide isoleerimise puhul. 2) Söötme hangumise järel mahutatakse kausid

kupli alla, mida võib hermeetiliselt kinni panna. 3) Kupli alt imetakse veepumba abil õhk välja ja lastakse vesinik sisse, korrates seda mitu korda. Peale selle mahutatakse kupli alla veel redutseeriv acid. pyrogallic. + KOH lahus. Seesugune aparaat ühes kaussidega mahutatakse termostaati.

Anaeroobide isoleerimiseks valmistatakse väga mitmekesise ehitusega spetsiaalsed kausikesed ja kambrikesed: Gabritševski kauss, Kitasato kauss, Blücher'i aparaat jne.

Vignal'i meetod. 1) Võetakse 1 meetri pikkune ja 3—4 mm laiusega (augu diameeter) klaastoru; üks ots tõmmatakse tule peal peenikeseks, teise otsa sisse mahutatakse puuvillast kork. Toru steriliseeritakse tules põletamise abil. Et seda kergem oleks tarvitada, painutatakse toru mitmest kohast kõveraks. 2) Vesivannis sulatatakse prooviklaas želatiinsöötmega, mis sisaldab mõne tilga natr. sulfoindigatat'i lahust (sööde nõrgalt sinakas). Želatiini keedetakse 15—20 min. jooksul. Jahutada kiiresti kuni 30—35° C. Külvata sisse uuritav aine ja segada kiiresti keerutades käte vahel. 3) Vignal'i toru teravat otsa steriliseeritakse tules, murtakse ots pintseti abil lahti; lahtine ots mahutatakse söötmesse ja želatiin imetakse torusse. Želatiini peab nii torusse imema, et sinna ei pääseks õhumullid. Toru otsad joodetakse tule peal kinni. Kultiveeritakse termostaadis.

Söötmes kasvavad dissemineeritult mikroobide pesad, millede ümber sööde kaotab oma sinaka värvi. Sagedasti ilmuvad söötmes gaasimullid.

Pesa kinnipüüdmiseks ja edasikülvamiseks pestakse toru pesa kohalt alkoholiga. Pesa kohalt viilitakse toru seina steriilse viiliga, murtakse pooleks ja pesast võetakse materjali bakterioskoobiliseks uurimiseks ja edasikülvamiseks puhaste kultuuride saamiseks.

Liborius-Veillon'i meetod. 1) Valmistatakse hästi läbipaistev agaar, millele juurde lisatakse 1,5% glükoosi ja 0,1% kal. nitricum'i. Suured prooviklaasid täidetakse kuni 10—15 sm kõrguseni agaariga ja steriliseeritakse autoklaavis 115° C. kuumuses. Kal. nitricum'i juurdelisamine on tarvilik, et kõrvaldada kasvu puhul tekkivat vesinikugaasi, mis võib purustada söötme ja takistada uurimist. 2) Tarvitamise eel võetakse 5—10 prooviklaasi; agaar sulatatakse vesivannis 100° C. temperatuuris ja hoitakse selles soojuses 15—20 minuti jooksul. Lastakse jahtuda kuni 40—45° C. ja hoitakse selles soojuses külvamise ajal. 3) Prooviklaasi I lastakse üks tilk uuritavat ainet, segatakse kiiresti keerutades käte vahel. 4) Sellest külvatakse pipeti abil mõni tilk II prooviklaasi, millest külvatakse edasi III klaasi jne. 5) Agaar jahutatakse kiiresti külmas vees ja klaasid mahutatakse termostaati.

Anaeroobide pesad kasvavad agaari sügavamas osas, alates 2—3 sm allpool agaaripinda. Kasvu peab kontrollima iga päev ja isoleerimist jätkama kohe, kui anaeroobsed pesad on kujunenud. Kaua ei tohi oodata, sest mõned mikroobitõud on nõrgad ja surevad kiiresti.

Isoleeritud pesade kättesaamist toimetatakse mitmel viisil: 1) Pasteur'i peenikese pipetiga minnakse läbi agaari kuni soovitava

pesani ja aspireeritakse ülemisest otsast suuga. Tõmbame pipeti välja, siis sisaldab pipeti peenike ots mikroobe. Pipetiga peab niiviisi agaari sisse tungima, et ta ei puutuks kokku teiste pesadega. 2) Peenike pipett juhitakse klaasi ja agaari vahelt kuni põhjani. Siis puhutakse õhku läbi pipeti klaasi põhja, mille tagajärjel agaar tõuseb kuni klaasi ülemise osani. Pipett võetakse välja; klaasi põhja soendatakse tule peal, mille tõttu soe õhk laieneb ja pressib agaari välja. Agaar lastakse Petri kaussi, kus ta steriilse noaga tükkideks lõigutakse ja soovitavad pesad uurimiseks võetakse. Saadud pesadest külvatakse mikroobid nõelapistega agaarsöötmesse puhaste kultuuride kasvatamiseks.

Vignal-Veillon'i meetod. Uuritav aine külvatakse 43—45° C. jahutatud agaari sisse, nii kui seda toimetati eelmiste meetodite puhul. Kasvatamiseks imetakse infitseeritud agaar Vignal-Veillon'i torudesse. Neid valmistatakse järgmiselt: võetakse 60 sm pikkune klaastoru, mille diameeter 5—6 mm, otsad täidetakse puuvillaga, keskmist osa kuumutatakse tules, kuni klaas sulab, ja venitatakse seda peenikeseks. Peenike osa põletatakse tules pooleks. Vähe eemal puuvillast tõmmatakse toru tule peal peenikeseks. Sel teel saame kaks pipetti, mida tules steriliseeritakse. Jahtunud toru ots murtakse lahti, toru soendatakse kuni 45° C. ja imetakse agaari sisse kuni ülemise kitsa osani. Siis joodetakse otsad tule peal kinni ja toru mahutatakse termostaati. Pesade uurimist ja edasikülvamist toimetatakse nii, kuis ülalpool-kirjeldatud meetodi puhul.

Soendamismeetod. Anaeroobsed mikroobid on suuremalt osalt eostega, mis kannatavad kuumuse toimet lühema või pikema aja jooksul; seepärast võib söödet ühes sissekülvatud uuritava ainega enne kasvatamist hoida 2—10 minuti jooksul 100° C. soojuses veevannis või Kochi katlas (soendamise kestus oleneb isoleeritava mikroobi tõust), et surmata aeroobide vegetatiivseid vorme. Viibisid uuritavas aines ainult anaeroobi eosed, siis saame vastava kasvatamise järel kohe esimeses külvis puhta anaeroobi kultuuri. Vastasel korral tuleb esimesest kultuurist teha edasikülv uude söötmesse ehk abiks võtta mõni eespool-nimetatud meetodeist.

Inokuleerimine loomadele. Patogeensete anaeroobide isoleerimist võib toimetada heade tagajärgedega katseloomade infitseerimise abil. Kui näiteks soovitakse isoleerida vibrion septique, siis injitseeritakse uuritavat ainet jänesele naha alla. Sureb jänes, siis leiame tema organismist selle anaeroobi puhta kultuurina, kust võib kultuuri saamiseks edasi külvata kunstlikele söötmeile.

Anaeroobsed mikroobid etendavad suurt osa niihästi patoloogilistes kui ka paljudes teistes bioloogilistes protsessides. Nende uurimine vajab suuremat tähelepanu, kui seda on märgata praktilises mikrobioloogias. Anaeroobide uurimise meetodid on alles kaunis puudulikud, nende täiendamine ja lihtsustamine on üks suuremaist ülesandeist uue aja bakterioloogias.

Register.

A.

Äädikahappe käärimine 92, 93
Äär-ahelikud 169
Abbé valgustusaparaat 220, 239
Abderhalden'i reaktsioon 170
Abiogenesis 7
Achorion 30
Actinomycetes 31—35, 50, A. morfoloogia 32, A. arenemiskäik 32—33, A. terad 33, A. kolvid 33, A. pigmendid 34, A. fermendid 76, 77, 90
Adelfogaamia 20
Adnet termostaat 237
Aeroobid 61, 78, 79, A. isoleerimine 294—300, A. isol. üldised meetodid 295, A. spetsiaalsed isoleerimismeetodid 298
Aerotaksis 61
Agaar-agaar 282
Agaarsöötmed 282—286, 288—289
Agglutinatsioon 147
Agglutinatsiooni reaktsioon 150—152
Agglutineeriva seerumi valmistamine 149
Agglutiniinid 17, 128, 129, 147—155
Agglutinoskoop (Kuhn-Woithe) 151
Aggressiinid 107
Akromatiin 40
Akromaatiline süsteem mikroskoob. 219
Aldehüüdide tekkim. mikroob. toimel 100
Aleksiinid 120, 135
Algloomad 39—45, A. morfoloogia 40, A. tuum 40—41, A. liikumine 41—43, A. viburid 41, A. sigimisprotsessid 43—45
Alimentaarne anafülaksia 173
Alkoholi fermentatsioon 88
Alkoholide lagunemine 96
Alternatsioon 14
Ambotseptor 120, 135, A. bakteriolüütiline 136—138, A. hemolüütiline 138—141
Amoeba 39
Ammoniaagi polychrom 260 [gevusel 80
Ammoniaagi tekkimine mikroobide te-
Amphitricha 17
Amylasa 76, 77, 89, 90
Anaeroobid 61, 78—79
Anaeroobide kultiveerimine 302—305, A. isoleerimine 305—308
Anafülaksia 171—177, A. aktiivne 173, A. alimentaarne 173, A. konstitutsionaalne 173, A. passiivne 175
Anafülaktiline šokk 174
Anafülaktilise šokiga ravitsemine 200
Anafülaktilise šoki metabollodispersteooria 177
Anafülaktogeen 173
Anafülotoksiin 176
Anatoksiin 106, 183
Ananafülaksia 175
Aniliinvärvid 241, 242
Aniliinivee värvilahused 245
Anisogaamia 44
Anisogameedid 44
Antheridium 27
Antiagglutiniinid 129
Antianafülaksia 175
Antibioos 102
Anticorpus vt. Antikehad
Antifagiinid 107
Antifermendid 129, 133—134
Antiformiin 213, 300 [antigeen. 160
Antigeenid 128—131, Wassermann'i reakts.
Antigeeni titreerimine 161
Antikehad 129—131
Antisepsis 7, 63 [sentreeritud 193
Antitoksiinid 6, 128, 129, 131—133, A. kont-
Antitoksilised seerumid 188, 189
Antitsütolüsiinid 141
Antitrüpsiin 133—134
Aoki kihnude värvimismeetod 254
Aolaan 201
Aphanozoa 46
Aplanaatsed läätsed 219
Apokromaatiline süsteem (mikrosk.) 219
Apotoksiin 176
Arthus'e fenomen 171
Ascomycetes 20, 29
Ascus 23, 24, 29
Asepsis 7, 63
Askospoor 23, 29
Aspergillaceae 29, 90
Aspergillus 29
Aspergilloos 30
Asporogeenne generatsioon 19, 20
Assimilatsioon 64, 66
Astsiidivedelik 278, 285, 286
Asügospoor 28
Atoksüül 203
Atsetoon 91
Atüübilised mikroobide vormid 13
Auruga desinfitseerimine 212, A. steriliseerimine 225, 226
Autoanaphylaksia 173 [del 45
Autogaamia bakteritel 20, A. protozoi-

Autogeenne vaktsiin 183
Autoinfektsioon 108, 112 [des) 62
Autointoksikatsioon (vanades kultuuri-
Autoklaav 226—227
Autotroofilised mikroobid 67
Autovaktsiin 126, 178
Azotobacter chroococcum 87
Azur 259—261

B.

Bacillus 10, 11
B. amylobacter 91, 96
B. anthracis 5, 6, 11, 20, 102, 106, B. botulinus 96, 104, 109, B. diphtheriae 104, 106, 109, B. dysenteriae 104, 105, 106, 109, B. fusiformis 11, B. laevans 90, B. mesentericus 91, 92, B. Pasteurianum 87, 92, B. pectinovorus 91, B. pyocyaneus 102, 105, 107, B. tetani 104, 109
Bacteriaceae 10, 11, 12
Bakterid, morfoloogia 10—20, eosed 18—20, kapsel 15, kest 14, liikumisabinõud 16—17, sigimine 17—18, suurus 10, tuum 16
Bacterium 10, 11, B. azotofluorescens 85, B. bulgaricum 95, 102, B. cloacae 83, B. nitrator 85, B. prodigiosum 4, 72, 76, 96
Bakteriochlorin 74
Bakteriofaagia 47—48
Bakteriofaagidega ravitsemine 187
Bakteriofluorescin 73
Bakterioloogiline meetod 237
Bakteriolüsiinid 120, 135—138
Bakteriolüütiline ambotseptor 135
Bakteriolysis 120, 135
Bakterioskoobiline meetod 237
Bakteriotherapia 187
Bakteriotropiinid 120, 129, 144, 146
Bakteriotropiinide uurimine Neufeldi järele 146—147
Bakteriotrüpsiin 74
Bakterite proteiinid 105
Balantidium coli 39, 45
Basidiospoorid 27
Batsill vt. Bacillus
Batsillide kandjad 112, 113
Bayer „205“ — 203, 207
Becker'i värvimismeetod 258
Berkefeld'i filter 46, 227—228, 284
Berthelo indoolireaktsioon 81
Besredka sööde 277
Bismarckbraun (vesuviin) 242, 246
Bismudisooladega ravitsemine 204
Blastomycetes 20
Blastomycosis 26
Blepharoplast 44
Boettcher'i kambrike 239
„Bordet' antikehad“ 129, 166
Bordet-Gengou reaktsioon 138, 160, 166
Botkin'i aparaat 305
Botulismus 96, 108
Botulismi antitoksiline seerum 132
Brown'i liikumine 17, 70
Buchner'i klaasid 304
Buchner'i meetod anaeroobide isoleerimiseks vedelal söötm. 304, kõval söötmel 305
Bunsen'i lamp 224
Burri (värvimis-) meetod 241
Butüülalkohol 91

C.

Calcium-carbon. suhkurpuljong 276
Capitulum (hallitusseentel) 29
Capsula 15
Caseasa 77
Castellani katse 153
Cataxia 201
Cellulasa 76
Chamberland'i autoklaav 226
Chamberland'i filter 46, 227, 228
Chantemesse kapp 224
Chemotherapia 201—207
Cilia 42
Ciliata 44
Clark'i indikaator 65
Claviceps purpurea 27
Claudius'e värvimismeetod 251
Coccaceae 10, 11
Coccidia 39
Coccidiosis 45
Coccobacterium 11
Coccus 10, 18 [que“ 177
„Colloidoclasia“ — „crise hémoclasi-
Columella 28 [vum 108
Contagium animatum 5, 107, C. vi-
Copulatio vt. kopulatsioon
Cornet' pintsett 231, 249
Cryptococcus 25, 26
Cutivaccinatio 125
Cytasa 120, 168
Czaplevski aasapainutajad 231

D.

Debrand'i pintsett 231
Degeneratsioon bakteritel 13
Dekoaguleerijad diastaasid 77
Dekompositsiooni tekitav diastaas 77
Dekstraan 92
Denitrifikatsioon 85, 86
Depressiooni immuniteet 127
Dermatofüüdid 30, 31
Dermatofüütide uurimine 264
Dermatomycosis 30, 109
Dermotroopne virus 125
Desensibiliseerimine 176, 199
Deshüdrolüseerijad diastaasid 77
Desinfektsioon 63, 207—215, D. jooksev 208, lõppdesinfektsioon 208, D. profülaktiline 208
Desinfitseeriva aine uurimine 209
Desulfatio 97
Dextrinasa 77, 90
D'Hérelle fenomen 47

Diastasa 76, 77, 89 [del 41
Diffuusne tuum, bakteritel 16, algloома-
Difteria toksiini saamine 189, D. toksiini alalhoidmine 190, D. toksiini ja antitoksiini titreerimine 191, D. immuniteedi ühik (T.Ü.) 191, D. toksiini ühik (d.l.) 190
Dinitrofenool (γ- ja α-) 290
Diplobacillus 11
Diplococcus 10, 11
Dispositsioon infektsioonile 109, 116
Dissimilatsioon 64, 66
Drigalski-Conradi agaar 289 [mistam. 190
Dysenteria antitoksiin 133, D. toksiini val-

E.

Ebajalakesed 41, 43
Ebasporangium 32
Edasikülvamine 301
Eelkultuurid (isoleerimine) 299
Ehrlich'i immuniteediteooria 169, 207
Ehrlich-Pringheim'i reaktsioon 81
Eksospoorid 27
Eksospoorium 19
Ektoensüümid 78, 79
Ektoplasma, bakteritel 15, algloomadel 40
Ektotoksiinid 104, 131
Elavhõbe-regulaatorid 236
Elektri kaarlamp 240
Elektri termoregulaatorid 236
Emetiiniga ravitsemine 205
Enantiobioos 102
Encephalitis epidemica 48, 75
Endogaamia 24
Endomyces 25, 26
Endoplasma 15, 40
Endosööde 289
Endospoor 27
Endotoksiinid 105, 131
Enhüleem 40
Ensüümid 7, 16, 22, 74—79, 104, 120
Enterovaccinatio 126
Entoensüümid 78, 79
Entosporium 19 [mad. 40
Entsüsteerimine, spiroheet, 37, E. algloo-
Eosed, bakteritel 18—20, E. hallitusseent. 27, E. pärmseentel 22, 23 [värvim. 253
Eoste idanemine 20, E. vastupidavus 58, E.
Eosinaadid 259, 261—263
Eosinaatide tarvitamine 263—264
Ergutav doos 63
Erlenmeyer'i kolvid 232 [mine 256
Ernst Babès'i polaarsete terade värvi-
Erütrotsüüdid 163
Esemeklaasid 230
Etüülalkoholi desinfitseeriv toime 213

F.

Fagotsütoos vt. Phagocytosis.
Fakultatiivsed aeroobid ja anaeroobid 69
Fenomen D'Hérelle 47, 48
Fenooli desinfitseeriv toime 214
Fenoolsulfohapped 214
Fenooli valmistamine 82
Fermendid 74—78
Fermentatsioon 78, alkoholi 88, glükosiidide 91, hapendav 92, lima 92, õlihappe 95, pektiinolluse 91, piimahappe 93, polüsahhariidide 90, süsivesikute 88
Ficker'i diagnostikum 153
Fiksaator 135
Fikseerimine (preparaatide) 248
Filtreeruvad organismid 46—48 [46—47
Filtreeruvate organismide kurnamine
Filtrid 46, 227—229
Flagella vt. Viburid
Flagellata 39, 44 [258
Fontana-Tribondeau hõbetamismeetod
Fookuse reaktsioon 184
Formaldehüüdi desinfitseeriv toime 213
Formaldehüüdi tekkim. mikroob. toim. 100
Fosfori ringimine 98
Fotobakterid 70
Fotofobiilsed mikroobid 59
Fotosüntees 64
Fototaksis 59
Fototropism 59
Fraenkel'i eoste värvimismeetod 253
Fraenkel-Voges'i vedelik 280
Fragmentatio 13 [mine 298
Fraktsiooniline mikroobide kultiveeri-
Frigoaparaadid 233
Fuksiin-agaar 289
Fungi 27—31, 50, 89—91
„Fungi imperfecti" 26, 31
Fütotoksiin 133

G.

Gaasigangreeni antitoksiline seerum 133
Gaaside tekkim. mikroob. toimel 199—100
Gaasregulaator 235
Gameedid 44
Gelasa 76
Gelatinasa 74
Generatsiooni vaheldus 45
Generatio spontanea 7
Gibbs'i sööde 280, 284
Giemsa lahus 258, 261, 264, G. meetod lõikude värvim. 271
Glükogenasa 88
Glükogeen 16, 22
Glükogeeni värvimine 257
Glükoosi puljong 276, G. agaar 283
Glükosiidide fermentatsioon 91
Glütseriini agaar 283, 286, G. puljong 276
Glütseriinseerum 285
Gorodkova sööde 23
Goubault värv 262
Gram'i värvimismeetod 249, G. lõikude värv. meetod 270, G. negatiivsed ja positiivsed mikroobid 82
Granula pärmidel 21, 22, G. protozoidel 40
Granuloos, Cellulosa 96, G. värvim. 257
Gross-Fulda meetod 134

Grupi-agglutinatsioon 149, G. hemolüsiinid 138, G. pretsipitiinid 156
Güromeeter 233
Gymnotricha 17.

H.

Haemolysis 138
Haemosporidia 39
Hallitusseened vt. Fungi
Hallitusseente uurimine 264
Halofiilsed mikroobid 62
Hapete tekkimine mikroobide toimel 100
Haplobakteria 12
Hapniku absorbeerimine acid. pyrogallic. ja kal. caustic abil 302
Happe agglutinatsioon 154
Happestamisprotsessid 76, 98
Happekindlate mikroobide värvimine 251
Hapu leiva käärimine 90
Hearson'i termostaat 237
Helmikkokk 11
Hemagglutiniinid 154
Hemolüsiinid 75, 138
Hemolüütilise ambotseptori titreerim. 140
Hemolüütiline süsteem 139, 160
Hemotoksiin 106, 141, 133
Herpes febrilis 48, 75
Heterogaamia 24
Heterogeneesis 7
Heterotroofilised mikroobid 67
Hiilgavad bakterid vt. Fotobakterid
Hingamine (mikroob.) 68
Hõbetamine 258, 271, 272
Hoffmann'i värvimismeetod (spiroh.) 258
Hollande värv 262
Hüdrolüseerijad diastaasid 77 [123, 167
Humoraalne immuniteedi teooria 121,
Hüpersensibiliteet 171, 197
Hyaloplasma 40
Hyphen 27

I.

Idanemine (eoste) 20
Idiosünkrasia 173
Immuunagglutiniinid 147
Immuunhemolüsiinid 138
Immuniseerimine 178, 180
Immuunoprofülaktika 183
Immuunkehad 129
Immuunseerumi tarvitamise viis 194
Immuniteedi mehhanism 167—170
Immuniteet 118—128, 171, loomulik 119, omandatud spetsiifiline aktiivne 122, passiivne 123, omandatud mittespetsiifiline 124, lokaalne 125, depressiooni 127
Immuniteedi ühik — I. Ü. 191
Inaktiveerimine 138
Indigo käärimine 91
Indooli valmistamine (mikroob.) 80
Infektsioon 107—117
Infektsiooni allikad 112, I. teed 113—115, I. väravad 115
Infektsiooniline haigus 111
Infusoria 39
Inokuleerimine loomadele 300, 307
Inulasa 77
Invertasa 76, 88
Isoagglutiniinid 154
Isogaamia, hallitusseentel 27, 28, I. pärmidel 24, I. algloomadel 44
Isogameedid 44
Isoleerimine (mikroobide) 294—300, 305—307, aeroobsete mikroobide isoleerimine 294—300, kõvade söötmete abil, sulatatult kõv. söötm. abil 295, želatiinsöötmes, agaarsöötmes 296, dissemineerimine kõvade söötmete pinnale, põikagaari, Petri kaussides 297, Veillon'i meetod 298, spetsiaal isoleerimismeetodid 298, anaeroobsete mikroobide isoleerim. 305—307, plaatide meetod 305, Vignal'i meetod, Liborius-Veillon'i meetod 306, Vignal-Veillon'i meetod, soendamismeetod, inokuleerimine loomadele 307.

J.

Jenner'i värvilahus 261
Jogurt 95
Johne kihnude värvim. meetod 254
Joonistusaparaat 222
Joonkülv 292
Jötten-Haarmann'i värvim.-meetod 252

K.

Kaalud 233
Käärimisprotsessid 3, 7, 25, 68, 74,88—90
Kaksikkokk 11
Kapsel (kihn) 15
Karbonisatsioon 90
Kartulid söötmete jaoks 287
Karüosoom 40
Katalasa 77, 88
Käte desinfitseerimine 214
Kateklaasid 230
Keefiri fermentatsioon 93, 95, K. terad 25
Keemiline steriliseerimine 229
Keemiline tegevus mikr. 72
Keemiosüntees 64
Kemoretseptorid 202
Kemotaksis 61, 120, 168
Kemoterapia 201—207
Kerakujulised bakterid 10, 11
Kest bakteritel 14—15, K. pärmidel 21, K. protozoidel 40, 41
Kihn 15
Kihnude (kapslite) värvimine 254—255
Kiirikseened v. Actinomycetes
Kinetonucleus 41, 42, 44
Kiniin 206
Kinoplasma 41
Kipp'i aparaat 303
Kitasato kurn (filter) 46, 228
Kiyoshi-Jokota meetod viburite värvim. 255
Klamidospoorid 27

Kloorlubja piim 213
Kloroformi desinfitseer. toime 213
Koagglutiniinid 149
Koaguleerijad diastaasid 77
Kobarkokk 11
Koch'i aparaat 225
Koch'i kambrike 238
Koch'i kartulikauss 287
Koch'i katekismus 6
Koch'i koaguleerimisaparaat 285
Kõdumine 82
Koeimmuniteet 125—127
Kolle nõelahoidjad 231
Kolloidaalmetallidega ravitsemine 201
Kommataolised mikroobid 11
Komparaator 290
Komplement 135, 138, 139, 140, 142—144
Komplemendi kõrvalekaldumine 139
Komplemendi fikseerimise reakts. 160—166
Kondensor 221, 239—240, paraboloid-kondensor 222, peegelkondensor 223,
Kongopunase-agaar 288
Koniidid 27
Konjugatsioon 44, 45 [vim. meetod 252
Konrich'i happekindl. mikroobide vär-
Kontraktiilsed vakuoolid 40
Kopretsipitiinid 156
Kopulatsioon bakteritel 20, K. pärmidel 23, K. protozoidel 44 [246, 259
Kromatiiniterad 16, 36, 40, K. värvimine
Kromidiaalvõrk 16
Kromofoorsed mikroobid 72
Kromopaarsed mikroobid 72 [tod 253
Kronberger'i happek. mikr. värvim. mee-
Kruvisarnased bakterid 10, 11
Kühne metüleensinise lahus 244, 259
Kühne pintsett 231
Kuiva kuumusega steriliseerimine 224
Kuivatatud puuvilja leotis 280
Kultuurpärmid 25
Kultuuri pudelid 232
Kultuuri kasvu tingimused 293, K. kasvu uurimine 293, K. iseloom 293, K. konserveerimine 294, K. külvamine 291, K. külv vedelasse söötmesse 292, K. külv. kõvale söötmele 292
Kumõss 93, 95
Kunstlikud söötmed vt. söötmed
Kurnad vt. Filtrid
Kusiaine lagunemine 79
Kutiimmuniteet 126
Kuuma auruga desinfitseerimine 212
„ „ steriliseerimine 225
„ „ steril. kõrge rõhu all 226
Küünlad vt. Filtrid

L.

Laabiferment 76, 77
Laboratoorium 215
Lactasa 76
Lactobacillin 187
Lafar'i lugeja 301
Lakmusmolke-Petruschky sööde 288
Lakmussöötmed 288—289
Lakmusnutroosi agaar 289
Lakmustinktuur 288
Laktobakterid 94—95
Lamblia 39
Lämmastiku sidumine 86—88
Lämmastiku sarnastajad mikroob. 87, 88
Leeliste tekkimine mikr. toimel 100
Legros' anaeroobide kasvatamismeet. 304
Leishman'i värv 263
Leivapärmid 24
Leprabatsillide värv. lõikudes 271
Leucart'i vorm 267
Leukoprodukt 98
Leukotoksiin 106
Levaditi hõbetamismeet. lõik. 272
Liborius - Veillon'i anaeroob. isoleerim.
Liebig'i ekstrakt 274 [meet. 306
Lihapeptooni-puljong vt. puljong
Liikumine 70, L. bakter. 16, L. algloo-madel 41—43, liikumisorganellid 41
Limabakterid 92, 101
Limakapsel 15
Lindner'i meetod (tuš) 241
Linnasevesi 279
Lipasa 76, 96
Lipobakterid 96 [isoleerim. 295
Lister'i meetod, aeroobs. mikroobide
Loeffler'i metüleensinise lahus 244, 259
Loeffler'i seerum 285, 134
Lõikude bakterioloog. uurimine 265—272
L. fikseerimine 265, 266, L. paraffiini sissevalam. 266, 267, L. värvim. 269—272
Lokaalne immuniteet 125—127
Lokomotsioon 41
Loksutamisaparaat 233
Loomulik immuniteet 119—122
Lophotricha 17
Lubjapiima desinfits. toime 213
Lugemisvõrguga okulaar 222
Lugoli lahuse desinf. toime 213
Lüsiinid 128, 129, 141
Lüsool 214

M.

Maapinna mikrofloora 54, 55
Makrofaagid 120, 130, 168
Makrogameta 44
Makromeetriline kruvi 218
Maksimum erutust 57
Maksimum-t^0 69
Mallein 105
Maltasa 77, 88
Manson'i sinine 260
Martin-Petiit sööde 278
Martin'i puljong 275—276
May-Grünwald'i värvilahus 261, 262
Mehaaniline tegevus m. 70
Membrana undulans 36, 41, 42
Membranella 42
Meresool 64

Mesofiilsed mikroobid 58
Metaani happestumine 97
Metabioos 102
Metachromasia 246
Metakromaatiliste terakeste värv. 256
Metagaamiline sigimine 45
Metatroofilised mikroobid 67
Metsikud pärmid 25
Metüleensinise derivaadid 98, 259—263
Miasma 107
Michaelis'e indikaatorite meetod 65, 290
Micrococcus 10, 11, M. ureae 79
Microsporon 30
Mikroaerofiilid 69
Mikrobioloogia 3
Mikrofaagid 120, 130, 168
Mikrogameta 45
Mikroloogia 217
Mikromeetriline kruvi 218
Mikroobid 3, M. kultiveerimine 291, 302, M. külvam. 291—293, M. isoleerim. 294, 305
Mikroskoop 217—224
Mikroskoobi suurenduse jõu arvutam. 220.
Mikrosoomid 43
Mikrotoom 267
Mineralisatsioon 78—83, 98
Miinimum erutust 57
Miinimum-t^0 69
Mitigatio 63
Modifikatsioon 14
Mohr'i näpits 274
Molekulaarliikumine vt. Brown'i liikum.
Möller'i eoste värvimismeetod 253
Monilia 25, 26
Monotricha 17
Monovalentne vaktsiin 178
Mucoraceae 28, 29, 89, 90, 91
Mucor mucedo 27, 67
Mükoosid 30
Mullaekstrakt 283
Munasöötmed 277, 286 - 287
Munavalge lagunem. mikroob. toim. 66, 67
Munavalge süntees mikroobirakus 66
Müofibrillid 41
Müoneemid 43
Mütseel 27
Mycoderma 25, 26
Mycomycetes 27
Myxosporidia 45.

N.

„Nägemata mikroobid" 46
Nahapinna mikrofloora 55, 56
Nakkusehaigus 111
Natr. sulfo-indigotat 303
Negatiivne faas 130, 145
Neisser-Gins'i värvimismeetod 256
Neitsilik sigimine (Parthenogenesis) 23, 45
Nernst'i elektrilamp 240
Neurotoksiin 106, 133
Neutraalpunane (Neutralrot) 246
Neutraalpunase-agaar 289
Nicolle lõik. värv. meet. 269, 270
Nicolle-Morax'i vib. värv. meetod 256
Niidisarnased bakterid 12
Nitratatio 271
Nitrifikatsioon 83—85
Nitrobakterid (Nitrobacteria) 84—85
Nitrobakterite kultiveerimine 280, 281, 283
Nitrofenool 290
Nitroosobakterid (Nitrosobacteria) 84—85
Nitroosobakterite kultiveer. 84, 280, 281, 283
Nitroosoferment 84
Noguchi sööde 278
Normaal-aas 231
Nucleasa 75
Nucleoli 40
Nucleus vt. Tuum
Nugilised mikroobid 108

O.

Obligaatsed aeroobid (a-anaeroobid) 69
O. anaeroobid 69
Oblikahappe käärimine 92, 93
Õhu mikrofloora 52—53, 114
Õhu väljapumpamine söötmest 303
Oiidid actinomycet. 32
Oiidium 25, 26, 27
Oksüdeerijad diastaasid 77
Oksükromatiin 40
Oleum ligni cedri 219
Õli-immersioon 219
Omandatud immuniteet 122
Omne vivum ex ovo 7, 8
Oogamia 27
Oogonium 27
Õõnega esemeklaasid 230, 238
Oospoor 27
Ophiotoksiin 105
Opsoniinid 120, 123, 129, 144—146
Opsoniinide indeks 146, O. uurimine Wright'i järele 145
Optiline tegevus m. 70
Optimum erutust 57
Optimum-t^0 69
Optochin 206
Organellid 40, 41
Osmofiilsed mikroobid 62
Osmootiline rõhumine mikroobi rak. 62
Oxydasa 77, 88

P.

Paljurakulised bakterid 12
Panspermiateooria 51
Paraagglutinatsioon 150
Paraffiini sissevalamine 266—267
Parakromofoorsed mikroobid 72
Parasitism (mikroob.) 101—102, 108
Paratroofilised mikroobid 67
Pärmisarnased organismid 25, 95
Pärmseened 49, 88—90
Pärmseente morfoloog. 20—26, P. kest, protoplast, tuum, vorm 21, P. sigimine 22
Partenogenesis, pärmidel 23, algloomad. 45

Partsiaal-agglutinogeenid 149, P.-agglutiniinid 150
Partsiaal-antigeenid 128
Pasteur'i ahi 224
Pasteur'i pipett 120, 145
Pasteuriseerimine 227
Patogeensus (mikroob.) 108
Peitsid 243, 255, 258
Pektasa 76, 91
Pektiinolluse fermentatsioon 91
Pellicula 40
Penicillium 27, 29
Peptolüütiline ferm. 79
Peptoonivesi 276
Periplast spiroch. 35, 36
Peritricha 17
Peroksüdaas 86
Pesa (mikroob.) vorm 300, P. lugemine 301
Petri kausid 232
Petrof'i sööde 286—287
Petruschky sööde 288
Pfeiffer'i fenomen 135—138
Pfeiffer'i kambrike 238
Phagocytosis 119—123, 144, 146, 168
Philothion 77
Philothioni määramine 290
Phycomycetes 27, 28, 50
Pigmentide valmistamine 72
Piimahappe fermentatsioon 93
Piim söötmete jaoks 276, 277, 288
Piirituse käärimine 88
Pikipooldumine 44, 50
Pime vaateväli 239
Pinnakäärimine 25
Pistkülv 293
Pistkultuuri iseloom 294
Plaatinanõelad 231
Plasmolysis 14
Plasmoptysis 14
Plasmosoomid 15, 40
Põhja käärimine 25
Polaarsete terade värvimine 256
Polükroomsinine 259—263
Polüsahhariidide ferment. 90—91
Poupinel'i kapp 224
Polychrom-Unna värv 260
Positiivne faas 130, 145
Preparaator 135
Pretsipitaat 155 [teaduses 158
Pretsipitatsiooni reakts. kohtulikus arsti-
Pretsipitiinid 128, 155—160
Pretsipitoidid 156
Probiont 8
Prodigiosin 73
Progaamiline sigimine 45
Prooviklaasid 232
Proteasa 88
Proteiinid bakter. 105
Proteinoterapia 124, 196—201
Proteolüsiinid 141 [168
Proteolüütilised fermendid 74—75, 79, 133,
Proteus 17, 79, 83
Protoplast 15
Protozoa vt. Algloomad
Prototroofilised mikroobid 67
Pseudodichotomia 12
Pseudokapsel 15
Pseudopoodid vt. Ebajalakesed
Psührofiilsed mikr. 58, 71
Ptomaiinid 80, 103
Puhkavad rakud pärmid. 22
Puhkavad eosed hallituss. 27
Pukal'i filter 228
Pulgasarnased bakterid 10, 11
Puljong 66, 273—276, 278, 279, 280
Pungumine pärmid. 22, 24
Putrefactio vt. Roiskumisprotsessid
Pyocyanasa 62, 187
Pyocyanin 73

R.

Rakusisaldiste värvimine 257 [meetod 191
Ramon'i antitoksilise seerumi titreerimis-
Ranvier kambrike 239
Rasvolluste lagunemine 96
Rauamikroobid (bakterid) 52, 98
Raua ringim. 98
Reichel'i filter 228
Reductasa 77, 88, 98
Reduktsiooniprotsessid 76—77, 98—99
Retseptorid 130, 169
Revolver (mikrosk.) 219
Rhodobacteriaceae 52, 74, 98
Rippuv tilk 238
Ripsmed (cilia) 42
Ristipooldumine 44, 50
Rivanool 207
Rohelised bakterid 73 [83
Roiskumisprotsess 78—83, R. mikroobid
Romanowsky meetod 259—263
Rõugepanemine 177
Rõske kuumusega steriliseerimine 225
Roux kartuliklaasid 287, R. pipett 303, 305, R. regulaator 235, R. termost. 235
Ruge lahus 258

S.

Saccharasa 77
Saccharomycetaceae vt. Pärmseened
Sahli värvilahus 265
Salkowski reaktsioon 81
Sapp'i sööde 277
Saprofüüdid 102, 108
Saprool 214
Sarcina 10, 11
Sartorius'e termostaat 237
Schiff'i reaktiiv 100
Schrywer'i reaktsioon 100
Seerumpuljong 278
Seerumihaigus 172
Segainfektsioon 109, 117
Sensibiliseerimine 135
Sensibilisiin 176

Seroloogiline diagnoos 152
Seroprofülaktika 6, 188
Seroterapia 6, 188
Sidrunihappe käärimine 92, 93
Simonelli-Baudi värvilahus 261
Skeptofülaksia 199
Skleroots 27
Soendamislehter 283
Soendatav esemelaud 222
Soodalahuse desinf. toime 213
Soojalembesed mikr. vt. termofiilsed m.
Soojuse valmistam. 59, 71. S. mõju 57, 58
Söötmed 272, S. koosseis 65—66, S. reaktsioon 65, S. reakts. määramine 290, S. vedelad 273—281, S. kõvad 281—289, S. värvilised 287, S. tuberkuloosibats. jaoks 277, 285, 286, 287, S. spetsiaal 23, 280—281, S. spiroch. jaoks 278, S. vitamiinivabad 101
Sörensen-Michaelis'e indikaator 65, 290
Spirillaceae (spirillum) 10, 11, 12, 18, 50
Spirochaeta 10, 11, 35—39, 50, S. morfoloogia 35, 36, S. liikumine 38, S. jagunemine 37, 38, S. uurimine pimedas vaateväljas 239, S. värvimine 258, 259
Sporangium 27, 28
Sporangiumidekandjad 28
Sporotrichosis 30, 31, 138, 149
Sporozoa 39, 43
Spronck'i pärmipuljong 280
Standardseerum 191
Staphylococcus 10, 11
Sterigma 29
Sterilisatsioon, sterilisatio, 63, 224
Sterilisatio magna 205
Stimuliinid 120, 122
„Stockvaccin'id" 187
Streptobacillus 11
Streptococcus 10, 11, S. mesenterioides 92
Sublimaadi desinfitseeriv toime 213
„Substance sensibilisatrice" 135 [27, 28
Sügospoorid, pärmidel 22, hallitusseentel
Suhkuragaar 283
Suhkurpuljongid 276, 285, 288
Sulfuratio 97—98
Sümbioos 101—103
Superinfektsioon 117, 127
Süsistamine 90
Syncyanin 73

T.

Taandamisprotsessid 76, 77
Taandav ferment 77
Taimelised söötmed 279—280
Tärklisolluse fermentatsioon 90
Tarozzi anaeroobide kasvat. meetod 304
„ puljong 304
Teekalja käärimine 93
Termofiilsed mikroobid 52, 58, 299
Termogeensed mikroobid 59
Termopretsipitatsioon 159
Termostaadid 234—237
Termotaksis 70
Teetanuse antitoksiline seerum 132
Teetanusetoksiini ühik 190, T. proovimine 190, T. valmistamine 189
Tetracoccus 11
Thoma-Zeiss'i aparaat 180
Tilgainfektsioon 114
Tindaliseerimine 227, 284
Tioniiniga lõik. värvim. 269, 270
Toitumine mikr. 63—68
Toksalbumiinid 104
Toksiin 6, 16, 103—106, 128, 132
Toksogeniin 176
Torulaceae 25—26
Transgressioon (Morgenroth) 207
Treponema vt. Spiroch.
Trichobacteria 12, 17
Trichomonas 39, 45
Trichophyton 30
Trofonukleus 40, 41
Tropiinid vt. Bakteriotropiinid
Trüpaan punane 202
Trüpsiin 77
Trüptofaan 81, 82
Trypaflavin 206
Trypanosoma 39
Tsellulaas 90 [167
Tsellulaarne immuniteedi teooria 121, 123,
Tselluloosi fermentatsioon 90
Tselluloosi värvimine 257
Tsentrifuugid 233
Tsüst 40
Tsütaasa 120, 135
Tsütolüsiinid 141
Tuberkuloosibatsil. värvim. lõik. 270
Tuksuv põieke 40
Tulega steriliseerimine 224
Tungalpea (Claviceps p.) 27
Türosiin 82
Tušimeetod kihnude uurimis. 254
Tuubus 218
Tuum bakteritel 16, T. pärmidel 21, T. protozoid. 40, 41, T. spiroch. 36
Tuuma värvimine 257
Tyndall'i fenomen 222
Tyrosinasa 77

U.

Ultramikroskoop 222, 239
Ultravirus 7, 46—48, 75
Undulatio 42 [meetod 294
Ungermann'i mikroobide alalhoidmise
Universaalsööde 65
Urasa 76, 77
Urobakterid 79

V.

Väävelvesiniku valmistamine 80, 82
Väävlibakterid 74, 98
Vaba hapniku kõrvaldamine söötmest keetmise abil 302, V. hap. kõrv. söötm. inertsete gaasidega 302

Vaccinatio 178
Vahendajad 113
Vaktsiini valmistamine 178, V. mikroob. arvu äramääram. 179, V. steriliseerimine 181, V. tarvitamine 184, V. kompressid 125—126, V. sensibiliseeritud 182
Vaktsinoterapia 6, 126, 177, 201
Vaktsiniseerimine 122
Vaktsiinoprofülaktika 177
Vakuoolid, bakterit. 15, 16, V. pärmidel 22, V. algloomadel 40
Valge leiva faina käärimine 90
Valgu ammonisatsioon 82
Valgu lagunemine 78—83
Vana tuberkuliin (Koch) 105
Van-Ermengem'i värv. meetod 256
Variatsioonivormid bakteritel 14, V. pärmidel 24, 25
Variola 48
Variolatio 177
Värvide lahused 243
Värvimata mikroobide uurimine 237
Värvimine 247
Värvitud preparaatide konserveerim. 249
Vaseliiniõli 302
Vee hindamise normid 53, 54
Veekogude mikrofloora 53
Veillon'i aeroobide isoleerimismeetod 298, V. anaeroob. kasvatam. meet. 304
Veniv piim 92
Verepuljong 279
Vereseerum söötmete jaoks 284—286
Vesiniku eksponent (Ph) — 290
Vesiniku happestumine 97
Vesiniku-ioonide kontsentratsioon 290
Vesuviin (Bismarckbraun) 242, 246
Vibrio 11
Viburid, bakteritel 16, 17, V. spiroch. 36, V. protozoidel 41, 42, V. värvimine 255—256
Vignal'i toru 306
Vignal-Veillon'i anaeroobide isoleerimise meetod 307, Vign.-Veill. torud 307
Viinapärmid 24
Virulentsus 109, 110
Virus 109, 110, Virus fixe 110 [35, 36, 41, 42
Virvendav kile (membrana undulans)
Vitaalne värvimine 246
Vitamiinid 67—68, 101
Volised aeroobid ja anaeroobid vt. Fakultatiivsed aer. ja anaer.
Volutiin'i värvim. 246, V. terad bakter. 16, 17, V. terad spiroch. 36
Vorticella 42
Vuzin 206

W.

Walpole kolorimeetriline meetod 66
Wassermann'i reaktsioon 160—166, W. antigeen 160, uuritav seerum 162, W. hemolüüt. ambotseptor 162, erütrotsüüdid 163, W. modifikatsioonid 165—166
Widal'i reaktsioon 252
Wolfhügel'i lugeja 301
Würtz'i anaeroob. kultiv. meetod 304

Z.

Želatiinisööde 281, Ž. sulavus bakterite toimel 75
Ziehl'i karboolfuksiin 244
Ziel-Neelsen'i värvimismeetod 252
Zootoksiinid 133
Zymasa 68, 77, 88

Trükivead.

Lhk,	rida		on:	peab olema:
31	1	ülevalt	Microsporum	Microsporon
„	2	„	„	„
46	24	alt	mikroobis	mikroskoobis
71	2	„	algtemperatuuris	algtemperatuurist
90	1	ülevalt	cor, Rouxii	cor Rouxii
91	20	alt	seenega	senega
106	6	ülevalt	jaorganitele	ja organitele
145	6	„	soendamine	soendamise
178	12	„	ambolatoorsete	ambulatoorsete
183	22	„	3.1000	3:1000
185	10	alt	vaginititis	vaginitis
187	17	„	b. diphtheria	b. diphtheriae
191	24	ülevalt	Sellest	Selleks
207	11	alt	ked a nfitseeritud	keda infitseeritud
„	10	„	taiudi	taudi
227	15	ülevalt	kaukestvalt	kauakestvalt
240	21	„	veeseerumiga	vereseerumiga
244	5	„	mikroobis	mikroobid
269	17	alt	värmismeetodid	värvimismeetodid
283	9	“	mitrobakterite	nitrobakterite

Sisu.

Mikrobioloogia arenemiskäik 3
Mikroobide morfoloogia ja süstemaatika 9
I. Bakterite morfoloogia 10
II. Pärmseente morfoloogia (saccharomycetaceae) . . . 20
III. Hallitusseened (fungi) 27
IV. Kiirikseened (actinomycetes) 31
V. Spiroheedid (spirohaeta, treponema) 35
VI. Algloomad (protozoa) 39
VII. Ultramikroskoobilised ja filtreeruvad organismid (ultravirus) 46
Mikroorganismide paik teiste organismide hulgas 49
Mikroobide laialilagunemine looduses 51
Mikroorganismide üldine füsioloogia 56
Füsikaalsete tegurite mõju mikroobide peale
1. Temperatuur (57). 2. Päikese valgus ja kunstlik valgus (59). 3. Mehaanilised faktorid ja elekter (60). 4. Kuivamine (61).
Keemiliste faktorite mõju mikroobidesse 61
Mikroobide toitumine 63
Mikroobide hingamine 68
Mikroobide elutegevuse avaldused 70
Mehaaniline tegevus 70
Optiline tegevus 70
Soojuse valmistamine 71
Mikroobide keemiline tegevus 72
Pigmentide valmistamine 72
Mikroobide fermendid-ensüümid 74
Fermentatsiooniprotsessid 78
Lämmastikku sisaldavate ainete fermentatsioon . . . 78
Nitrifikatsioon 83
Denitrifikatsioon 85
Vaba lämmastiku sidumine 86
Süsivesikute fermentatsioon 88
Alkoholi fermentatsioon 88
Polüsahhariidide fermentatsioon 90
Glükosiidide fermentatsioon 91
Pektiin-olluse fermentatsioon 91
Lima fermentatsioon 92
Hapendavad fermentatsioonid 92
Piimahappe fermentatsioon 93
Õlihappe fermentatsioon 95
Rasvolluste lagunemine mikroobide toimel 96
Fermentatsioonide tagajärjel tekkivate produktide saatus 96
Mikroobide toime väävel-, fosfor- ja raudolluste peale 97

Mikroobide reduktsiooniprotsess 98
Gaaside tekkimine mikroobide toimel 99
Hapete, leeliste ja aldehüüdide tekkimine mikroobide toimel 100
Mikroobide vitamiinid 101
Mikroobide parasitism ja sümbioos 101
Mikroobide toksiinid 103
Aggressiinid ja antifagiinid 107
Infektsioon 107
Immuniteet ja seroloogia 118
Loomulik immuniteet 119
Omandatud immuniteet 122
Lokaalne immuniteet 125
Depressiooni immuniteet 127
Antigeenid ja antikehad 128
Antitoksiinid ja antifermendid 131
Bakteriolüsiinid 135
Immuunhemolüsiinid 138
Proteolüsiinid ja tsütolüsiinid 141
Komplement 142
Opsoniinid ja bakteriotropiinid 144
Agglutiniinid 147
Pretsipitiinid 155
Komplemendi fikseerimise reaktsioon 160
Immuniteedi mehhanism 167
Anafülaksia 171
Vaktsinoterapia ja vaktsinoprofülaktika 177
Seeroterapia ja seeroprofülaktika 188
Proteinoterapia 196
Kemoterapia (Chemotherapia) 201
Desinfektsioon 207
Üldine mikrobioloogiline tehnika ja metoodika 215
Mikrobioloogiliste tööde kord 215
Mikroskoop ja selle tarvitamine 217
Tarvilikud aparaadid ja objektid mikrobioloogiliseks tööks 224
Sterilisatsioon 224
Objektid mikroskoobiliseks tööks 230
Termostaadid 234
Mikroorganismide bakterioskoobiline uurimine 237
Ilma värvimata mikroobide uurimine 237
Rippuv tilk 238
Mikroobide uurimine ultramikroskoobiga 239
Lindner ja Burri meetod 241
Värvitud mikroobide uurimine 241
Värvide lahused 243
Elusate mikroobide värvimine 246
Fikseeritud preparaatide värvimine 247
Gram'i värvimismeetod 249

Claudius'e värvimismeetod 251
Happekindlate (happeresistentsete) mikroobide värvimine 251
I. Ziehl-Neelsen'i meetod (252). II. Jötten-Haarmann'i meetod (252). III. Konrich'i meetod (252). IV. Kronberger'i meetod (253).
Eoste värvimine 253
Möller'i meetod (253). Fraenkel'i meetod (253).
Kihnude (kapslite) värvimine 254
Johne meetod (254). Aoki meetod (254) Tušimeetod (254). Kiire meetod (255).
Viburite värvimine 255
Kiyoshi-Jokota meetod (vähe muudetud) (255). Van Ermengem'i meetod (256). Nicolle-Morax'i meetod (256).
Ernst Babès'i polaarsete terade värvimine 256
Neisser-Gins'i meetod (256).
Mikroorganismide rakusisaldiste värvimine 257
Spiroheetide värvimine 258
Hoffmann'i meetod (258). Becker'i meetod (258). Fontana-Tribondeau hõbetamismeetod (258).
Metüleensinise derivaadid ja Romanowsky meetod . . 259
Polychrom-Unna (260). Manson'i sinine (260). Ammoniaagi polychrom (260). Romanowsky meetod (260). Lihtsad metüleensinise eosinaadid (261). Liit-eosinaadid (262). Hollande värv (262). Goubault'i värv (262).
Eosinaatide tarvitamine 263
Värvimine Giemsa värvilahusega (264).
Hallitusseente ja dermatofüütide uurimine 264
Lõikude bakterioloogiline uurimine 265
Fikseerimine 265
1. Alkohol (265). 2. Sublimaat (266). 3. Formaliin (266). 4. Bouin'i fikseeriv lahus (266).
Paraffiini sissevalamine 266
Värvimine 269
Lihtne värvimine (269). Nicolle'i meetod (269). Tioniiniga värvimine (269). Kahekordne värvimine (270). Gram'i meetod (270). Kolmekordne värvimine (270). Nicolle'i meetod (270). Tuberkuloosibatsillide värvimine (270). Leeprabatsillide värvimine (271). Giemsa meetod (271). Lõikude hõbetamine (271). Levaditi hõbetamismeetod (272).
Mikroobide söötmed ja nende valmistamine 272
Vedelad söötmed 273
1. Loomalikud söötmed 273
Lihapeptooni-puljong (273). Martin'i puljong (275). Suhkurpuljongid (276). Glütseriinpuljong (276). Calcium carbonic-suhkurpuljong (276). Peptoonivesi (Koch) (276). Piim (276). Sapp (277). Besredka sööde (277). Vereseerum, transsudaadid ja ekssudaadid (278). Seerumpuljong (278). Noguchi sööde (278). Martin-Pettit sööde (278). Veri (279). Verepuljong (279).
2. Taimelised söötmed 279
Linnasevesi (279). Spronck'i pärmipuljong (280). Kuivatatud puuvilja leotis (280).
3. Kindla keemilise koosseisuga söötmed 280
Fraenkel-Voges'i vedelik (280). Gibbs'i sööde (280).

Kõvad söötmed 281
Harilik želatiinisööde (281). Agaarsöötmed (282). Glütseriiniagaar (283). Suhkur-agaar (283). Mullaekstrakti ning pestud agaari sööde (283). Koaguleerunud vereseerum (284). 1. Veeni punktsioon (284). 2. Tapamajast saadud veri (284). Seerumi koaguleerimine (285). Loeffler'i seerum (285). Glütseriinseerum (285). Agaarseerum ja agaar-astsiit (285), Veri-agaar (286). Munasööde (286). Loomulik munasööde (286). Petrof'i sööde (286). Kartulid ja porgandid (287).
Värvilised söötmed 287
Lakmussöötmed (288). Petruschky sööde (Lakmusmolke) (288). Kongopunase-agaar (288). Endosööde (fuksiin-agaar) (289). Lakmusnutroosi-agaar (Drigalski-Conradi) (289). Neutraalpunase-agaar (289).
Söötmete reaktsiooni määramine vesinikuioonide kontsentratsiooni abil 290
Mikroobide kultiveerimine ja isoleerimine 291
Külvamine 292
A. Külvamine vedelasse söötmesse (292). B. Joonkülv kõvale söötmele (292). C. Pistkülv (293).
Kultuuride kasvutingimused 293
Kultuuride uurimine 293
A. Kultuuride iseloom vedelais söötmeis (293). B. Kultuuride iseloom kõvadel söötmet. (293). C. Pistkultuuri iseloom (294).
Kultuuride konserveerimine 294
Aeroobsete mikroobide isoleerimine 294
Üldised meetodid 295
Lahjendamine vedelikkudes 295
Isoleerimine kõvade söötmete abil 295
A. Isoleerimine sulatatud kõvade söötmete abil (295). Isoleerimismeetod želatiinsöötmes (296). Isoleerimine agaar-söötmes (296). B. Dissemineerimine kõvade söötmete pinnale (297). 1. Prooviklaasid põikagaariga (297). 2. Isoleerimine Petri kaussides (297). 3. Veillon'i meetod (298).
Spetsiaalsed isoleerimismeetodid 298
Aine soendamine (298). Kultiveerimine mitmekesises soojuses (298). Isoleerimine spetsiaalsete söötmetega (299). Eelkultuurid (299). Mikroobide sulatamine (299). Inokuleerimine loomadele (300).
Isoleeritud mikroobipesade uurimine 300
Anaeroobsete mikroob. kultiveer. ja isoleerim. 302
Vaba hapniku kõrvaldamine söötmeist (302). 1. Keetmine (302). 2. Inertne gaas (302). 3. Hapniku absorbeerimine (302). 4. Õhu väljapumpamine (303).
Anaeroobide kasvatamine 303
A. Vedelad söötmed (303). Roux pipett (303). Würtz'i meetod (304). Buchner'i meetod (304). Legros' meetod (304). Tarozzi meetod (304). Veillon'i meetod (304). B. Kõvad söötmed (305). Buchner'i meetod (305). Roux' pipetid (305).
Anaeroobide isoleerimine 305
Plaatide meetod (305). Vignal'i meetod (306). Liborius-Veillon'i meetod (306). Vignal-Veillon'i meetod (307). Soendamismeetod (307). Inokuleerimine loomadele (307).
Register 308
Trükivead 316
Sisu 317

A-4197

TÜ RAAMATUKOGU
1 0300 01111312 5