

ÚSTAV PRO LÉKAŘSKOU MIKROBIOLOGII

A IMMUNOLOGII

Zvláštní otisk z Časopisu lékařů českých 89 : 134, 1950

KARLOVY UNIVERSITY

PRAHA II, U BOTANICKÉHO ÚSTAVU 7

KNIHOVNA

TELEFONY Č. 320-13, 320-14, 349-92

576.851.55 (047.1) : 616-022.7

Plectridium capitovale varietas nova jako příležitostný vyvolavatel lidského onemocnění.

Dr FRANTIŠEK PATOČKA - PAVEL NOVOTNÝ.

Z ústavu pro lékařskou mikrobiologii a imunologii Karlovy university. Přednosta: prof. MUDr F. Patočka.

Je obecnou zkušeností, že v rozsáhlé čeledi anaerobních klostridií, která je ze všech anaerobních mikroorganismů nejlépe prostudována a klasifikována, jsou zařazena jednak klostridia nesporně vysoce patogenní (na př. klostridia, vyvolávající anaerobní traumatosis, nebo plectridium tetani), jednak klostridia de norma saprofytického charakteru, ale zhusta přicházející v lidských patologických produktech, nebo v lidských exkrementech a tedy při nejmenším důležitá diferenciací diagnosticky. Mezi oběma celkem vyhraněnými skupinami je skupina přechodná, která je poměrně nejméně prostudována a v níž jsou občas popisovány i nové druhy, které se ukázaly býti příležitostnými vyvolavateli patologických procesů pro zvíře i pro člověka.

Skupina prvá se zdá býti více méně uzavřenou a lze v ní již jen stěží očekávat objevy nových patogenních bacilů. Kromě několika druhů, které mají cenu spíše jen historickou, neboť byly izolovány jednou či dvakrát autorem, který je také popsal a jejichž kultury nelze nalézt v žádné ze stávajících světových sbírek (na př. inflabilis satellitis, endosporus otricolare, paraplectrum malenominatum), obsahuje známé vyvolavatele anaerobních traumatosis a klostridia i plectridia toxická.

Z vyvolavatelů anaerobních traumatos lze považovati za pravidelně pathogenní druhy *Welchia perfringens*, *clostridium Novyi A a B*, *clostridium haemolyticum*, *clostridium septicum*, *clostridium Chauvoei*, *clostridium histolyticum*, *clostridium fallax*. Nejnověji bylo objeveno a i v Evropě opětovaně prokázáno *clostridium Sordelii (oedematoides)*, jehož některé kmeny jsou určitě nejtoxičtějšími vyvolavateli maligního oedemu vůbec. Proto je tím pozoruhodnější, že bylo zcela nově dokázáno (McClung), že tento bacil, neobyčejně prudce smrtící, není pravděpodobně nic jiného nežli extrémně toxická varianta již dříve dobře známého a za neškodného putridního saprofyta považovaného *clostridia bifermentans*. Bude-li toto se vši určitostí potvrzeno, bude to nejdokonalejší ukázkou zajímavého zjevu, v jak neuvěřitelných rozmezích (v té míře neznámých u jiných druhů pathogenních mikroorganismů) může kolísati virulence (zde opřená ovšem hlavně o produkci toxinu) téhož druhu mikrobiálního v přírodě.

Do kategorie toxických klostridií patří všechna klostridia botulinická a parabotulinická, jichž toxin účinkuje, jak známo, periferně a paralyticky, a pak *clostridium difficile*, produkující toxin křečového účinku, který, pokud je dosud známo, se nikdy neuplatňuje v organismu přirozeného hostitele klostridia, t. j. dítěte, nýbrž je prokazatelný pouze experimentem na zvířeti. Z plektridií vysoce toxických patří sem pouze známé *plectridium tetani*.

Z klostridií pathogenních, jež jsou často nacházena v pathologických produktech člověka i zvířete, v bezprostředním okolí lidském a ne zcela vzácně bývají izolována dokonce i z lidských haemokultur, uvedeme jen nejčastější. Jsou to většina kmenů *clostridia sporogenes*, *clostridium bifermentans* (s výjimkou shora popsanou), široká skupina klostridií butyrických a *plectridium putrificum* (s několika variantami), *plectridium sphenoides*, *cochlearium*, *tertium* a *pseudotetani*. Během řady let měli jsme

příležitost všechna tato posledně jmenovaná klostridia a plektridia opětovaně izolovati z nejrůznějších hnisů, nekros, lidských střevních obsahů, z gangrenosních appendicitid, z rozpadajících se tumorů, postoperačních putridně hnisavých komplikací i z haemokultur (z těchto dokonce 2krát celulólytické a nejsaprofytičtější ze všech — *clostridium butyricum*).

Intermediární skupina je nejméně jistou a obsahuje některé druhy vzácně přicházející, či také jen příležitostně pathogenní varianty druhů jinak nepathogenních. Z posledních jsou nejznámější slabě toxické varianty klostridia *sporogenes* a velmi málo toxické *clostridium multifermentans*. Pravidelněji pathogenní je *clostridium aerofetidum* a velmi vzácné *plectridium haemolysans*, *plectridium carnis* a *plectridium incertum*. Velikou vzácností jest jen několikrát uskutečněný nález klostridia *mittelmani* (slabě pathogenní pro experimentální zvířata, u člověka prý vyvolávající průjmová onemocnění — námi bylo izolováno ze staletého střevního obsahu mumií) a nověji popisovaného *plectridia capitovale*. O tomto posledním bylo dlouho neznámo, zda je pouze druhotným zárodkem, jenž se nijak specificky neuplatňuje při smíšených anaerobních infekcích, či zda snad může býti i primárně pathogenním.

Naše pozorování prokazuje, že za určitých okolností může býti *plectridium capitovale* pathogenním pro člověka i v prakticky čisté kultuře.

Plectridium capitovale (synonyma *clostridium capitovale* nebo *bacillus capitovalis*) bylo prokázáno jako samostatný druh po prvé Snyderovou a Hallem r. 1936. Autoři nahromadili do této doby celkem 12 kmenů v průběhu 14 let, a to jednak ze zvířecího, jednak z lidského materiálu. U člověka bylo zjištěno většinou při smrtelných peritonitidách z pobřišnicového exsudátu, jednou ze střelné rany, dvakrát z krve při těžkých sepsích a třikrát ze stolice normálních kojenců. Ve všech případech byl *bac. capitovalis* sdružen buď s pyogenními koky nebo s aerob-

ní i anaerobní střevní florou, zejména též s *Welchia perfringens*. Z tohoto fakta, jakož i z okolností, že byl nalezen v normálním dětském střevě, usoudili jistě správně Snyderová i Hall, že *Plectridium capitovale* patří mezi intestinální anaeroby.

Dále kriticky připustili, že tento anaerobní bacil byl vypěstován již jinými autory před nimi, ale nebyl rozpoznán a přesně prostudován jako samostatný druh. Zejména býval pravděpodobně asi zaměňován s nejrůznějšími variantami *Plectridia putrificum* a *paraputrificum*.

Prohloubené studium *Plectridia capitovale* dovo-lilo jej oddělit relativně snadno od *Plectridií* jemu morfologicky podobných, zejména od *Plectr. tetani*, *cochlearium*, *tertium*, *putrificum* a *pseudotetani*.

Snyderová a Hall studovali poměrně zevrubně antigenní vztahy *Plectr. capitovale* a *Plectr. paraputrificum*, jemuž se zdá býti nejpříbuznější, a shledali — když byli vyloučili před tím vliv nespecifických faktorů (na př. kyselá aglutinace) — že jednak všechny kmeny *Plectridium capitovale* jsou antigenně shodné, jednak odlišné od všech zkoušených kmenů *Plectr. paraputrificum*. Dodatečně zkoušeny serem připraveným proti *Plectr. capitovale* kmeny *Clostridia caloritolerans* a *Plectr. tetanomorfum* také s výsledkem negativním.

Rovněž při srovnání vlastností *Plectr. capitovale* s řadou *Plectridií*, jež byla sice popsána, ale jichž kmeny se nedochovaly, došli k závěru, že žádné z nich se neshoduje zcela s kmeny, jež prostudovali a popsali jako nový druh.

Autonomie genus *Plectridium capitovale* (Prévot) nebo *Clostridium capitovale* (Bergey et al. 1948) jest dnes již nesporně zajištěna. Podle všeho jde asi o bacila vzácného, neboť kromě práce Hallové a Snyderové se nám nepodařilo nalézt v literatuře popis dalších kmenů. I ústní sdělení odborníků (K. F. Mayer, Mac Olung, Prévot) nám potvrdila, že jeho

isolace, zejména z pathologických produktů lidských, patří k raritám.

V našem případě šlo o staršího muže s rozpadlým karcinomem žaludku, který byl při těžkém stavu nemocného resekován. Pacient byl operován a ošetřován dr. Budínem (stát. fakult. nemocnice, pobočka Praha III), jemuž vděčíme za zaslání materiálu a pozorování průběhu choroby. Již druhý den po operaci dostavila se horečka, ztížené dýchání a během krátké doby se vytvořil empyém hrudníku, zřejmě v souvislosti s exulcerovaným tumorem jako komplikace pooperačního průběhu. Vzhledem k empyému byla provedena resekce žebra a rána drenována. Přes nejpečlivější ošetření se však stav pacientův zhoršoval a pacient během několika dnů za příznaků těžké intoxikace zemřel. Pitván nebyl.

Empyém obsahoval řídký, zahnědlý, lehce páchnoucí hnis, jenž vyšetřen v průběhu choroby celkem 2krát, po každé se stejným nálezem. V nápadně velikém množství byly prokázány gram pozitivní rovné štíhlé tyčinky, 2—6 $\mu\mu$ dlouhé, ukončené nápadnou terminální sporou, která šířkou přesahovala několikrát příčný průměr bacilárního těla.

Náš prvý dojem byl, že se hnis hemží tetanickými bacily, ale při podrobnějším prostudování celé řady preparátů jsme shledali, že spory nejsou přesně kulaté, jak bývá pravidlem u tetanu, nýbrž mírně ovoidní. Kromě popsaného bacila jsme našli v preparátech jen naprosto ojedinělé protáhlejší koky, upomínající na enterokoka.

Z hnisu byly založeny kultury na tekutých i tuhých půdách za podmínek aerobních i striktně anaerobních. Za aerobních podmínek vypěstovaný pouze nečetné kolonie enterokoka.

V anaerobním bouillonu se vytvořil během několika dní zákal, odpovídající nesčetným gram pozitivním tyčinkám, na jejichž konci se postupem doby počaly vytvářeti spory stejného charakteru, jaké nalezeny v preparátu z pathologického produktu.

Na krevním agaru za anaerobních podmínek objevily se z počátku až po 3 dnech prvé známky vzrůstu, a to tvorbou velmi jemných, zcela průhledných kolonií, upomínajících nejprve na kulturu erysipelo-thrix, později spíše na haemofila influenzae, načež po dalších 3—4 dnech vyrůstaly rychle až do průměru několika mm. Současně se měnily co do barvy i konsistence tak nápadně, jako snad žádný z běžně známých mikrobů. Z počátku zcela průhledné a bezbarvé kolonie vyrostly přibližně během týdne ve velké, neprůhledné, terčovité kolonie, s přesně ohraničenými konturami a poněkud prominujícím centrem, uprostřed sírově nažloutlé barvy, s bělavě kalnou periferií.

Tato nápadná přeměna povrchové kultury je podle našeho soudu vedle morfologie mikroba jednou z nejjistějších diagnostických známek. Bacil ani po delší době nehaemolysoval. Bouillon byl nejdříve lehce, později zřetelně zkalen, s tvorbou malého kvanta plynu.

V glukosovém bouillonu byl zákal mohutnější, množství plynu zřetelně větší. Když jsme se několika pasáží z tekutých půd rozočkováním na anaerobní krevní plotnu přesvědčili, že naše kultura je naprosto čistá, vstříkli jsme nejprve mladou (asi 18hodinovou), později postupně starší kultury anaeroba morčatům podkožně v dávkách 1—2 cm.

Průběh experimentální choroby byl u různě starých kultur vždy přibližně stejný, což svědčilo o tom, že bacil neprodukuje žádný specifický exotoxin. Již po 6—10 hod. se v místě vpichu vytvořil značně rozsáhlý, tmavě rudý oedem se zřetelným třaskáním bublinek plynu. Tento oedem vypadal velmi hrozivě a měl všechna charakteristika tvořící se těžké plynové flegmony. Přes tento význačný lokální nález zůstával ku podivu celkový stav morčete jen málo změněn (silně vyznačená bolestivost v místě oedemu).

Po 24 hod. byl stav prakticky stejný, množství plynu v podkožní tkáni spíše větší. Po 48 hod. však

již oedem značně ustoupil a na hranici oedematosní kůže se zřetelně rýsovala demarkační nekrosa.

Za 72 hod. oedem zpravidla již z velké části zmizel, místo něj se vytvořila tuhá eschara, jejíž okraje se rychle odlupovaly od spodiny. Morče zůstalo naživu.

Králík a bílá myška se zdály býti ještě méně citlivými zvířaty než morče. Bylo tedy jasné, že námi vypěstovaný anaerob měl v pokuse na zvířeti sice naprosto zřetelné, ale relativně slabé pathogenní vlastnosti, přibližně asi takového rázu, jako slabě toxické kmeny *welchia perfringens*, nebo toxické varianty *clostridia sporogenes*.

Morfologie námi izolovaného anaeroba, jeho zvláštní a typický růst na krevní plotně a jeho nesporná pathogenita zvláštního typu nás již z kraje přivedla k diagnose *plectr. capitovale*. Abychom si ji ověřili, rozhodli jsme se prostudovati pečlivě všechny ostatní biologické vlastnosti bacila i jeho metabolismus.

Pokusy se stanovením metabolitů byly konány dodatečně, a to v době, kdy jsme již byly na tyto chemické výkony připraveni. Mezi tím byla již kultura adaptována a stabilisována. Opětovaným vyšetřením jsme zjistili tyto kultivační symptomy: Ve Veillonově agaru (Prévotova modifikace, t. j. Vfbujon + 0,8% agaru, 0,25% glukosy) po 3 až 4 dnech vytvořil bacil v anaerobní zóně vzrůstu diskovité kolonie, které dosáhly po době 1 týdne asi 2—3 mm v průměru. Typické je to, že mnohé disky se navzájem prorůstaly, takže vznikly kolonie komplexního tvaru — zhruba vzezření lodního šroubu. Barva kolonií byla bělavá, konsistence měkká.

Brewerova standardní půda: poměrně viskosní a velmi hustý sediment, nad nímž se vznáší hrubě vločkovitý zákal, sahající asi do poloviny půdy, s tvorbou kompaktních vloček, velikosti až drobného rýžového zrnka.

Mozková kaše: nepatrně tmavší, malé, ale zřetelné množství plynu.

Mozková kaše se železnými pilinami: Kolem páteho dne počala kaše černat, zejména nad hustým sedimentem rozetřeného mozku. Dvanáctý den byla již kaše velmi značně zčernalá.

Pohyblivost (zkoušeno v zatavených kapilárách v silně redukčním bujonu): Mladé kultury (asi 24 h.) jsou zřetelně pohyblivé.

Nitráty: nebyly redukovány.

Želatina: zkapalňována, zřetelné množství plyňu.

Koagulovaný vaječný bílek i koagulované serum vložené do bujonu: proteolysovány, což se projevilo zprůhledněním kostek na hranách asi po 24 dnech. Po měsíci byly kostky zmenšeny až na polovinu.

Mléko s játry koagulováno po době 10—14 dnů.

Indol nebyl tvořen.

Až potud se všechny vlastnosti námi vypěstovaného bacila shodují s klasickým popisem převážné většiny kmenů *clostridia capitovalis*. V dalším jsme však zařadili studium některých vlastností, které buď nebyly až doposud vůbec sledovány, nebo v nichž se náš kmen od klasického popisu lišil.

Plotna s vaječným žloutkem podle Mc Clunga: bacil vyrostl dobře, ale půdu v okolí nezměnil, pouze přímo pod kolonií byla půda vysrážena. Tento typ vzrůstu svědčí o tom, že *plectr. capitovale* neprodukuje žádné lecithinasy (mikrobiální lecithinasy jsou pravidelně lecithinasou D.).

Kultivace v mléce se železem podle Spraye: mléko koagulovalo za 2—3 dny, zčernalo třetí den a bylo velmi zřetelně černé a peptonifikované až 5. den kultivace. Patří tedy *plectr. capitovale* do 4. skupiny (Spray), podobně jako *clostridium botulinum* A, B, *clostridium sporogenes*, Sordelli a *histolyticum*.

Fermentace cukrů: kvasné reakce byly prováděny jednak v obyčejném bujonu, v němž byly stopy cukrů odstraněny několikanásobným pomnožením *escherichia coli*, načež půda odfiltrována a přidáno 1% peptonu Difco, 1‰ natriumthioglykolátu a 1‰ agaru. Cukry přidávány v množství 1%. (Paralelně

dělány reakce v půdě částečně definovatelné, kde rozpuštěno v obyčejné vodě 2% proteosového peptonu Difco, $\frac{1}{2}$ % NaCl, 1‰ práškovaného agaru a 1‰ natriumthioglykolátu plus 1% cukrů, zde však byl vzrůst bacila velmi chabý.) Z cukrů zkoušeny glukosa, levulosa, laktosa, maltosa, sacharosa, galaktosa, rafinosa, arabinosa, xylosa, manosa, inulia, manit, dulcitol, sorbit, inositol, salicin, eskulin, glycerol. Po 14 dnech až 3 nedělích reakce odečítány. Kromě náznaku fermentace glukosy a částečně i laktosy se zdálo, že žádný z cukrů nebyl zřetelněji fermentován. Zřejmě tedy jde o nesacharolytickou variantu, v čemž se lišil náš kmen od ostatních popsaných Snyderovou a Hallem (pravidelně jsou kvašeny glukosa, levulosa a galaktosa za produkce plynu, kdežto řada jiných cukrů jako maltosa, sacharosa, laktosa, manitol, glycerol zůstávají beze změn).

Stanovení metabolitů: dělo se v týden starých bujonových kulturách s přidáním CaCO_3 . (Neměli jsme polodefinovatelnou půdu, v níž by bacil dostatečně rostl; ostatně i Prévot a celá řada jiných autorů rovněž užívá Vf bujonu.) Kultury byly protřepány a přefiltrovány, při čemž část byla destilována, část byla precipitována etanolem. Některé produkty byly stanoveny ve filtrátu přímo. Různými methodami byly stanoveny tyto metabolity: H_2S , NH_3 , etanol, kyselina mravenčí, kyselina mléčná, kdežto máselná, propionová a acetylmethylcarbinol nikoliv. Krom toho nalezena řada jiných metabolitů, nezvyklých u anaerobních klostridií, jež prozatím neuvádíme, neboť celá tato otázka bude prostudována zvláště.

Podle Prévotova stanovení produkovaly kultury, které měl k dispozici, kromě amoniaku a sirovodíku kyselinu mléčnou, octovou, valerovou a máselnou.

V poslední řadě pokusů zkoušeny antigenní vlastnosti plectridia capitovale. Mladými kulturami imunisováni králíci, a to 4 injekcemi subkutánními, 4 intraperitoneálními a 4 intravenosními, při čemž

z počátku bylo použito kultur usmrcených, později živých. Imunisační schema bylo prováděno po dobu přibližně dvou měsíců. Asi 10 dní po skončení imunisace byl aglutinační titr proti homolognímu kmeni velmi zřetelný ještě do zředění 1:2560+, což jest značně výše, nežli jak udávají Snyderová a Hall i Prévot. Nezkoušeli jsme ovšem, do jaké míry by toto serum aglutinovalo také jiná plectridia, ale v každém případě je jasné, že náš kmen *Plectridia capitovale* má dobré antigenní vlastnosti.

Diskuse: Morfologické, kultivační i pathogenní vlastnosti námi vypěstovaného plectridia se z největší části shodují s popisem všech kmenů *Plectridia capitovale*, jež dosud byly v bakteriologické literatuře popsány. Považujeme tedy jeho diagnosu za nespornou. Dodatečně jsme dali svůj kmen k dispozici dr. Prévotovi z Pasteurova ústavu, který potvrdil naši diagnosu i náš názor, že jde o neobvyklou variantu, metabolicky i kvasnými vlastnostmi odlišnou od kmenů dosud identifikovaných. Jde tedy o *Plectridium capitovale* varietas nova. Kultivační vlastnosti bacila jsme doplnili vzrůstovými symptomy na žloutkové plotně, jež svědčí pro nedostatek produkce lecithinasy, a zařazením do Sprayova schematu.

Souhlasíme s názorem Snyder-Hallovým, že vlastní původ *Plectr. capitovale* je hledati v lidském zažívacím traktu, o čemž v našem případě svědčí lokalizace pathologické laese, z níž infekce vzešla, i přítomnost konkomitujícího enterokoka.

Náš případ — a to je jeden z nejdůležitějších bodů našeho pozorování — svědčí jako jediný dosud popsáný také o tom, že *Plectr. capitovale* může vyvolati u člověka těžké onemocnění, vedoucí akutní toxemií k smrti. I když šlo o nemocného abnormálně vysíleného a i jinak odsouzeného k smrti (karcinom), je nutno považovati anaeroba námi izolovaného za specifického vyvolavatele empyému a rychle smrtící intoxikace, neboť jiná flora v patho-

logickém materiálu nebyla nalezena a přítomnost nepatrného množství enterokoka nemohla míti na průběh onemocnění vlivu.

Pro to, že je *Plectr. capitovale* mikroblem potenciálně pathogenním, svědčí i jeho výrazné antigenní vlastnosti, jež jsme prokázali produkcí hodnotného aglutinačního sera. Pokud máme zkušenosti s anaerobními mikroby, jsou pathogenní druhy obvykle mnohem lepšími antigeny nežli druhy saprofytické. Metabolické a kvasné odchylky námi izolovaného kmene od kmenů jinde popsanych nás podle našeho názoru neopravňují k tomu, abychom ho považovali za nova species. Můžeme však potvrditi, že ty vlastnosti, kterými se odchyluje od normy, jsou i po letech stále a neměnné.

S o u h r n.

Autoři isolovali z empyému hrudníku, který vznikl po operaci maligního tumoru žaludku, téměř v čisté kultuře gram pozitivní tyčinky s terminálními oválnými sporami.

Studiem vzrůstových vlastností na pevných i tekutých půdách, pathogenních schopností bacila a jeho metabolismu se ukázalo, že jde o novou, dosud nepopsanou variantu *Plectridium capitovale*. Vypěstované *Plectridium* ukázalo se býti velmi dobrým antigenem, takže bylo možno imunisací králíka vyrobiti aglutinační serum proti homolognímu kmeni až do titru 1 : 2500. Bacil byl slabě, ale zřetelně pathogenní pro morče. Neprodukoval lecithinasy. Na rozdíl od jinde popsanych kmenů byl minimálně sacharolytickým a měl částečně odlišné metabolity.

Jelikož v pathologickém produktu nebylo jiných pathogenních bakterií a pacient zemřel za příznaků těžké intoxikace, je nutno považovati *Plectridium capitovale* varietas *asacharolytica* za bacila, jenž příležitostně může vyvolávati těžké i smrtelné lidské onemocnění.

S u m m a r y.

The authors have isolated from empyema which was induced by a stomach carcinoma operation gram + rods with terminal oval spores almost in pure culture. On studying the growth properties and metabolism of this bacillus on solid and liquid media it could be shown that it was a new yet undescribed variant of *Plectridium capitovale*. The plectridium proved to be a very good antigen in consequence of which it was possible to produce an agglutinating anti serum against the homologous strain to the titer 1 : 2500. The bacillus was slightly but distinctly pathogenic for guinea-pigs. It did not produce lecithinase, was asaccharolytic and its metabolites were partly different from strains described elsewhere. As there were no other pathogenic bacteria in the pus from empyema to be found and the patient died under the symptoms of a severe intoxication, *Plectridium capitovale* varietas asacharolytica could be considered as the possible agent of human illness even of death.

Literatura.

Bergey and coll.: Manual of determinative bacteriology. Baltimore, Williams and Wilkins, 1948. — **Hall, I. C. - Snyder, M. L.:** Jour. Bacter. 28 : 181, 1934. — **Mc Clung, L. S. - Toabe, R.:** Jour. Bacter. 53 : 139, 1947. — **Prévot, A. R. - Taffanel, J.:** Comp. rend. soc. biol. 138 : 401, 1944. — **Prévot, A. R.:** Ann. Inst. Past. 61 : 72, 1938. — **Prévot, A. R.:** Manual de classification et de détermination des bactéries anaérobies. Paris, Masson et Cie, 1948. — **Snyder, M. L. - Hall, I. C.:** Ztblt. Bakter. I. Abt. Orig. 135 : 290, 1935. **Snyder, M. L.:** Jour. Bacter. 32 : 401, 1936. — **Snyder, M. L.:** Jour. Bacter. 32 : 411, 1936. — **Spray, R. S.:** Jour. Bacter. 32 : 135, 1936. — **Weinberg, M. - Nativelle, R. - Prévot, A.:** Les microbes anaérobies. Paris, Masson, 1937.

Nákladem Zdravotnického nakladatelství Společnosti čs. lékařů a vědeckých zdravot. pracovníků J. Ev. Purkyně. Středočeské tiskárny n. p., základní závod, Praha II.