

Denne fil er downloadet fra
Danmarks Tekniske Kulturarv
www.tekniskkulturarv.dk

Danmarks Tekniske Kulturarv drives af DTU Bibliotek og indeholder scannede bøger og fotografier fra bibliotekets historiske samling.

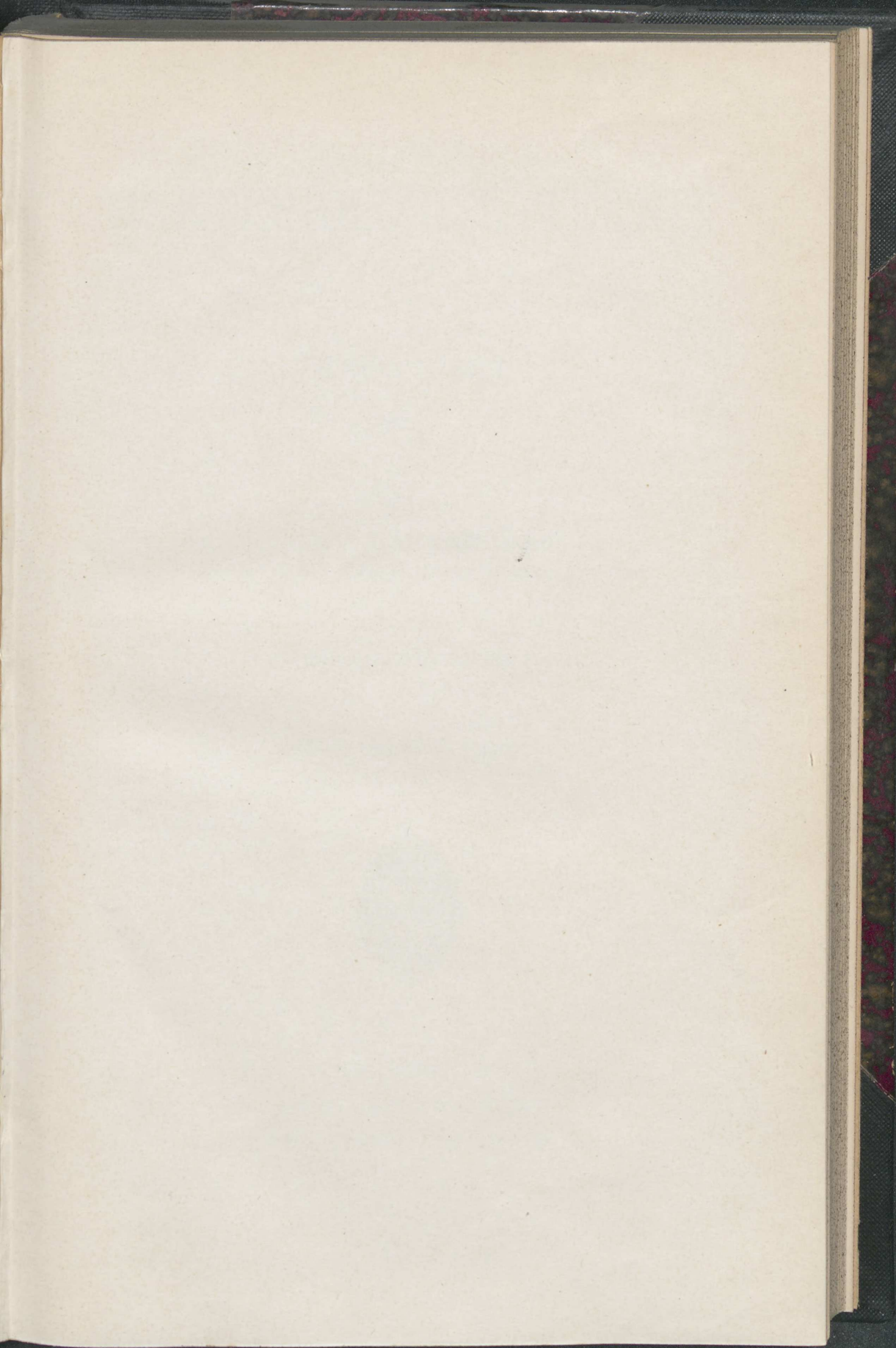
Rettigheder

Du kan læse mere om, hvordan du må bruge filen, på
www.tekniskkulturarv.dk/about

Er du i tvivl om brug af værker, bøger, fotografier og tekster fra siden, er du velkommen til at sende en mail til *tekniskkulturarv@dtu.dk*

57

16



BAKTERIOLOGISK TEKNIK

FOR

MEDICINERE

AF

DR. C. J. SALOMONSEN

PROFESSOR I ALMINDELIG PATHOLOGI VED KØBENHAVNS UNIVERSITET

TREDJE OMARBEJDEDE OG FORØGEDE UDGAVE

MED 92 FIGURER I TEXTEN



KØBENHAVN

P. G. PHILIPSENS FORLAG

TRYKT HOS J. JØRGENSEN & CO. (M. A. HANNOVER)

1894

BACTERIOLOGICAL

REPORT

OF THE

LABORATORY

OF THE



BERKELEY

1908

BY

11

FORTALE TIL ANDEN UDGAVE.

*F*ørste Udgave af denne Lærebog udkom 1885 som Særtryk af „Nordiskt medicinskt Arkiv“. Den nye Udgaves betydeligt forøgede Omfang skyldes for en Del den Omstændighed, at en Vejledning til mikroskopisk Undersøgelse af Bakterierne er med-optaget i den; men desuden har Bakteriologiens livlige Udvikling i de forløbne År nødvendiggjort en Omarbejdelse og Udvidning af alle Bogens Kapitler.

Under Udarbejdelsen har jeg haft to Formål for Øje: Dels har jeg søgt at gjøre Bogen til en brugelig Ledetråd ved bakteriologiske Kursus for Medicinere og Veterinærer; dels har jeg stræbt at give den en sådan Form, at den kunde være til Hjælp for dem, der ere henviste til at arbejde i deres Hjem uden en Lærers Vejledning, og som på egen Hånd ville udføre de for Pathologien og Hygiejnen vigtigste bakteriologiske Grundforsøg.

Jeg har derfor ikke taget Sigte på at give en fuldstændigt udtømmende Fremstilling af hele den bakteriologiske Teknik, men på at fremhæve de simpleste og lettest overkommelige Apparater og Metoder, der ikke altfor meget fordyre Indretningen af et „Hjemme-Laboratorium“, samt på at beskrive disse tilstrækkeligt elementært og udførligt.

Dem, der ønsker en mere omfattende Behandling af Æmnet, kan jeg henvise til Hueppe's *die Methoden der Bakterienforschung*, Wiesbaden 1889.

Kjøbenhavn, Februar 1889.

C. J. S.

FORTALE TIL TREDJE UDGAVE.

Efterat „Bakteriologisk Teknik for Medicinere“ allerede i Aar og Dag har været udsolgt, fremkommer den nu i tredje omarbejdede og forøgede Udgave.

Omarbejdede ere så godt som alle Bogens Kapitler, men kun et enkelt af dem — det tolvte — har det været nødvendigt at give en helt ny Skikkelse.

Forøget er denne Udgave først og fremmest ved Tilføjelsen af et nyt Kapitel, som indeholder Vejledning til Indsamling og Opbevaring af Renkulturer, og i hvilket desuden den bakteriologisk-kliniske Undersøgelse er udførligt behandlet. Jeg har nemlig så ofte haft Lejlighed til at se, hvor vanskeligt det er, selv for vel instruerede unge Medicinere at arbejde bakteriologisk på egen Hånd, at jeg har fundet det hensigtsmæssigt at samle i ét Kapitel sådanne Anvisninger og Vink, som kunne lette dem Arbejdet ved Indsamlingen af mikrobiologisk Undersøgelsesmateriale. Af samme Grund har jeg vedføjet Tillægget om Protozoerne, som er en kun lidet forandret Oversættelse af et Kapitel i Bogens franske Udgave*). Endvidere er Omfanget forøget derved, at flere Instrumenter, som vare udeladte i de tidligere Udgaver (Autoklave, Kvægsølvluftpumpe), ere medoptagne i denne. Jeg har imidlertid bestræbt mig for til Trods for denne Forøgelse af Stoffet at holde Bogen i Overensstemmelse med det Program, som er givet i Fortalen til anden Udgave.

Det vedføjede udførlige Register vil, håber jeg, i flere Henseender bidrage til at forøge Bogens Brugbarhed.

Kjøbenhavn, August 1894.

C. J. S.

*) Den forrige Udgave er oversat på engelsk af Prof. Trelease; fra engelsk til fransk af Dr. Ray. Durand-Fardel, og en spansk Oversættelse (ved Dr. Arviléz) af den franske Udgave udkommer snart.

INDHOLDSFORTEGNELSE.

- I. Sterilisation.
 - II. De almindelige Dyrkningsapparater.
 - III. Næringssubstrater og deres Påfyldning på Dyrkningsapparater.
 - IV. Ren Udsæd.
 - V. Såning.
 - VI. Varmekasser.
 - VII. Den bakteriologiske Analyse af flydende, faste og luftformige Legemer (særligt Vand, Jord og atmosfærisk Luft).
 - VIII. Dyrkning af Anaërobionter.
 - IX. Dyrkning af Mikrober under Mikroskopet.
 - X. Indpodningsforsøg.
 - XI. Såning af Bakterier fra Dyr og Mennesker. — Opsamling og Tilberedning af ursterile Næringssubstrater.
 - XII. Desinfektionsforsøg.
 - XIII. Mikroskopisk Undersøgelse og Farvning af Bakterier.
 - XIV. Indsamling og Opbevaring af Kulturer. — Bakteriologisk-klinisk Diagnose.
 - Tillæg. Om Undersøgelse af Protozoer.
 - Navne-Register.
 - Sag-Register.
 - Tilføjelser.
-

NOBODYSTONKLE

KAPITEL I.

Sterilisation.

Den bakteriologiske Teknik må først og fremmest give os Midler i Hænde til at *adskille de forskellige Bakterierformer fra hverandre* og til at *dyrke hver enkelt i fuldkommen ren Tilstand*; *Rendyrkningen* er en nødvendig Forudsætning for et pålideligt Studium af disse mikroskopiske Organismers Morfologi og Fysiologi.

Det er bekendt nok, at Rendyrkningen af den enkelte Bakterierform er omgjærdet med ganske særlige Vanskeligheder, forårsagede navnlig ved Bakteriernes uhyre Lidenhed, store Talrighed og overordentlige Udbredelse — man kunde sige Allestedsnærværelse. Enhver Genstand, som henstår en kort Tid ubedækket i Luften, er jo udsat for at forurenses med spiredygtige Kim, som med Støvet sænke sig ned på dens Overflade; enhver Berøring med Hænder eller Klæder medfører samme Fare. Denne tilfældige og lidet iøjnefaldende Forurensning må vi først af alt lære at bekæmpe og forhindre; thi det er en Selvfølge, at alle de Beholdere, Instrumenter, Vædske o. s. v., som vi skulle benytte ved Rendyrkningen, ikke blot må være „rene“ i den Betydning af Ordet, i hvilken Kemikerne bruge det, men at de tillige må være rene i *bakteriologisk* Forstand, *sterile*, som det kaldes, d. v. s. *fri for spiredygtige Kim*.

Høj Varme er det almindeligst benyttede Sterilisationsmiddel; men alt efter Materialets Natur må Varmen anvendes

på forskjellig Måde og i forskjellig Grad. En Platintråd f. Ex. steriliserer man bedst ved ¹⁾ *Glødning* i fri Flamme — et Knivsblad derimod eller en Sax vil man af let forståelige Grunde ikke udsætte for Glødning; dem indskrænker man sig til at „flambere“, at ²⁾ *flammerense*, d. v. s., trække så længe frem og tilbage gennem Flammen, at man er sikker på, at hele deres Overflade har været opvarmet til mindst et Par Hundrede Graders Varme, og at således alle Kimene ere brændte bort.

Det er dog kun undtagelsesvis, at Glødning eller Flammerensning lader sig anvende. Har man med Glasbeholdere, Metalsager, Vat, Papir o. lign. at gjøre, da steriliserer man dem som oftest i ³⁾ *varm Luft ved omtrent 150° C.* Ved Tilberedelsen af de fleste flydende og faste Næringssubstrater kan man hurtigst og sikkert nå Målet ved Hjælp af en Papins Gryde, en „Autoklave“, i hvilken Sterilisationen foretages ⁴⁾ *ved spændte Vanddampe af 110° til 120°*, eller man indskrænker sig til at bruge *Kogevarme* — enten man nu simpelt hen ⁵⁾ *bringer* de omspurgte Stoffer i *Kog* eller opheder dem til 100° ved Hjælp af ⁶⁾ *strømmende Vanddampe*. Undertiden kan man endog nødes til at benytte en endnu ⁷⁾ *lavere Varmegrad* — 60° til 70° — for at dræbe Kimene (i Serum f. Ex.).

Foruden høj Varme komme i enkelte Tilfælde også **Filtration** og **desinficerende Stoffer** til Anvendelse som Sterilisationsmidler.

Det Instrumentarium, man behøver for at kunne sterilisere Apparater og Substrater, der anvendes ved de senere beskrevne Forsøg, ere — foruden en almindelig, ikke lysende *Gas-* (eller *Sprit-flamme*) — følgende:

1) *En Sterilisationskasse*, i hvilken Glas- og Metalsager, Vat, Papir o. s. v. ophedes til omtrent 150° ved Hjælp af varm Luft.

Hertil benyttes i Laboratoriet en 30 Ctm. høj, 35 Ctm. bred og 23 Ctm. dyb, *dobbeltvægget Jærnkasse* med et Rør til Anbringelse af et Thermometer i Loftet, en Dør på Siden og med et løst liggende Mellemstykke i den yderste Bundvæg, mod hvilket den *store Gasflamme* (f. Ex. fra en Trebrænder) stadigt spiller, og som derfor efter længere Tids Brug gennembrændes; er dette sket, behøver man blot at lægge en ny Jærnplade ind uden at underkaste hele Apparatet en Reparation.

Man kan imidlertid nøjes med mindre, idet man kan om-danne en af de almindelige (omtrent 24 Ctm. høje, 22 Ctm. brede og 24 Ctm. dybe) *Kikskasser*, der sælges i Urteboderne som brugt Emballage, til en fortræffelig Sterilisationskasse (se Fig. 1—2). I Låget lader man hugge et cirkelrundt Hul, hvori anbringes en gennemboret Korkprop, som bærer Thermometret, hvis Skala må nå op til et Par Hundrede Grader. For Lufttrækkets Skyld slås endvidere på hver af de 4 Side-flader et lille Hul nær den nederste, og et lignende nær den

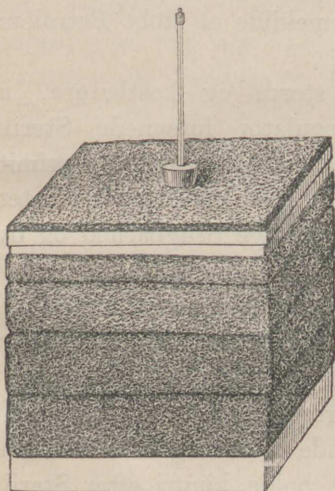


Fig. 1.

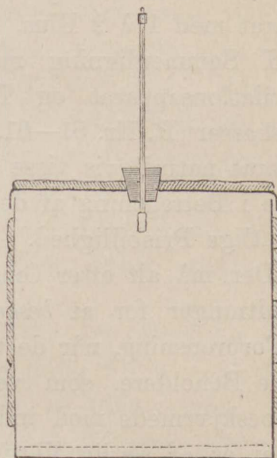


Fig. 2.

Fig. 1. Sterilisationskasse til Sterilisation i varm Luft ved 150°, dannet af en filtbeklædt Kikskasse med Thermometer i Låget og indlagt Jærntvistplade (smlg. Gjennemsnittegningen Fig. 2.)

øverste Rand, således at de ej dækkes af det nedenfor beskrevne Filtbelte. I Kassen lægges et firkantet Stykke stærkt Jærntvist (f. Ex. galvaniseret Jærntvist Nr. 3 fra Zieglers Fabrik), hvis Rande ere således ombøjede, at de holdes i omtrent 2 Ctm.s Afstand fra Bunden; herved forhindres de Gjenstande, der skulle steriliseres, fra at komme i umiddelbar Berøring med denne. Kassen omgives med en slet Varmeleder, hvortil man bedst vælger Filt: Et Stykke, der dækker Låget og i Midten er forsynet med et Hul, gennem hvilket

Korkprop og Thermometer kunne gå, et andet Stykke, der er langt nok til at kunne vikles om alle Kassens fire Sider og så bredt, at det dækker de øverste tre Fjerdedele af disse; den nederste Fjerdedel bør man lade udækket for at undgå, at Filtet svides eller antændes; dette Filtbælte fæstes simpelthen med nogle stramt bundne Seglgarnsstykker. Opvarmningen sker ved et (eller flere) Gasblus, efter at Kassen er stillet på en (eller to) af de almindeligt benyttede Jærntrefødder. Mellem Blussene og Kassens Bund *kan* endvidere lægges en løs, tynd Blikplade for at forhindre Gjennembrænding af Bunden. I Mangel af Gas bruges som Varmekilde et støbt Petroleumss-apparat med 1 å 2 Blus.

I Sammenligning med de større og kostbarere, med Ventilationsapparat og Thermoregulator forsynede Sterilisationskasser (R. Nr. 51—61.) frembyder det beskrevne primitive Apparat naturligvis visse Ulemper; men disse ere for intet at regne i Betragtning af dets fuldstændige Brugbarhed og overordentlige Prisbillighed.

Der må alt efter Omstændighederne træffes særegne Foranstaltninger for at *beskytte* de steriliserede Gjenstande mod ny Forurensning, når de tages ud af Sterilisationskassen. Sådanne Beholdere, som ved Vatpropper eller på anden Måde ere beskyærmede mod indtrængende Kim, og hvis Yderflader det ej er af særlig Vigtighed at holde kimfri efter Sterilisationen (som de nedenfor beskrevne vatlukkede *Kolber* og *Reagensglas*), kunne simpelthen, når de have været opvarmede til 150° i *en halv eller hel Time*, atter udtages og henstilles uden anden Forsigtighed end Tildækning med eller Indsvøbning i Papir for at hindre *stærk* Tilstøvning. Er Talen derimod om sådanne Gjenstande, hvis *Yderflader* det gjælder om at sterilisere absolut, såsom Uhrglas, Objektglas, større Glasplader o. s. v., så må de, førend de lægges ind i Kassen, *indsvøbes omhyggeligt i et Par Lag tyndt og tæt Papir* (Silkekardus), gennem hvilket Kimene fra Luften ej kunne trænge; Sagerne kunne da opbevares længe i pålideligt steril Tilstand. Hensigtsmæssigt er det først at indsvøbe hver enkelt Plade for sig i nogle Lag tyndt Papir og derpå atter indpakke dem samlede i større Partier.

Man sørge for, at *Papir og Vat anbringes så langt fra Kassens Bund*, som Omstændighederne tillade det, da de ellers ved længe fortsat Opvarmning kunne blive forkullede.

Papir og Vat (dog ikke det hygroskopiske Vat) antager ved længere Opvarmning til 140—150° en gullig-brunlig Farve (sveden); denne Farve angiver derfor et af Thermometret uafhængigt Bevis for, at Opvarmningen i Sterilisationskassen har været tilstrækkelig.

2) *Dampsterilisationsapparat efter Rob. Koch.* Sterilisation ved Hjælp af Kogevarme kan selvfølgelig foretages simpelthen ved Kogning i Vand; men da denne Fremgangsmåde ikke blot i en Mængde Tilfælde er uanvendelig, men altid er langt besværligere, end den af Koch indførte Sterilisation ved Hjælp af *strømmende Vanddampe*, så benyttes denne nu som Hoved-methode, når man ønsker at sterilisere ved 100°. Man opnår ved *Dampsterilisation* to store Fordele; for det første *trænger* Varmen særdeles *hurtigt ind* i Dybden af de Gjenstande, der skulle steriliseres; for det andet virker Vanddamp af 100° Varme — rimeligvis ad kemisk Vej — *langt hurtigere dræbende* end atmosfærisk Luft af samme eller endog meget højere Temperatur.

Den halvschematiske Fig. 3 viser det Kochske Dampsterilisationsapparat i en simpel og billig Form [i $\frac{1}{5}$ af den naturlige Størrelse]*). Det består af en Blikcylinder, der er 50 Ctm. høj, 17 Ctm. i Diameter og er forsynet med et lille Vandstandsror *a* (befæstet ved Kautschukslanger). Bunden, der skal udsættes for Indvirkningen af stærke Flamme, må helst være af noget tykkere Blik end Sidevæggene. Foroven lukkes Apparatet med et kegleformet Låg (*b*), i hvis Toppunkt findes et kort Rør (*c*), bestemt til at optage et Thermometer. Låget og det øverste Afsnit af Sidevæggene indtil 9 Ctm. fra Bunden beklædes med Filt — dog er dette ej nødvendigt. — På Indsiden af Cylinderen findes henholdsvis i 14 og 30 Ctm. Afstand fra Bunden tre fremspringende Knaster, som kunne bære to løse, stærkt gjennehullede Blikplader (*dd*), på disse

*) Såvel den absolute Størrelse som Forholdet mellem Højde og Diameter kan selvfølgelig varieres indenfor vide Grændser. Ligeledes må Afstanden mellem Hylderne afpasses efter Højden af de Kulturapparater og andre Gjenstande, der skulle dampsteriliseres.

kunne stilles to cylindriske Blikspande (*ee*) af omtrent 12 Ctm. Højde og omtrent 14 Ctm. Diameter; deres Bund dannes bedst

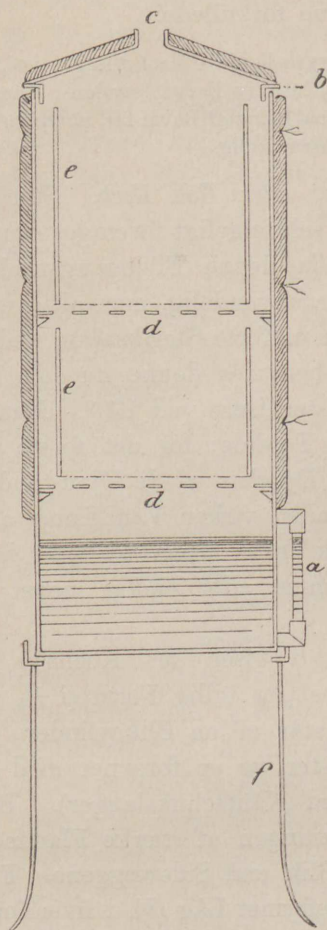


Fig. 3.

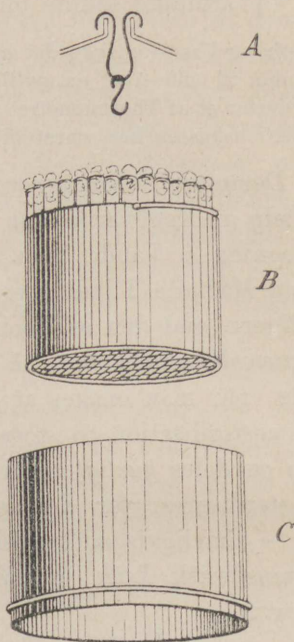


Fig. 4.

Fig. 3. Gennemsnit af et Kochs Dampsterilisationsapparat i dets simpleste Form med 2 Blikplader og Blikspande.

Fig. 4 A. Bøjet Messingtraad anbragt i Sterilisationsapparatets øverste Åbning til Ophængning af lange Gjenstande.

B. Blikspand med Bund af Jærntvist, fyldt med vatlukkede Reagensglas.

C. Blikcylinder til Forlængelse af Apparatet.

af stormasket galvaniseret Jærntvist (se Fig. 4 B), og i dem stilles de Sager, der skulle dampsteriliseres (på Fig. 4 f. Ex. vatlukkede Reagensglas).

Før Brugen udtages Spandene og Blikpladerne, og der hældes Vand i Cylinderen til en Højde af omtrent 10 Ctm.; når Spandene og deres Indhold atter er sat ind, og Låget med Thermometret er påsat, bringes Vandet i Kog. Efter nogen Tids Forløb vil Dampene i rigelig Mængde strømme ud langs Lågets Rand; snart vil også Thermometret vise 100° , og alt efter Omstændighederne kan man nu lade Sagerne være kortere eller længere Tid udsatte for de strømmende Damp. *Tiden beregnes fra det Øjeblik, Thermometret viser 100° .* De fleste Sager, som der bliver Anledning til at dampsterilisere, kunne uden Vanskelighed henstilles på Blikpladerne. Længere Gjenstande kunne *ophænges* i Apparatet, efter at Kurve og Plader ere fjærned. Ophængningen sker simplest ved Hjælp af en *tyk Messingtråd*, der bøjes og anbringes i Låget, som Tegningen (Fig. 4 A) viser.

Eventuelt kan Apparatet *forlænges* ved Hjælp af et Blikrør, der er forsynet med en fremspringende Krave (se Fig. 4 C) og kan indskydes mellem Låget og Cylinderens øverste Rand. En Afløbshane nær Bunden fordyrer Apparatet noget, men gør det også bekvemmere at bruge.

De *Socleth'ske* Apparater til Kogning af Mælk lade sig naturligvis fortræffeligt benytte som Sterilisationsapparater ved bakteriologiske Arbejder, og da de på Grund af deres udstrakte Anvendelse kunne leveres til en overordentlig billig Pris, tilmed i Forbindelse med en Del andre Sager (Måleglas, Tragt, Flaskerenser o. s. v.), der også kunne finde Anvendelse i Laboratoriet, svarer det i Almindelighed Regning at anskaffe et sådant.

Forøvrigt kan man let indrette enhver Gryde til et Damp-Sterilisationsapparat. Man behøver blot ovenpå den at anbringe en efter Grydens Diameter afpasset og forneden åben Blikeylinder med Låg og Filtbeklædning. Den må desuden i et Par Ctm. Afstand fra sin nederste fri Rand være forsynet med en fremstående Krave, som kan hvile på Grydens Rand, og helst tillige med et Par Øskener, som gør det muligt at fastbinde Cylinderen til Grydens Hanke.

Det er forlængst godtgjort, at der findes Bacillussporer, der kunne overleve selv flere Timers Kogning i Vand eller Vanddamp, medens de dræbes efter få Minutters Opvarmning til 120° i Papins Gryde, og følgelig er *Autoklaven det eneste Apparat, i hvilket man kan dampsterilisere på én gang hurtigt og sikkert.* Den er imidlertid et meget dyrt Apparat, som det for mange vil være vanskeligt at råde over. Kochs ovenfor beskrevne Dampsterilisations-Cylinder er derimod yderst simpel, billig og desuden erfaringsmæssigt tilstrækkelig, *når den benyttes med Omhu og Forsigtighed.* Sagen er nemlig den, at de Bacillussporer, der fra Vandet, Luften o. s. v. altid indføres i vore Dyrkningssubstrater, i Almindelighed ikke ere så

sejglivede som de ovenfor omtalte; i Reglen ville tvertimod de strømmende Vanddampe af 100° Varme gjøre det af med dem, og Erfaringen fra en stor Række bakteriologiske Laboratorier har forlængst godkendt det Kochske Apparats Brugbarhed i det langt overvejende Antal Tilfælde. Under disse Omstændigheder ville i det Følgende alle Anvisninger til Dampsterilisation blive givne under den Forudsætning, at kun et Koch'sk Apparat haves til Rådighed, men på sine Steder vil dog den store Sikkerhed,* Simplifikation og Tidsbesparelse, som Autoklaven muliggjør, blive udtrykkeligt fremhævet. — Når man steriliserer på den mere ufuldkomne Måde ved strømmende Vanddampe af 100°, bør man altid have Opmærksomheden henvendt på *Muligheden* af, at en *særligt sejglivet* Form kan være undsluppen Tilintetgjørelsen i de strømmende Dampe, og *sikre* sig absolut kimfri Næringssubstrater ved:

a) *Renlighed* under Tilberedelsen: Man bør ikke udelukkende stole på den *endelige Sterilisation* af Næringssubstraterne, men på ethvert Trin af Fabrikationen arbejde *renligt* for at formindske Chancerne for Indtrængen af sejglivede Kim.

b) „*Afbrudt Opvarmning*“ (discontinuous heating). Denne Methode blev først anvendt af Tyndall (1877) til Sterilisation af Høinfus, der som bekendt indeholder nogle af de mest resistente *Bacillus-Sporer*, hvis overordentlige Sejglivethed gjorde det umuligt at sterilisere Høinfuset selv ved Kogning i nogle Minutter (se nedenfor Kap. IV, A 2), og Tyndall lededes nu til sin Sterilisationsmethode gennem følgende Tankegang: Når et Høinfus har været kogt i nogle Minutter, ere alle *stavformede* Baciller, som ikke kunne tåle denne Behandling, dræbte, medens *Bacillus-Sporerne* (nøjagtigere: en Del af dem) endnu ere i Live; giver man nu alle disse overlevende Sporer Tid til at *vox*e ud til *Stave* og koger så Infuset på ny, vil det blive fuldstændigt steriliseret; thi da det bragtes i Kog, fandtes der jo ingen Sporer, men kun Stave i det; da man imidlertid ikke kan gjøre Regning på, at alle Sporer ere voxede ud til Stave just på samme Tid, må den beskrevne Proces helst *gentages oftere*. Derfor anbefales det nedenfor at dampkoge de fyldte Kulturapparater *to* eller *tre* Gange med en Dags Mellemrum; navnlig er dette af Betydning for de Næringssubstrater, der — som Gelatinerne — kun tåle kortvarig Kogning.

c) *Henstand og Iagttagelse*. Til yderligere Sikkerhed lader man de således behandlede Kulturapparater henstå nogen Tid, inden man tager dem i Brug, for at overbevise sig om, at der intet Spiredygtigt findes i dem. Når de henstå i Thermostat ved c. 35°, kan en Iagttagelsestid af 2—3 Dage i Almindelighed anses for tilstrækkelig.

3). Som sagt: På éngang hurtigt og sikkert dampsteriliserer man kun i *Autoklaven*. En fortrinlig Model er den af Chamberland angivne*) (Fig. 5), der består af en cylindrisk Kobberkedel (f), hvis svære Broncelåg bærer et Manometer (c),

*) Fås hos Wiesnegg i fire Størrelser (12, 20, 25, 35 Ctm. indv. Mål) for henholdsvis 120, 200, 280 og 300 frcs.

en Sikkerhedsventil (*a*) og en Hane (*b*); Låget hviler på en Kautschukring (*d*) og kan ved Hjælp af 10 Bolte (*e*) presses lufttæt ned mod Randen af Kjedlen. Denne bæres af en Jærncylinder (*g*) og opvarmes ved Hjælp af to Gaskrandse (*i i*). De Gjenstande, der skulle steriliseres anbringes i en trebenet Jærntrådscurv (*h*), der

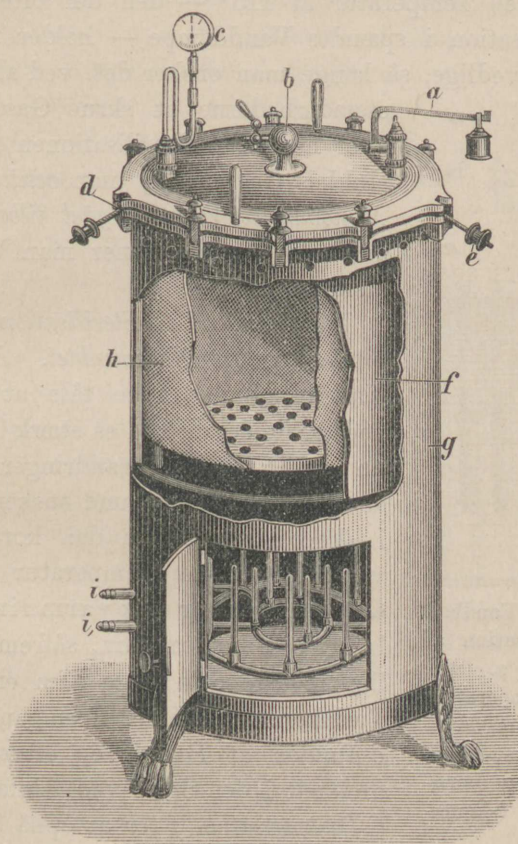


Fig. 5.
Autoklave.

stilles på Kobberkjedlens Bund. Fremgangsmåden ved Autoklavens Anvendelse er følgende: I Kjedlen hældes 1 à 2 Potter Vand, alt efter dens Størrelse; Jærntrådskurven med de Gjenstande, der skulle steriliseres, anbringes i Kjedlen; Låget skrues fast, idet man passer på stadigt at skrue to modstående Bolte til samtidigt; Hanen *b* åbnes; Gassen tændes. Når

Vandet er kommet i Kog, lader man Dampen strømme ud gennem Hanen så længe, at man kan være sikker på, at al atmosfærisk Luft er uddreven af Kjældens Indre, hvilket altid vil vare flere Minutter*); først da lukkes Hanen, og Manometrets Viser begynder at stige. Når den har nået en Højde, der svarer til en Temperatur af 115° — den der oftest benyttes ved Sterilisation i spændte Vanddampe — holder man denne Spænding vedlige, så længe man ønsker det, ved alt efter Om-

stændighederne at skruer Gassen lidt op eller ned. Når Sterilisationen er fuldendt, slukkes Gassen, og man venter nu, indtil Manometrets Viser er gået tilbage til Nulpunktet; først da åbner man Ventilen og afskruer Laaget.

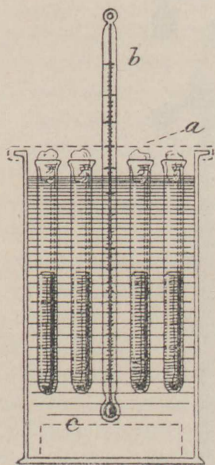


Fig. 6. Vandbad (til Sterilisation af Serum o. a. ved lavere Temperatur) med serumfyldte Reagensglas, Thermometer og Jærntvistplade (skematisk).

4. Vandbad til Sterilisation ved Varmegrader under Kogepunktet. Forskjellige Vædske kunne ikke tåle at steriliseres ved 100° , da de ved så stærk Opvarmning undergå kemiske Forandringer, som man af en eller anden Grund ønsker at undgå; i slige Tilfælde kan den kortvarige Opvarmning til høj Temperatur erstattes af en langvarig Opvarmning til en lavere Temperatur, såfremt ikke særligt modstandskraftige Kim ere tilstede i Vædskerne. Denne Fremgangsmåde er opfundet af Pasteur og efter hans Råd anvendt i det Store ved Vinfabrikationen („Pasteurisation“) for at opnå Sterilisation af Vinene, uden at samtidigt deres Smag

lides. Vi ville i det Følgende få Anvendelse for den ved Tilberedelsen af Blodserum efter Kochs Angivelse. Der benyttes ofte hertil temmelig komplicerede og kostbare Apparater (W. Nr. 1309 og 367. R. Nr. 96—103) imidlertid kan man godt hjælpe sig med et simpelt cylindrisk Vandbad af Blik, hvilket også Koch

*) I modsat Fald vil man ikke fra Trykmålerens Angivelser kunne slutte til Temperaturens Højde.

anvendte ved sine første Præparationer. Den Fig. 6 afbildede Blikbeholder er 22 Ctm. høj, 13 Ctm. i Diameter, og dens øverste Åbning er forsynet med en $1\frac{1}{2}$ Ctm. bred Krave; et Stykke tætmasket, bøjeligt, galvaniseret Jærntvist (*a*), som fixeres derved, at dets Rand bøjes ned omkring Beholderens Krave, gjør Tjeneste som Låg. Vandets Temperatur aflæses på et Thermometer (*b*), som rager op gennem et Hul i Jærntvisten; Thermometrets Kugle holdes i nogle Centimeters Afstand fra Cylinderens Bund ved Hjælp af et andet løst Stykke Jærntvist (*c*) med ombøjede Rande. Har Vandet nået en passende Temperatur, i Almindelighed 60—70°, er det let ved Hjælp af en lille Gas- eller Spritflamme at holde det på omtrent samme Varmegrad i lang Tid, f. Ex. et Par Timer; skjøndt et Spillerum af nogle få Grader som oftest kan tillades, bør man dog stadigt holde Øje med Temperaturen. Bedre er det naturligvis at indskyde en *Regulator* i Gasledningen; man kan da roligt overlade Apparatet til sig selv i timevis (se iøvrigt nedenfor i Kapitel VI.)

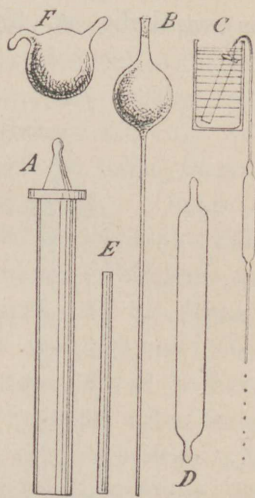


Fig. 7.

Fig. 7. A. Et Chamberlands Filter i $\frac{1}{6}$ nat. Stør. B. Kuglepipette til Opsamling af Filtrets Indhold. C. og D., se Texten. E. Lille Porcellainsfilter i $\frac{1}{6}$ nat. Størrelse. F. Forlag, der tillige kan benyttes som Kulturkolbe.

5) *Porcellains-Filter*. Selv en svag Opvarmning fremkalder ofte i Næringsvædsken kemiske Forandringer, som det kan være af Vigtighed at undgå; man har i slige Tilfælde fjærnet Kimene ved *Filtration gennem brændt Ler* (Klebs), *Gips* (Pasteur, Miquel), *Porcelain* (Chamberland), *Asbestpap* (Hesse), *Infusoriejord* (Berkefeld), der tilbageholder alle de i Vædsken opslemmede korpuskulære Elementer. Da Filtrationen desuden spiller en stor Rolle som Middel til at adskille *Bakterier fra deres opløselige Stofskifteprodukter*, skulle vi her dvæle noget udførligere ved Brugen af

Chamberlands Filter. Den større og almindeligt benyttede Model består af en hul Porcellains-Cylinder (Fig. 7. A.), der

nedad til er lukket og oventil er forsynet med et tragtformet, glaceret Endestykke, over hvilket en Kautschukslange kan skydes ned. Filtret sænkes ned i den Vædske, man ønsker at sterilisere, og den øverste åbne Ende sættes i Forbindelse med et eller andet *Sugeapparat*. Er den Vædske, der skal filtreres, for stor til at rummes i Filtrets Hulhed, indskydes der mellem Sugeapparat og Filter et *Forlag*, hvortil man kan benytte en almindelig *Sprøjteflaske*, og når Vædsken, ikke er for vanskelig at filtrere, kan man som Sugeapparat be-

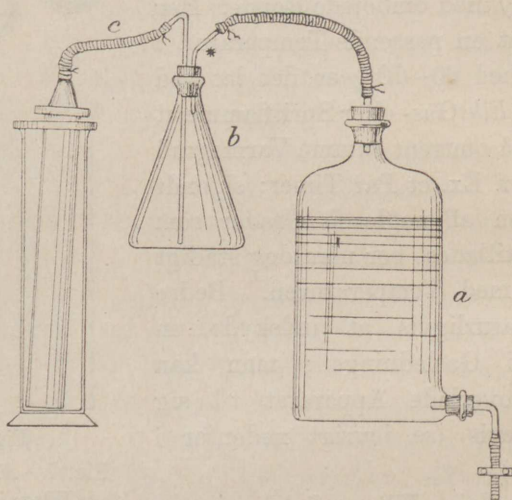


Fig. 8.

Et Chamberlands Filter, forbundet med Forlag (en konisk Kogeflaske) og Aspirator.

nytte en simpel *Flaskeaspirator* (se Fig. 8 a). Fremgangsmåden bliver da i sine Enkeltheder følgende:

Først *prøves* Filtret; man overbeviser sig på følgende Måde om, at det er frit for selv den mindste, usynlige Revne: Dets åbne Ende sættes ved en Kautschukslange i Forbindelse med et Ballon-Blæseapparat af den Art, der almindeligt benyttes til Sprayer; derpå sænkes Filtret ned i et Cylinderglas med Vand, og ved Gnidning med Fingrene fjerner man den Lufthinde, der findes på dets Overflade. Når man nu ved Hjælp af Ballonen presser Luft gennem Filtret, må denne *intetsteds i synlige*

Blærer boble op fra Filtrets Væg; finder dette Sted, har Filtret en Revne og må kasseres. — Viser Filtret sig helt, tørres det først i Luft n, eventuelt ved svag Opvarmning; derpå forsynes det med en Vatprop i sin åbne Ende, indsvøbes i Papir og steriliseres ved 150° ; Sprøjteflaskens to Glasrør forsynes ligeledes med Vatpropper i deres åbne Ender, indsvøbes omhyggeligt i Papir og steriliseres sammen med Filtret; den med Vatprop lukkede Sprøjteflaske ligeså.

Sprøjteflaskens dobbelt gjennemborede *Kautschuk-Prop* og de 2 Stykker *tykvæggede Kautschukslanger*, der skulle forbinde Forlaget med Filtret og med Aspiratoren, må steriliseres på anden Måde: De henlægges først et Kvarters Tid i 0,1 pCt. Sublimatvand, afskylles i steriliseret destilleret Vand, forsynes med Tamponer af tørsteriliseret Vat, indsvøbes i Papir og dampkoges i $\frac{1}{4}$ Time. Når dette er sket, sammenføjes Filter og Forlag så *hurtigt og rent* (sublimatvadskede Fingre!) som muligt: Glasrørene sættes i Kautschukproppen og denne i Sprøjteflasken, efterat Vatpropperne ere fjærned med steril Pincet; Sprøjteflaskens lange Rør sættes dernæst ved en Kautschukslange i Forbindelse med Filtret, ligeledes efter forudgaaende Fjærnelse af Vatpropperne; af alle Propperne lader man kun den ved * (Fig. 8) anbragte blive på sin Plads. Det således *sammenføjede* Apparat bliver *endeligt dampkogt i 10 Minutter* og kan nu tages i Brug. For Sikkerheds Skyld bor man dog til allersidst (*efter Dampsterilisationen*) helst surre Slangerne fast om Filter og Glasrør ved Hjælp af Seglgarn, Kautschukbånd eller endnu bedre ved Hjælp af *glødet* grov Messingtråd, der snoes stramt til med en Niptang.

Hvis man har en *Autoklave* til sin Rådighed, kan man spare sig hele den foreløbige Sterilisation samt undgå den *hastige og forsigtige* Sammenføjning af Apparatet: Man kan uden særlige Forsigtighedsregler sammenføje de enkelte Glas- og Kautschukdele og derpå i Løbet af 5–10 Minutter dampsterilisere ved 120° .

Figur 7 viser Apparatet i Virksomhed: Filtret er ned-sænket i et *forholdsvis snævert* Cylinderglas, som indeholder den Vædske, der skal filtreres; *alt eftersom Vædsken synker i Glasset*, hælder man *ny* på for at udnytte hele den filtrerende Flade og undgå Indsugning af Luft, der jo forøvrigt også

steriliseres under Passagen gennem Filtrets Væg. Tilbagebobling af Luft gennem Aspiratoren og dermed følgende Standsning af Filtrationen undgår man, når Afløbsrørets Vidde på passende Måde reguleres ved Hjælp af en Klemmehane (se Fig. 7).

Er Sprøjteflasken (*b*) fyldt med det klare Filtrat, løsnes den først fra Aspiratoren, derpå klemmes Røret *c* fast sammen ved Hjælp af en Klemmeskrue eller en lille Glasstang, der lægges udenpå Røret og surres fast mod dette med Seglgarn; først da kan man uden Fare for Infektion løsne Flasken fra Filtret og opbevare dens Indhold i steril Tilstand. Den ikke ringe Mængde Filtrat, der rummes *i selve Filtrets Hulhed*; kan man redde fra Forurensning ved at tømme det over i en eller flere sterile Beholdere (f. Ex. Kulturapparater), umiddelbart efter at Filtret er åbnet; det sker bedst ved Hjælp af en Kuglepipette, som den Fig. 7 *B* afbildede, hvis øverste Ende er lukket med en Vatprop, medens dens nedadvendende Rør er langt nok til at nå Filtrets Bund og snævert nok til at passere dets Åbning; før Brugen bliver den tilsmeltet, steriliseret og flammerenset ganske som en almindelig „*Pasteurs Pipette*“ (se Kap. V.), af hvilken den jo kun er en forstørret Udgave.

Den her beskrevne simple Fremgangsmåde, ved hvilken der ikke kommer andre Apparater til Anvendelse end sådanne, som ere til Rede i ethvert Laboratorium, lader sig fortræffeligt anvende, når man *ikke* har med *vanskeligt* filtrerende Vædsker at gjøre; i modsat Tilfælde, eller når Filtrationen skal foregå *hurtigt*, strækker den simple Flaske-Aspirator ikke til; man må anvende *kraftigere Sugemidler*. Også den simple Sprøjteflaske kan erstattes af *hensigtsmæssigere Forlag*; særligt bør det erindres, at man, når Filtration går vanskeligt for sig under Anvendelse af kraftigt virkende Luftpumper, må sørge for, at Forlagets Vægge ere tilstrækkeligt stærke til at tåle Lufttrykket, og man bør anvende en *kuglerund og tykvægget Kolbe* istedetfor den mere tyndvæggede Sprøjteflaske; under slige Forhold kan man også nødes til at afstive Kautschukslangerne med indlagte Blyrør*).

*) Ved hyppigt gentagen Dampkogning blive selv tykvæggede Kautschukrør for bløde til at kunne benyttes.

Der er iøvrigt til Filtration ved Hjælp af Chamberlands Filtre blevet angivet en ganske overordentlig stor Mængde forskellige Fremgangsmåder og Apparater, ved Hjælp af hvilke Bakteriekulturerne kunne *trykkes* eller *suges* gennem de Chamberlandske Bougier, enten udenfra indefter eller indenfra udefter. Af disse skulle nogle enkelte her finde Omtale:

a) Chamberland selv anbefaler nu det Fig. 9 afbildede „nouveau filtre simple“, ved hvilket en lille Håndluftpumpe (af samme Art som de på de Potainske Thoracenthese-Apparater anbragte) benyttes som Aspirator, medens Forlaget er en med Siderør forsynet såkaldet „Pasteursk Sprøjteflaske“, hvis An-

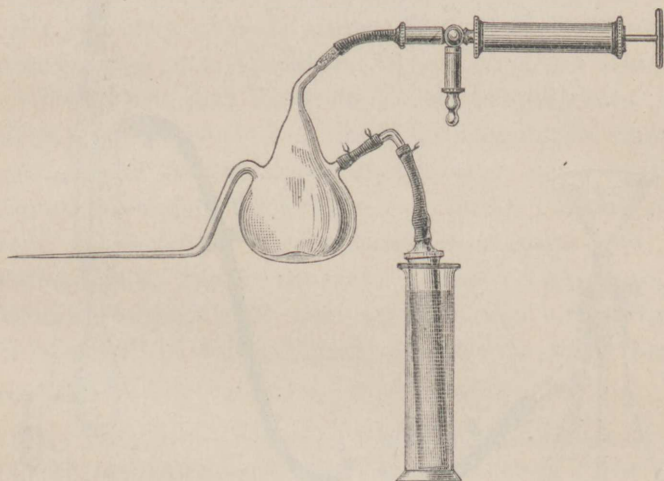


Fig. 9.

Chamberlands „nouveau filtre simple“.

vendelse i et senere Kapitel vil blive nærmere beskrevet. Hvorledes Apparatet steriliseres, sammenføjes og benyttes vil iøvrigt fremgå af det ovenfor sagte samt af Afbildningen.

b) Som *Sugemiddel* benytter man i Laboratorierne hyppigt de små og billige Glas- eller Metal-Vandluftpumper, der letteligen kunne anbringes på enhver Vand-Skruehane. En fortrinlig Model er f. Ex. *Alvergniat's* „modèle d'élève“ (Fig. 10a). Den anbringes ved Hjælp af en tyk Kautschukslange, som yderligere fastsures ved glødet Messingtråd på Skruehanen *b*; et andet tykt Kautschukrør forbinder Siderøret *c* med Glasrøret *d*, der

er anbragt i en Kautschukprop i en trehalset Flaske, hvis anden Hals ligeledes bærer en af et Glasrør gennem-boret Prop, medens den tredje kan lukkes hermetisk ved Proppen *e*; på Slangen er anbragt en Skrue-Klemmehane (*f*). Filtret med eller uden Forlag anbringes på ovenfor angiven Måde på Slangen *g*. Hanen *b* åbnes langsomt og forsigtigt

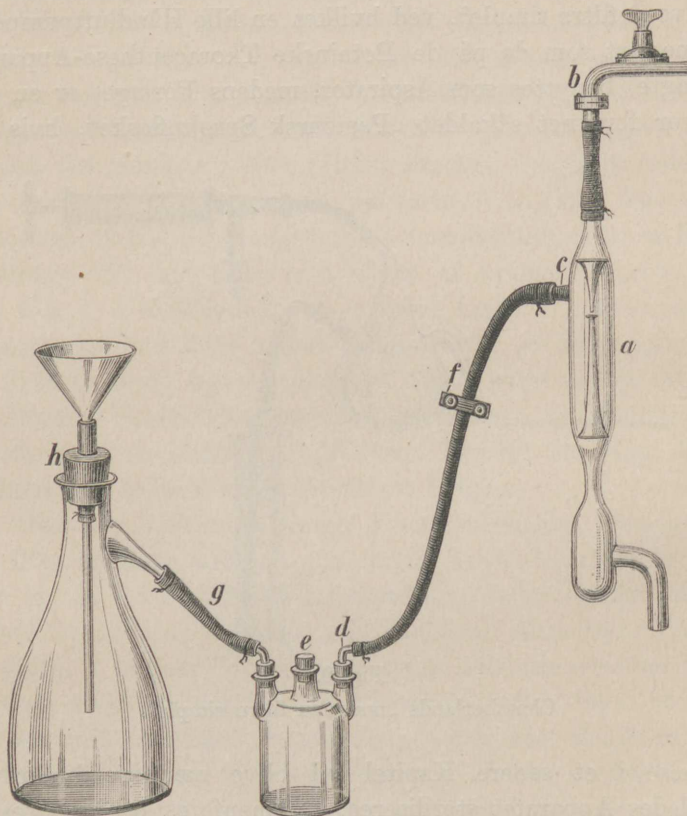


Fig. 10.

og ikke højere end nødvendigt for at få en tydelig Gjennem-sugning i Gang.

På Billedet ses Vandluftpumpen sat i Forbindelse med et meget hyppigt benyttet Filtrationsapparat, der er konstrueret af *Kitasato*, og som i Virkeligheden kun er en noget simplificeret Udgave af det i tidligere Tid af *Pasteur* angivne Filter.

Gjennem den perforerede Kautschukprop *h* trækkes et Stykke Kautschukslange, der er så langt, at det rager omtrent en Centimeter frem over hver af Proppens to plane Flader; ind i Rørets to Ender skydes nu henholdsvis en Tragt og et af de små tykvæggede Chamberland-Filtre (15 Ctm. lange, 2^{mm} vidt Lumen, se Fig. 7 E), således at de støde mod hinanden omtrent midt i Proppen. Slangen surres fast om Filtret ved Hjælp af en Kautschuk- eller Messingtråd, og Proppen anbringes nu i den meget tykvæggede, med Siderør forsynede koniske Flaske. Tragt, Slange, Prop og Flaskehals må danne et hermetisk sluttende Lukke over Flasken; til yderligere Sikkerhed kan man oversmelte Proppen med *Parafin*. — Sterilisationen af Apparatet foretages efter de samme Regler som S. 13 angivet, alt eftersom man har Autoklave til sin Rådighed eller ej; i sidste Tilfælde må altså Filter og Flaske tørsteriliseres, Kautschukdelene steriliseres ved Sublimat og Kogning før Sammenføjningen, og det fuldstændige Apparat atter dampsteriliseres efter Sammenføjningen før Brugen — i første Tilfælde slipper man med at sterilisere det *sammenføjede* Apparat ved 120°. Den Vædske, man ønsker filtreret, hældes i Tragten, og når Sugningen er begyndt, vil man snart se den kimfri Vædske ligesom sive ud af Filtervæggen og dråbevis falde ned på Flaskens Bund.

c) Et nu kun lidet benyttet og ret kostbart Filtrations-Apparat er *det oprindelige Chamberlandske*, ved hvilket en Gay Lussac's Pumpe driver Bakteriekulturen gennem Filtervæggen udenfra indefter (W. Fig. 82); det er undværligt, men yder udmærkede Tjenester, når man skal filtrere store Vædskemængder.

Efter Brugen *renses* det Chamberlandske Filter alt efter Omstændighederne simpelthen ved *Børstning* af Overfladen og Afskylning i Vand eller tillige ved kemiske Rensningsmidler, f. Ex. efter Filtration af pathogene Bakteriekulturer med *Desinficientia*, efter Filtration af jernholdigt Vand med Saltsyre o. s. v. — Undertiden kan det desuden være ønskeligt eller nødvendigt at *gjennemskylle* dets Porer grundigt med Vand, førend det tørres og steriliseres påny; det kan nemt gøres på følgende Måde (se Fig. 7 C): Filtret fyldes med Vand og nedsænkes i en stor Vandbeholder, der stilles meget højt,

f. Ex. på en Kakkelovn; over dets åbne Endestykke anbringes nu på sædvanlig Måde en flere Alen lang Kautschukslange, i hvis Forløb der er indskudt en vandfyldt Glasbeholder af den Fig. 7 D afbildede Form. Før Sammenføjningen fyldes foruden Filtret også Slange og Beholder med Vand. — Når et Porcellainsfilter har været benyttet hyppigt eller længe til Filtration af bakterieholdige Vædske, bliver det overtrukket med et mere eller mindre fastsiddende Lag af organisk Substant, som forstopper dets Porer og gør Filtrationen vanskelig eller umulig; for atter at gøre det brugbart fjærner man først ved Vadsugning og Børstning så meget som muligt af Urenhederne, lader Filtret *tørre fuldstændigt* og opvarmer det zonevis til *Glødning* i en Bunsen-Brænder; efter Afkølingen har Filtret gjenvundet sin hvide Farve. Faren for at Filtret skal slå Revner under Rensningen i Flammen, undgår man ved de sædvanlige Forsigtighedsregler: Omhyggelig Tørring, *langsom* Opvarmning, jævn og stadig *Omdrejning* i Flammen (man fatter det emailleerede Parti med den ene Hånd, som stadigt roterer Filtret, medens dets lukkede Ende støttes med en Metalstang) o. s. v.

Det må imidlertid erindres, at man *heller ikke ved Filtration gennem Porcelain altid undgår at fremkalde kemiske Forandringer af Vædskerne*; thi Porcelainet kan foruden Kimene tilbageholde forskellige kemiske Forbindelser (f. Ex. Albuminstoffer, Enzymer, Urinstof). Vil man derfor have sine organiske Næringsvædske *absolut uforandrede* og dog kimfri, nødes man til *helt at undgå enhver Sterilisationsproces* og opsamle eller *tilberede* dem med sådanne Forsigtighedsregler, at al Forurensning fra Omgivelsernes Side undgås, at de ere *oprindeligt kimfri* (urkimfri, ursterile): Blod og Urin f. Ex. opsamles direkte fra Hjærtet, Aaren eller Urinblæren under antiseptiske Kauteler; se herom nedenfor i Kapitel XI, hvor også Tilberedningen af *oprindeligt kimfri Infuser* vil blive korteligt omtalt.

6) *Kemisk virkende Sterilisationsmidler.*

Undertiden er det nødvendigt eller hensigtsmæssigt at foretage Sterilisationen af mikroholdige Vædske og Væv ved Tilsætning af *bakteriedræbende Gifte*, som atter kunne fjærnes

fuldstændigt eller næsten fuldstændigt, og som aldeles ikke påvirke de let destruktible bakterielle Stofskifteprodukter, man ønsker at bevare. Således have *Roux* og *Christmas* omtrent samtidigt anbefalet Tilsætning af ætheriske Olier (*Eucalyptus*-olie, *Nellikeolie*, *Sennepsolie*) til bakterieholdige Vævs-Extrakter eller til Kulturer for af dem at fremstille *vaccinerende Stoffer*, og *Pfeiffer* har forskaffet sig en bakteriefri *Koleragift* ved at behandle Spirilkulturene med *Chloroform* eller *Thymol*.

I de Tilfælde, i hvilke man af en eller anden Grund ikke *fuldstændigt* kan fjerne ethvert Spor af det anvendte Sterilisationsmiddel, må man naturligvis ved Kontrolforsøg overbevise sig om, at de tilbageblevne Spor ere uden Betydning for de omspurgte Forsøgsresultater. Exempelvis beskrives her:

1. *Fremstillingen af Miltbrandsvaccinen ved Hjælp af Eucalyptusolie* (*Christmas*): På en Kanin, der er død af Miltbrand, udtages så hurtigt som muligt efter Døden Lever, Hjærte, Lunger, Nyrer og Milt; de hakkes fint, overhældes med 100 Cc. destilleret Vand og henstilles 24 Timer i Is-skab; man filtrerer gennem Papir eller et fint Metalnet, tilsætter under kraftig Omrystning 10 Cc. ren *Eucalyptusolie*, og lader nu Blandingen henstå, indtil Såning fra Vædsken i Bouillon ikke giver Væxt; nu kan det på Overfladen svømmende Olielag fjærnnes ved Filtration, og Filtratet indeholder de vaccinerende Stoffer.

Roux tilråder at påskynde Fjærnelsen af den ætheriske Olie ved Hjælp af Luftpumpen.

2. *Fremstilling af en Koleragift ved Hjælp af Chloroform* (*Pfeiffer*): En ringe Mængde Kolaspiriller, som ere friskt dyrkede på Overfladen af Kjødvands-Pepton-Agar, afskrabes og udrives med lidt steril Bouillon, en Dråbe *Chloroform* tilsættes, man ryster et Minut, lader *Chloroformen* afsætte sig, og hælder forsigtigt den ovenstaaende Bouillon over i en flad Skål, hvor de sidste Spor af *Chloroform* dampe bort.

Det følger af sig selv, at man under det bakteriologiske Arbejde altid bør have tilrede

Sublimatvand (1 å 2 pro mille), der kommer til Anvendelse ikke blot ved Tilberedningen af enkelte Næringssubstrater (*Kartofler*, se ndf.), men ved en Mængde andre Lejligheder, såsom ved Rensning af Instrumenter, Hænder, Kadaverdele o. s. v. Når man ved Tilberedning af *Sublimatvand* ikke benytter destilleret Vand men *Brøndvand*, kan man for at undgå Udfældningen af uopløselige Kviksølvsalte, tilsætte *Brøndvandet*

en ringe Mængde Eddikesyre — efter Fürbringer $\frac{1}{2}$ Gmm. til 1 Liter 1 pro mille Sublimatvand.

Også *Karbolsyreopløsninger* af forskjellig Styrke bør altid have i Beredskab.

KAPITEL II.

De almindelige Dyrkningsapparater.

De Hovedfordringer, der maa stilles til et Kulturapparat, i hvilket man bekvent og sikkert skal kunne foretage Rendyrkninger, ere følgende: Foruden at være holdbart, simpelt, handeligt, prisbilligt, ikke for omfangsrigt, må det være let at sterilisere med samt sit Indhold og end videre kunne åbnes, tilsås og atter lukkes uden synderlig Fare for at forurenses af Kim fra Luften; ligeledes maa det — for *aërobe* Formers Vedkommende — være *lukket* på en sådan Måde, at Indtrængen af fremmede Kim er umuliggjort, samtidigt med at Luft(ilt)tilførselen er rigelig; dette opnår man ved Anvendelsen af *Vat**), der tillader et tilstrækkeligt livligt Luftskifte, medens det paa samme Tid frafiltrerer alle Atmosfærens Kim. Har man med *Anaërobionter* at gjøre, må Dyrkningsapparaterne være beskyttede både mod de fremmede Kims og den atmosfæriske Lufts Indtrængen; *sikkrest* opnås dette ved *Tilsmeltning*; se iøvrigt Kap. VIII.

Dyrkningsapparater, der kunne anbefales, når det kun gjælder om simpelt hen at *vedligeholde en Renkultur*, ere følgende:

1) Reagensglas og Flasker med simpel Vatprop.

Man kan benytte almindelige

a) **Reagensglas** af en hvilken som helst Størrelse; Anvendelsen af *mindre* Glas (f. Ex. 13 Ctm. høje og 1 Ctm. vide) er

*) Undtagelsesvis anvendes *Asbest* eller *Glasuld* i samme Hensigt.

at anbefale; man sparer derved en betydelig Mængde Nærings-substrat. Da Kogningen af Kulturglassenes Indhold i Reglen foretages i Dampsterilisationsapparater og ikke over fri Flamme, behøver de ej at have så tynd en Væg som de til kemisk Brug benyttede Reagensglas; man gjør derfor rettest i for den større Holdbarheds Skyld at lade sig blæse særligt *tykvæggede* Reagensglas — *helst uden Krave*, da Vatpropperne så slutter tættere til Randen.

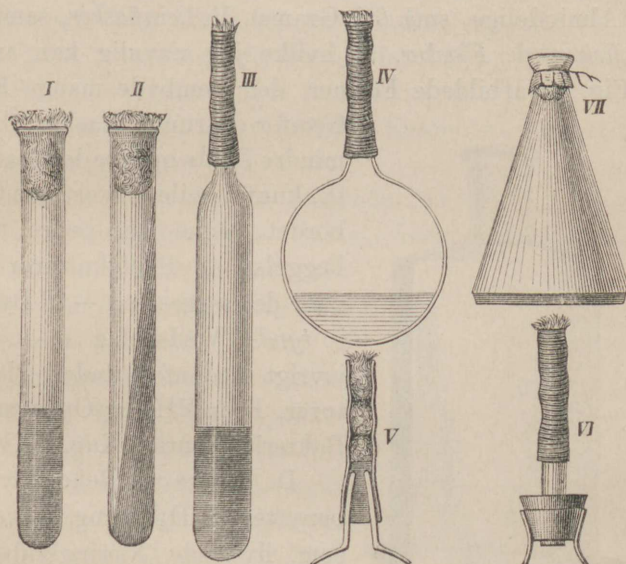


Fig. 11.

Forskjellige Dyrkningsapparater med simpel (I, II, VII) og rørformet (III—VI) Vatlås; fyldte med fast eller flydende (III—IV) Næringssubstrat.

Reagensglassene renses først omhyggeligt med Saltsyre, almindeligt og destilleret Vand og forsynes derpå med Vatprop på følgende Måde:

Fint Vat (*ikke* hygroskopisk!) formes med Fingrene til en lille tyk Plade, der lægges hen over Reagensglassets Åbning og nu trykkes ned i denne med en Pincet eller en Glasstang, således at det danner en fast, tæt sluttende Prop, der rager et Par Ctm. ned i Glasset, medens en Del af den staar en Smule op over Randen og flosses let ud over denne; Proppen må vel være

fast og tætsluttende, men dog uden stor Vanskelighed kunne fjærnnes og atter indsættes. Naar Reagensglassene ere forsynede med Vatpropper, opstilles de i en lille *firkantet Kurv af Jærntvist* og tørsteriliseres ved 150° i Løbet af $1\frac{1}{2}$ Time.

b) **Flasker** ere ofte at foretrække som Kulturapparater fremfor Reagensglas; de trænge ej til Stativ, og man kan i dem råde over en *større Overflade* til Såning end den, der kan tilvejebringes i et Reagensglas, selv når det lægges skråt (s. Fig. 9, II). Brugbare Modeller ere:

1) Almindelige, små (30 Grams) *Medicinflasker*, samt

2) *firkantede Flasker*, af hvilke jeg navnlig kan anbefale de to Fig. 12 afbildede Former, der frembyde mange Fordele

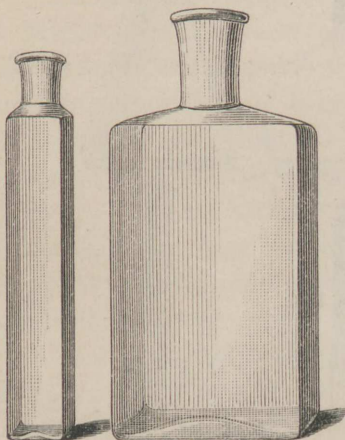


Fig 12. Firkantede Kulturflasker
($\frac{1}{2}$ nat. Størrelse).

fremfor de runde Flasker: De tage mindre Plads op, ere lette at lakke til, kunne hvile sikkert paa Objektbordet, egne sig bedre til Anlæggelse af Pladekulturer og — naar de lægges ned — til Dyrkning i *tynde* Vædske­lag o. s. v. (s. iøvrigt nedenfor under Pladekulturer, Kap. VII, og Opbevaring af Bakteriekulturer, Kap. XIV).

De beskrevne Beholdere kunne benyttes til Dyrkning i såvel faste som flydende Næringssubstrater; en Ulempe ved dem er det selvfølgelig altid, at deres Åbning er forholdsvis stor, så at Proppens Fjærnelse medfører en vis Fare for Forurensning, særligt fra det *Støv*, der har sænket sig ned på Vattet, når Beholderne have henstået nogen Tid. Denne sidste Ulempe kan undgås, når man umiddelbart før Såningen *bortsvider den Del af Vatproppen*, der rager op over Randen.*) Begge de nævnte Forhold have måske mindre Betydning, når man benytter *faste*

*) Er Beholderens Hals særligt vid og Vatproppen altså særligt stor, kan man værgе den fuldstændigt mod Tilstøvning ved at *overbinde den med et dobbelt Lag Filtrérpapir*.

Næringsstoffer og derfor, medens Proppen fjernes, og Såningen foretages, kan vende Glassets eller Kolbens *Bund opad*; noget mere følelige blive de, når Dyrkningsapparatets Indhold er flydende.

Langt større Sikkerhed opnås ved de *rørformede Vatlåse*.

2) Beholdere med rørformet Vatlås.

Rørformede Vatlaase blev først anvendte af Forf. i Form af korte Stykker *Kautschukrør*, i hvis ene Ende nogle små steriliserede *Vattamponer* vare anbragte; Kulturapparaterne, som lukkedes med disse Rørlåse, vare større og mindre kugleformede (eller reagensglasformede) Beholdere, der havde en kort og vid, *let konisk*, med forholdsvis snæver (2—4 mm.) Åbning forsynet Hals, over hvilken Kautschukslangen kunde skydes ned (Fig 11 III—VI).

Rørlaasene tilberedes på følgende Måde: Vat steriliseres ved 150°. Kautschukrør af 6—8 Ctm.s Længde dampsteriliseres indsvøbte i Papir; Rørene må være lidt videre end den øverste og lidt snævrere end den nederste Del af den tilsvarende Beholders koniske Hals. Efter Afkjølingen pakkes Rørene ud, og ved Hjælp af en lille Pincet fyldes de i deres halve Længde med Tamponer af det steriliserede Vat, der må være så store og faste, at de hvælve Rørets Sider svagt frem (se Fig. 11 v).

Fordelene ved Anvendelsen af disse Vatlåse ere iøjnefaldende: a) man har ved Åbning og Lukning intet at gjøre med Vattet og det Støv, som er samlet derpaa. b) Apparatet åbnes og lukkes på et Sted, hvor dets Overflade altid med Lethed kan befries for Støv. c) Åbningen, gennem hvilken der sås, er mindre end på Reagensglassene.

Det samme Princip er senere i en mere hensigtsmæssig Form bragt til Anvendelse på de såkaldte *Pasteurske* eller

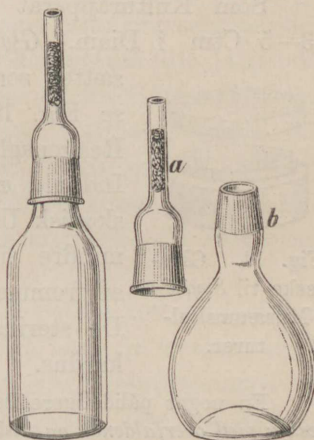


Fig 13.

Pasteur'ske eller Chamberland'ske Kulturflasker.

Chamberlandske Kulturflasker (Fig. 13). Røret er på dem ikke af Kautschuk men af *Glas* og er ved Slibning nøje tilpasset*) til Kolbehalsens Udside (ved *b*); de kunne altså i Modsætning til de ovenfor beskrevne Kolber med Kautschukrørlås steriliseres i deres *Helhed* ved 150° og ville derfor som Regel være at foretrække for hine..

Trods Rørlåsenes forskellige Fortrin fremfor den simple Vatlås lader denne sidste sig dog *som Regel* anvende selv ved Dyrkning i flydende Substrater; særligt god Gavn gjør Kautschukrørlåsene overalt, *hvor et snævert Rør skal* forsynes med en Vatprop, f. Ex. på det i Kap. VIII afbildede Gjennemboblingsapparat til Anaërobdyrkning, og på den i Kap. XI gjengivne, som Kulturapparat benyttede Pipet. Ved Hjælp af en gjennemboret Kautschukprop kan en rørformet Vatlås anbringes på enhver Kogeflaske (se Fig. 11, vi).

3) Glasæsker.

Som Kulturapparat kan man også benytte *et Par små* (3—5 Ctm i Diam.) *Glastallerkener*, af hvilke den ene kan



Fig. 14. Glasæske til *Soyka's* Musæumskulturer.

sættes som Låg over den anden („*Glasæsker*“ se Fig. 18). De have fremfor de vatlukkede Reagensglas og Flasker den Fordel, at deres Indhold er *lettere tilgjængeligt* (også for mikroskopisk Undersøgelse!) end hines, men de ere mindre sikkert beskyttede mod Forurensning af fremmede Kim end de *vatlukkede* Beholdere. De steriliseres og opbevares indsvøbte i Silkekardus.

En noget pålideligere Betyggelse mod Forurensning yde de *Glasæsker med overfaldende og tilslebet* Låg (se Fig. 14), som *Soyka* i sin Tid benyttede til sine hermetisk lukkede „Musæumskulturer“ (se Kap. XIV).

En Mængde andre Kulturapparater, konstruerede med særegne Formål for Øje, ville blive beskrevne i det følgende; navnlig ville Apparater til Dyrkning af *anaërobe Bakterier* og til *Dyrkning af Bakterier under Mikroskopet* af Hensigtsmæssighedshensyn først blive omtalte i senere, særskilte Kapitler.

*) De sammenhørende Flasker og Rør kunne mærkes med samme Nummer ved Hjælp af „Diamantblæk“.

KAPITEL III.

Næringssubstrater og deres Påfyldning på Dyrkningsapparater.

Det vilde være unyttigt og uoverkommeligt her at anføre den uhyre Vrimmel af Opløsninger, Infuser o. s. v., der med Fordel have været anvendte ved bakteriologiske Undersøgelser; og det kan selvfølgelig for den enkelte Experimentator blive nødvendigt at benytte de mest *forskjelligartede* Næringssubstrater og at variere dem indenfor vide Grændser ved Tilsætning og Fjernelse af dette eller hint Stof, alt efter Undersøgelsens særlige Formål. Her gives i første Linie kun Anvisning på Tilberedelsen af sådanne flydende og faste *Næringssubstrater*, der have vist sig særligt brugbare ved de senere Års Undersøgelser over pathogene Mikroorganismer, dels som „*Universalnæringssubstrater*“, i hvilke næsten alle de kjendte Bakterier kunne trives, dels som *specielt* fortrinlige Næringssubstrater for enkelte kræsne Former. Tilberedningen sker hensigtsmæssigt i koniske Kogeflasker, *Erlenmeyer'ske* Kolber^{*)}, af Form som den Fig. 11 VII afbildede og henholdsvis af 1500 eller 500 Ccm.s Rumfang, alt eftersom man arbejder med større eller mindre Mængder.

En almindelig Bemærkning vil det være rettest at forudskikke: Man må under Arbejdet altid have in mente, at de forskellige organiske Bestanddele af Næringssubstraterne ere *meget variable Størrelser*, og at Bakterierne ofte reagere på Forskjelligheder i Dyrkningsmedierne, som ad anden Vej slet ikke kunne eftervises; eksempelvis kan nævnes *Kitasatos* Iagttagelse, at Bouillon, kun når den er *frisk tilberedt*, er et gunstigt Næringssubstrat for Tetanusbacillen, men at den ved Henstand taber denne Egenskab, — samt *Roux's* Opdagelse, at

*) Disse koniske Flasker ville hyppigt blive omtalte i det følgende og da betegnede som „store“, „mellemstore“ og „små“, alt eftersom de rumme omtrent 1500, omtrent 500 eller omtrent 100 Gram.

Miltbrandssporer ej kunne udvikle sig i Bouillon, som i kort Tid har været udsat for direkte Sollys. Med vor nuværende mangelfulde Viden om Bakteriernes Stofskifteforhold må vi derfor *være forberedte på, at små Forskjelligheder i Næringssubstraternes Tilberedelsesmåde og Ingredientser kunne medføre store Forskjelligheder i Dyrknings-Resultaterne*. Vi må regne med *Aldersforskjelligheder* mellem Kjødprøver fra samme Dyreart (Oxebouillon, Kalvebouillon), med *Raceforskjelligheder* mellem de anvendte Kartoffelsorter o. s. v., ikke at tale om Forskjellighederne mellem de fra *forskjellige Fabriker* stammende Gelatine-, Pepton- o. a. Præparater. Mange Uoverenstemmelser mellem Undersøgernes Dyrkningsresultater skyldes disse Forhold.

A. Næringsvædske.

I første Række blandt Næringsvædskerne bør nævnes:

1) Kjød-Udtræk.

Allerede det simple, vandige, surt reagerende Afkog af Kjød afgiver et udmærket Næringssubstrat for en stor Mængde Bakterierformer; men når det *neutraliseres* eller gjøres *svagt alkalisk* ved Tilsætning af lidt Natron, får man en Næringsvædske, i hvilken såvel de almindelige Forrådnelsesbakterier som en stor Mængde af de vigtigste hidtil kjendte pathogene Mikrober trives fortræffeligt. — Til Fremstilling af Kjødvand benyttes alt efter Omstændighederne forskellige *Dyrearters* Kjød, oftest *Oxe- og Kalvekjød*, og den foretages på noget forskjellig Maade i de forskjellige Laboratorier.

De to almindeligst benyttede Fremgangsmåder ved Tilberedelsen ere følgende:

a) Bouillon (B).

Et Pund magert skrabet eller småtskåret Oxekjød overhædes i en emaillet Gryde eller i en stor konisk Kogeflaske med 1000 Gram Vand. Blandingen koges *under Låg* eller Vatprop i Løbet af et Kvarters Tid, derpå filtreres, og ved dråbevis Tilsætning af en 10 % Natronopløsning bliver Filtratet *neutraliseret* eller gjort *svagt alkalisk*; viser Lakmuspapiret en for stærk Alkalescens, corrigeres denne ved Tilsætning af nogle Dråber *Mælkesyre*. Vædsken koges atter i Løbet af

henved en Time, efter hvilken Tid de ikke opløselige Æggehvidestoffer alle ere koagulerede (C. Fraenkel); derpå lader man afkjøle, hvorved blandt andet Fedtet stivner; man filtrerer påny og fordeler nu den klare Bouillon på mindre Beholdere, i hvilke den endelig steriliseres ved ti Minutters Kogning i Dampsterilisationsapparat i to på hinanden følgende Dage (afbrudt Opvarmning, se ovenf. S. 10). Ved hvert nyt Opkog bliver den klare, filtrerede Bouillon atter uklar; den klares imidlertid påny ved Afkjøling; dog kan man undertiden blive nødt til at gjentage Kogning og Filtration flere Gange, inden man får Vædsken helt klar; hvis dette undtagelsesvis ikke lykkes trods gjentagne Opkog, gjør man bedst i at lade Bundfaldet sætte sig og derpå med steril Pipette hurtigt og forsigtigt fordele den ovenstående klare Bouillon på de sterile Kulturapparater, om hvis Kimfrihed man derefter må overbevise sig ved at henstille dem 2 à 3 Dage til Observation v. 37°, for de tages i Brug.

b) *Kjødvand* (K).

Et Pund magert skrabet Oxekjød overhældes med 1000 Gram Vand og henstilles 24 Timer i Is, derpå rystes det omhyggeligt, filtreres gennem et Lærredsfiler, ved Hjælp af hvilket dernæst al den i det skrabede Kjød yderligere indeholdte Saft *udpresses*; man kan på denne Maade indvinde 1000 Gram vandigt Kjød-Udtræk, som derpå koges, filtreres, gjøres alkalisk o. s. v., ganske som ovenfor beskrevet.

c) Tilsætning af $\frac{1}{2}$ pCt. *Chlornatrium* forøger Bouillonens og Kjødvandets Værdi som Næringsvædske for en Mængde Bakterieformer (*Miquel*) og tilsættes derfor som Regel.

d) Tilsætning af 1 pCt. *Pepton* til denne Kogsaltbouillon giver ogsaa en fortrinlig Næringsvædske.

e) Tilsætning af 5 pCt. *Glycerin* giver et fortræffeligt Næringssubstrat for Tuberkelbaciller (*Roux & Nocard*).

f) Selvfølgelig kan der også undertiden være Anledning til at variere Bouillonens Sammensætning ved Tilsætning af forskellige andre Stoffer såsom Rør- eller Druesukker, *Vinsyre* o. s. v., o. s. v.

Et brugeligt Kjødvand kan også fås ved Opløsning af en passende Mængde af de i Handelen gående *Kjødextrakter* i

Vand med påfølgende *omhyggelig* og „afbrudt“ Kogning (på Grund af de talrige modstandskraftige Kim, der ofte skal indeholdes i Ekstrakterne), Neutralisation, Filtration o. s. v.

Anbefales kan:

g) *Liebigs Kjødextrakt* (E) 5 Gram til 1000 Gram Vand, og navnlig

h) *Cibils Kjødextrakt* (C) 20 Gram til 1000 Gram Vand.

Af andre Næringsvædsker skal her kun nævnes følgende, hvis Brugbarhed er prøvet og anerkjendt:

2) En Opløsning af 1 Del Pepton, $\frac{1}{2}$ Del Kogsalt i 100 Dele Vand, benyttet ved Dyrkning af Koleraspiriller efter *Schottelius's Methode* (*Dunham*). Se Kap. XIV.

3) Neutraliseret eller *svagt alkalisk Urin* (i sin Tid benyttet af Pasteur til de første Rendyrkninger af Miltbrandsbaciller i det Store).

5) „*Gjærvand*“ o: et filtreret, steriliseret Afkog af 100 Dele Vand paa 10 Dele Pressegjær.

Til Dyrkning af Gjær og Skimmelsvampe egne sig særligt:

5) *Ølurt*, o: et Afkog af tørret og pulveriseret Malt; kan fås i ethvert Bryggeri, må før Brugen koges en Timestid og derpå filtreres, men er vanskelig at få klar.

6) Afkog af *Hestegjødning* (*Brefeld*) og af andre Planteæderes Exkrementer: En Del friske Hestepærer udrøres ved Hjælp af en Glasstang i 3 Dele Vand, henstilles 24 Timer paa et kjøligt Sted, derefter koges Blandingen i en Time, filtreres gennem et Dobbeltfilter — hvilket går *yderst* langsomt for sig; Filtratet bliver dernæst atter kogt i nogen Tid, om fornødent igjen filtreret, hvorpå det fordeles på mindre Beholdere og dampsteriliseres ved 100° to Gange 15 Minutter med et Døgns Mellemrum.

7) Afkog af *Svedsker*, der bedst tilberedes som følger: Svedskerne afskylles først og henlægges derefter et Døgn i lidt Vand, koges derpå i det samme Vand så sindigt, at de ej briste, endelig filtreres og inddampes noget. Undertiden kan det være hensigtsmæssigt at afstumpe Svedskedekoktets Syregrad ved Tilsætning af fosforsurt Natron.

8) Afkog af andre *tørrede Frugter*: Rosiner, tørrede Pærer o. s. v.

En Blanding af alle tre under 5, 6 og 7 nævnte Vædsker skal undertiden være fordelagtig.

De udkogte Svedsker, Rosiner o. s. v. kunne, når Dekoktet er afhældt, opbevares i steriliseret Tilstand og benyttes som fast Næringssubstrat for Skimmel- og Gjærsvampe.

Angående Opsamlingen og Tilberedningen af *oprindeligt sterile* („ursterile“) organiske Næringsvædsker henvises til Kap. XI.

Mineralske Næringsvædsker.

Tidligere benyttedes til Dyrkning af Mikrober ofte den såkaldte

9) „*Pasteurs Vædske*“: 10 Gram rent Kandissukker, Asken af 1 Gram Gjær, 0,1 Gram vinsur Ammoniak opløst i 100 Gram destilleret Vand, — eller

10) „*Mayers Vædske*“ og „*Cohns Vædske*“: 0,5 Gram fosforsurt Kali, 0,5 Gram svovlsur Magnesia, 0,5 Gram trebasisk fosforsurt Kalk, 1 Gram vinsur Ammoniak, 100 Gram Vand.

Disse Vædsker finde nu kun undtagelsesvis Anvendelse, thi de egne sig yderst slet til Næringssubstrat for de fleste Bakterier. Det må da også erindres, at Pasteur ingenlunde indførte slige mineralske Opløsninger som hensigtsmæssige Næringsvædsker for Mikrober, men for ved deres Hjælp at bevise den i Plantefysiologien epokegørende Sætning, at *Gjær-cellerne af et Kulhydrat og en uorganisk, kvælstofholdig Forbindelse kunne danne Æggehvide-stoffer*, når de nødvendige *Askebestanddele* samtidigt stå til Rådighed (1858).

Når en større Mængde Næringsvædske er færdig tilberedt, og ikke strax skal benyttes, fordeles den på flere, ved 150° tørsteriliserede, med store Vatpropper lukkede og med et Par Lag Filtrepapir overbundne *Medicinflasker* af ca. 200 Grams Indhold; i disse mindre Beholdere bliver Vædsken *definitivt* steriliseret, idet den dampkoges 5 à 10 Minutter 2 à 3 Gange med 24 Timers Mellemrum. Nu kan den opbevares på et *tørt* Sted, så længe det skal være, under Forudsætning af, at Vatlukningen er foretaget med tilstrækkelig Omhu.

Da Vatprop og Filtrerpapir kun beskytte mod *Forurensning*, men ikke hindre *Fordampningen*, er det hensigtsmæssigere at *tillakke* de vatlukkede Flasker, når man ønsker at opbevare Næringsvædskerne uden Forandring af deres Koncentration; før den hermetiske Tillukning må man dog sørge for, at Vatpropperne og Flaskemundingerne ere *absolut kinfri*, i modsat Fald udsætter man sig for Infektion af Vædskerne. Navnlig kunne *Skimmelsporer*, som i de ubedækkede og *derfor tørre* Vatpropper ej komme til Udvikling, let spire i og gennemvoxe det hermetisk dækkede og altså *fugtige* Vat. Man iagttage derfor følgende Forsigtighedsregler: De påfyldte Flasker skulle under den endelige Dampsterilisation være overbundne med Filtrerpapir; når de ere helt afkølede, fjernes Papiret, og Vatproppens øverste Del *afsvides* i Flammen, hvorefter de *strax* lukkes med *Segllak* eller *Parafin* på samme Måde som en Vinflaske.

Tillakning egner sig ikke så godt til Anvendelse på de almindelige Dyrkningsapparater, hvis Indhold det også undertiden kan være af Vigtighed at skjærme mod Fordampning, navnlig *når de skulle henstå i længere Tid i Thermostat ved 37°*, hvor f. Ex. Serum og Kartoffelstykker hurtigt tørre ind, når de kun ere dækkede med Vatprop. I slige Tilfælde bruges bedre *Kautschukhætter*, som da anbringes på Flasker og Reagensglas med lignende Forsigtighedsregler som Lakket: De opbevares i Sublimatvand, og når Vatproppens øverste Del er afsveden og Reagensglasmundingen samtidigt flammerenset, sættes den endnu fugtige Hætte hurtigt på. Har man ingen Hætte til Rådighed, kan man bruge et dobbelt Lag *Guttaperchapapir*, som efter at være rensat i Sublimatvand smøges ned over Munden, og som, når det er tørt, smeltes fast til Glassets Sider under svag Opvarmning. Også et Par Lag tørsteriliseret *Stanniol* hæmmer Fordampningen betydeligt.

B. Faste Næringssubstrater.

Den *systematiske* Benyttelse af faste Næringssubstrater, særligt af Næringsgelatinerne (*Rob. Koch**) 1881) betegner et Vendepunkt i den bakteriologiske Tekniks Historie.

*) *Brefeld*, der har så store Fortjenester af den mykologiske Methodik, benyttede allerede Næringsgelatiner, dog væsentligt kun for at forsinke Indtørringen af Objektglaskulturene.

Udgangspunktet for *Kochs* betydningsfulde Opfindelse var den længe vel kjendte lagttagelse, at Snitfladen af en kogt Kartoffel, der i nogen Tid henlægges udsat for Luften, bliver Sædet for større og mindre Skimmel-, Gjør- og Bakteriekolonier, af hvilke de to sidst nævnte ofte vise sig som små, forskjelligt farvede, vel adskilte, slimede Dråber; hver Koloni indeholder som Regel kun én bestemt Gjør- eller Bakterierform, der har udviklet sig af en fra Luften nedfaldende Kim, som på Kartofflen har fundet en gunstig Jordbund (først iagttaget af *Hoffmann* 1869, benyttet af *Schroeter* ved hans Dyrkninger af Pigmentbakterier 1872). Tænke vi os nu, at disse Kim istedenfor at sænke sig ned på Kartofflens *fast*e Overflade havde truffet en lige så stor Overflade af en *Vædske*, i hvilken de kunde trives lige så godt som på Kartofflen, så vilde de forskjellige Former efter kort Tids Forløb være blandede sammen, bevægelige og ubevægelige mellem hverandre; flere af de Kim, som kom til Udvikling på Kartofflen, hvor de fandt en Plads *uforstyrret af andre Kolonier*, vilde måske slet ikke komme til Udvikling i Næringsvædsken, men bukke under i Kampen for Tilværelsen. De samme Kim, som i den *flydende* Næringsvædske fremkaldte et broget Virvar af sammenblandede Former, gav på det *fast*e Substrat en Sum af vel adskilte Renkulturer.

Da *Koch* først havde fået Øje for de overordentlige Fordele, som Dyrkningen på fast Grund frembyder fremfor Dyrkningen i Vædske, søgte han at give forskjellige brugbare Næringsvædske en fast Form, og han opnåede dette ved simpelthen at give dem en Tilsætning af Gelatine, således som det nedenfor udførligt findes beskrevet. De på denne Måde tilberedte „Næringsgelatiner“ have fremfor Kartofflerne den Fordel, at man indenfor vide Grændser kan *vari*ere deres *kemiske Sammensætning*, og således tilvejebringe faste Næringssubstrater også for de Bakterier, der ej lade sig dyrke på Kartoffler; de ere endvidere *gjennemsigtige*, hvad der muliggjør Iagttagelsen af Bakteriernes Væxt i Dybden af Gelatinen samt Gelatinekulturens *mikroskopiske* Undersøgelse, — og endelige ere de *smeltelige ved lav Temperatur*, hvad der er af afgørende Betydning for deres Anvendelse til Isolation af de forskjellige Bakteriekim.

Smelteligheden ved lav Varmegrad indskrænker imidlertid i visse Retninger Gelatinernes Brugbarhed, idet den gjør det umuligt at benytte dem til Dyrkningsforsøg ved Temperaturer over nogle og tyve Grader. *Koch* indførte derfor til Brug ved slige Forsøg et andet gelatinerende Konstituens, *Agar-Agar*, der holder sig stivt ved de højeste Temperaturer, som almindeligt anvendes ved Dyrkningsforsøgene. Det samme gjælder om det steriliserede koagulerede *Blodserum*, som *Koch* angav en Methode til at fremstille.

Det blev ovenfor sagt, at Indførelsen af de faste Næringssubstrater betegner et Vendepunkt i den bakteriologiske Tekniks Historie, og den gjør det i to Henseender: Først og fremmest, fordi vi derigjennem have nået til både sikrere og lettere at kunne *isolere og rendyrke* de forskjellige Bakterierformer, således som det allerede fremgår af det ovenfor sagte, og som det i næste Kapitel vil blive nærmere omtalt.

Men for det andet har Indførelsen af *fast*e Substrater på en Mængde andre Punkter *lettet det bakteriologiske Arbejde*, gjort det muligt at arbejde

med langt simplere Apparater og dog under langt bedre Kontrol og med langt større Sikkerhed, bl. a. fordi enhver tilfældigt indblandet, uvedkommende Kim lettere røber sig, når den danner en *begrænset* Koloni på eller i Gelatinen, end når dens Afkom i en Vædske spredes og blandes mellem alle de øvrige Bakterier.

Den uhyre Lettelse af Rendyrkningen og af det bakteriologiske Arbejde overhovedet, som Indførelsen af de faste, gelatinerende Næringssubstrater medførte, bragte i sin Tid mange til at overvurdere og misforstå dens Betydning og til at glemme, at også denne Dyrkningsmethode har sin store Begrænsning, og at den selvfølgelig ingenlunde overflødiggjør Dyrkningen i Næringsvædsker, hvis Teknik derfor *bør indøves med ganske samme Omhu som forhen*. For blot at nævne et enkelt Exempel blandt mange, så er det indlysende, at Forsøg over Bakteriernes Stofskifte og Ernæring kunne kræve Anvendelse af Kulturvædsker, der have en ganske bestemt simpel kemisk Sammensætning, og som ved Tilsætning af Gelatine eller Agar-Agar vilde blive forandrede på en højst forstyrrende og komplicerende Måde; hertil kommer, at en Vædskes Brugbarhed som Næringssubstrat for visse Bakterieformer undertiden forringes eller tilintetgøres ved Tilsætning af Gelatinen o. m. A.

I. Kogte Kartoffler.

Man kan efter Omstændighederne tilberede og anbringe Kartofflerne på en lidt forskjellig Måde, idet man enten:

1) *Simpelthen kløver dem* og henlægger dem i et fugtigt Kammer. Som sådant kan man benytte en *Osteklokke*, der er anbragt i en af de almindelige *Lerspyttebakker*, der gå i Handelen; den vel rensede Skål og Klokke afskylles før Brugen med 1 pro mille Sublimatvand, og i Lerskålens Bund lægges et Par med Sublimatvand vædede Stykker Filtrérpapir.

Ved Tilberedningen af Kartofflerne er Opgaven først og fremmest den at fjærne eller sterilisere den ved Skallerne hængende Jord, der altid indeholder store Mængder, særligt sejglivede Bacillussporer. I den Hensigt *udsøger* man sig først så ren- og glatskallede Kartoffler som muligt; derpå *skyll*es de gjentagne Gange i Vand, hvorpå de endnu tilbageblevne Rester af Jord omhyggeligt *børst*es af med Neglebørste i Vand. Nu *fjærnes med en spids Kniv* de sygeligt forandrede eller beskadigede Dele af Skallen samt de underliggende abnorme Partier af Parenkymet. Således tilberedte henlægges Kartofflerne et Kvarterstid i en 1 pro mille Sublimatopløsning, svøbes derefter, uden i Forvejen at aftørres, én for én ind i tyndt Pakkepapir og dampsteriliseres ved 100° (ti Minutter på to efter

hinanden følgende Dage) eller ved 115° (én Gang ti Minutter i Autoklave). Kartofflerne kunne nu tages i Brug; de udpakkes af Papiret, fattes mellem to af den venstre Hånds sublimatvædede Fingre og kløves med en Bordkniv, som er omhyggeligt steriliseret, enten ved at trækkes gjentagne Gange gennem Flammen eller ved langvarig Opvarmning til 150° (indsvøbt i Papir i Tørsterilisationsskabet); derpå henlægges de strax med Snitfladen opad i det fugtige Kammer. En sådan kogt og kløvet Kartoffel, henlagt under en Glasklokke, er et af de simpleste Dyrkningsapparater, man kan ønske sig, men er dog altid ret udsat for Forurensning fra Luftkimenes Side; dette undgår man ved de i det Følgende beskrevne Præparationsmåder.

2) Af den med Børste og Sublimatvand rensede Kartoffel undskjæres *langagtige firsidede Prismes* eller endnu bedre Stykker af den Fig. 15 og 16 afbildede Form; de udvadskes nogle Minutter i Vand (hvorved Chancen for den ofte spontant optrædende Sortfarvning af Kartofflerne formindskes), og de anbringes:

a) i et vatlukket Reagensglas, i hvilket de *dampsteriliseres* efter de ovenfor givne Regler. En Ulempe ved denne Fremgangsmåde er det, at Kartoffelprismets nederste Del kommer til at stå badet i Fortætningsvand; dette undgår man, når man

b) ved Reagensglassets Bund har anbragt en ikke for fast stoppet Vatprop, paa hvilken Kartoffelstykket kan hvile (Fig. 16), eller når man anvender

c) de af *Roux* angivne Reagensglas med en Indsnævring noget ovenfor Bunden (Fig. 15), hvor Fortætningsvandet (*b*) samler sig.

Helst må disse Kulturglas forsynes med Kautschukhætter, for at en altfor hurtig Indtørring kan forebygges (Fig. 16).

3) Man kan også skjære den med Børste og Sublimatvand rensede Kartoffel i 5 Mm. tykke Skiver, som skrælles, udvadskes i Vand og lægges i en lille Glasæske (Fig. 18); denne indsvøbes derpå i Papir og damp-

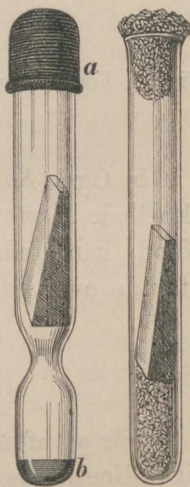


Fig. 15. Fig. 16.

steriliseres ved 100° eller 115°. Smukkere Præparater får man, når man med en Blikring „udstikker“ nøjagtigt *cirkebrunde* Stykker af Skiverne.

De kogte Kartofflers sure Reaktion gjør dem til uheldige Næringssubstrater for mange Bakterierformer (f. Ex. Kolera-spiriller), som derimod gro fortræffeligt paa

4) *alkaliniserede Kartoffler*; de tilberedes som følger: Kartoffelprismerne eller -Skiverne henlægges i en 2—4 % kulsur Natronopløsning; efter et godt Kvarters Forløb tages de op, man lader den overskydende kulsure Natronopløsning dryppe af, henlægger dem derpå i Reagensglassene eller Glasæskerne og steriliserer på sædvanlig Måde. For Sikkerheds Skyld kan man umiddelbart før Tilsåningen med Platinspatel (se Fig. 26 d) fjerne et lille Stykke af Kartofflen og overbevise sig om dens tydeligt alkaliske Reaktion.

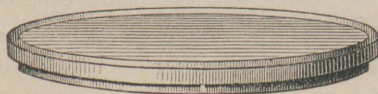


Fig. 17.

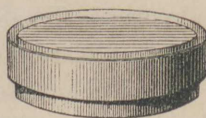


Fig. 18.

Fig. 17. Flade — og Fig. 18. dybe Glastallerkener, som parvis passe ind i hinanden (Glasæsker).

5) Også *Kartoffelgrød*, fremstillet ved Knusning af kogte, skrællede Kartoffler under Tilsætning af en passende Mængde Vand, kan undertiden anvendes med Fordel, når man ønsker at råde over en særligt stor Såningsflade.

II. Smeltelige Nærings-Geléer.

Når vi efter *Kochs* Anvisning ville omdanne vore forskellige Næringsvædske til *faste, gennemsigtige og smeltelige* Næringssubstrater, benytte vi:

- A. *Gelatine*,
- B. *Agar-Agar*,
- C. en *Blanding af Gelatine og Agar-Agar*, og sjældnere
- D. *Lichen crispus* (Caraghén).

A. *Gelatine.*

Man anvender den fineste franske Gelatine, der sælges i tynde firkantede Plader af omtrent $2\frac{1}{2}$ Grams Vægt, og til-sætter heraf (5—) 10 pCt. til Næringsvædskerne, opløser, koger, gjør svagt alkalisk, klarer, filtrerer, fordeler på mindre Be-holdere og steriliserer ved 100° .

B. *Agar-Agar*

er det asiatiske Navn på nogle ejendommelige, geléagtige Tangarter, der voxe i Havet langs det ostindiske Archipelags Kyster og kommer i Handelen i tørret Tilstand som sammen-rullede, bruskhårde, hvidgule Tråde eller i større prismatiske Stykker. Udkogt i Vand giver den en stiv Gelée og kan til-sættes de forskellige Næringsvædske i en Mængde af 1—2 pCt.; som Regel anvende vi $1\frac{1}{2}$ pCt., der opløses ved længere Tids Kogning i den *svagt alkaliserede* Næringsvædske, hvorpå man klarer, filtrerer osv.

Inden vi gå over til nærmere at beskrive Tilberedelsen af de forskellige Nærings-Geléer, må vi korteligen dvæle ved de Fordele og de Ulemper, som ere forbundne med Brugen af hvert af de to nævnte gelatinerende Substrater. Som ovenfor anført blev Agar-Agar indført af Koch, a) fordi det først smelter ved langt højere Varmegrad end Gelatinen og derfor kan benyttes til Dyrkning på *fast* Substrat *ved høje Temperaturer* ($30-40^{\circ}$ eller derover); b) endvidere har Agar fremfor Gelatinen den Fordel, at den kan tåle at koges i længere Tid, uden at dens Gelatineringssevne svækkes; c) dernæst er der en Mængde Bakterieformer, der under deres Væxt gjøre Gelatinen flydende, men som ladé Agaren forblive i fast Tilstand, hvilket i mange Tilfælde er en stor Fordel, navnlig når man har at gjøre med Spredningskulturer. Omvendt må det fremhæves, at Gelatinen a) just på Grund af sit lave Smeltepunkt egner sig langt bedre end Agar til Kimspreddning; b) at den er langt lettere at filtrere end Agar; c) at den giver ganske vandklare Filtrater, medens det er yderst vanskeligt, for ej at sige umuligt, at få *ganske* klar Næringsagar; d) at Uligheden mellem de forskellige Bakteriarterers Kolonier træder langt stærkere frem i Gelatinen ind i Agaren: Et Par Bakterieformer, som, når de dyrkes i

Gelatine, give Kolonier af vidt forskjelligt Udseende, tage sig undertiden ganske ens ud, når de voxe i Agar.

De af *Jensen* indførte

C. Agar-Gelatinier

forbinde tildels Gelatinernes og Agarernes gode Egenskaber, medens de delvis undgå deres uheldige, og de betegne derfor et virkeligt teknisk Fremskridt. De ere lettere at klare og filtrere end de rene Gelatinier, så let smeltelige, at de uden Vanskelighed kunne benyttes til Pladekulturer, og holde sig dog faste ved 30—40° o. s. fr. De tilberedes enten ved Blanding af lige Dele færdiglavet Næringsagar og Næringsgelatine eller som S. 41 beskrevet for K. P. A. G.s Vedkommende.

D. Caraghén

benyttes forholdsvis sjældent; Neisser anbefaler en Styrke af 2½ pCt.

Tilberedelsen af de almindeligst benyttede Næringsgelatinier og -Agarer bliver udførligt beskrevet nedenfor; følgende almindelige Bemærkninger angående Præparationen må imidlertid forudskikkes:

Kogningen. Den Tid, i hvilken man holder Opløsningerne i Kog (for Sterilisationens og Klaringens Skyld), må for *Gelatinens* Vedkommende være så kort som muligt, da dens *Gelatiniserings-*evne *svækkes* eller tabes ved langvarig Kogning. Af samme Grund bør man heller ikke sterilisere Gelatinen i Autoklave ved over 100°; dog træffer man undertiden Gelatinesorter, der uden Skade tåle en kortvarig Opvarmning til 115°.

Neutralisation. Neutralisationen eller Alkaliniseringen af Nærings-Gelatinerne kan først foretages, *efterat* den stærkt sure Gelatine er opløst. — *Agar* reagerer derimod *neutralt*; og da den endvidere ved langvarig Kogning i sur Opløsning delvis omdannes til Sukker, bør man foretage Alkaliniseringen af Næringsvædsken, *førend* Agaren tilsættes.

Klaringen. Når Næringsgeléen har kogt en passende Tid, lader man den atter afkøle til omtrent 50° ; en finere Varmemåler end Hånden behøves ej til denne Temperaturbestemmelse; derpå bliver Hviden af et Hønsæg*) ved Hjælp af en vel rensset Glasstang *pidsket* ud i 100 Gram Vand, og denne Blanding tilsættes i små Portioner ad Gangen til den afkølede, men endnu flydende Gelée, i hvilken den ved stærk Rystning fordeles omhyggeligt; til 1000 Gram Næringsgelatine benyttes hele den udrørte Æggehvite, til mindre Mængder i Forhold hertil. Når man nu påny opvarmer til Kogning, vil Æggehviten udfældes som store hvidlige Fnug, der svømme i en ganske klar Vædske; efter nogen Tids Kogning skrider man til

Filtrationen. Man må selvfølgelig under Filtrationen holde Næringsgeléerne opvarmede over deres Smeltepunkt; dette frembyder for

1) *Gelatinernes* Vedkommende ingen Vanskelighed: Skal man filtrere *en forholdsvis ringe Mængde* — under en Liter —, behøver man kun at opvarme den stærkt, førend man hælder den over paa Folde-Filtret; den vil da, trods Afkølingen, under Filtrationen holde sig flydende, indtil alt er løbet igjennem. — Tragten og Flasken, som benyttes ved Filtrationen, må i dette Tilfælde i Forvejen være opvarmet. Man kan meget let og simpelt opvarme og sterilisere Flaske, Tragt og Filter, samt væde dette sidste på følgende Måde (se Fig. 19). I Kogeflasken hældes et 1 Ctm. højt Lag Vand, Tragt og

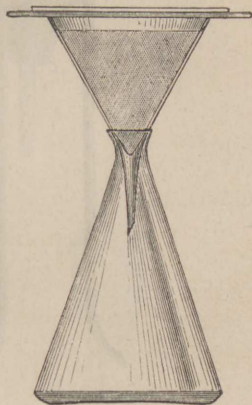


Fig. 19.

*) Den ublandede Hvide får man på følgende Måde: Ved et hurtigt Slag af Æggets Ækvator mod Kanten af et Vandglas frembringer man et lille Brud i Skallen. Man holder nu Ægget lige over Glassets Åbning, sætter de to Tommelfingres Negle ned i Bruddet, brækker Ægget over i to Halvdele og sørger for, at Blommen bliver liggende i den ene; idet man nu hælder Blommen gentagne Gange fra den ene Halvdel af Skallen over i den anden, lader man samtidigt Hviden flyde ud over Brudranden ned i Vandglasset.

Folde-Filter anbringes på sædvanlig Måde i Flasken, og Tragstens Åbning dækkes med nogle Lag Papir og derofter en Zink- eller Asbestplade (Glas springer); når nu Vandet opvarmes og holdes i Kog nogle Minutter, *dampsteriliseres, varmes og vædes* Filter, Tragt og Flaske. Medens Vandet endnu næsten er kogende, hældes det af Flasken, og Filtrationen kan begynde; under Filtreringen lader man bedst Tragten være bedækket med Zink-(Asbest)-pladen, da Afkølingen herved i høj Grad forsinkes.

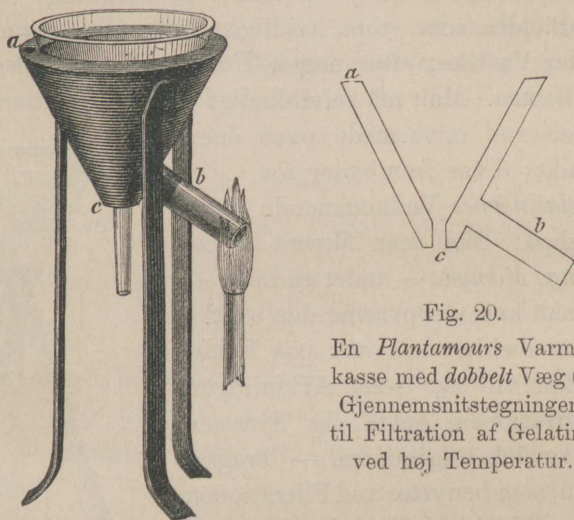


Fig. 20.

En *Plantamours* Varmekasse med *dobbelt* Væg (s. Gjennemsnitstegningen) til Filtration af Gelatine ved høj Temperatur.

Kun når man skal filtrere *større Mængder* (f. Ex. 1 Liter og derofter) Næringsgelatine på én Gang, er man udsat for, at Gelatinen stivner, førend Filtrationen er fuldendt, selv om den oprindeligt har været næsten kogende. Dette undgås, når man under Filtreringen anbringer Tragten i en (Fig. 20) tragtformet, dobbeltvægget*) Varmekasse, der er forsynet med en cylindrisk Udløber (b); gennem Hullet a fyldes Apparatet

*) En sådan dobbeltvægget Varmekasse kan let laves af enhver Blikkenslager; den er langt bekvemmere at benytte end de *enkeltvæggede Plantamourske* Tragte, der gå i Handelen, og som forneden må lukkes med en Kautschukprop (ved c), medens Vandmassens indvendige Begrænsning dannes af selve Glastragten.

med Vand, der holdes varmt under hele Filtrationens Forløb ved Hjælp af en under Udløberen anbragt Flamme. — Forat der ikke fra Luften skal falde for mange Kim ned i Flasken, medens Filtrationen står på, stopper man lidt sterilt Vat ned omkring Tragtsens Spids, mellem denne og Flaskehalsen.

2) *Agar-Præparaternes Filtration* frembyder større Vanskeligheder: Klaringen lykkes ikke altid godt; Smeltningen kræver en højere Varmegrad, og Filtreringen foregår kun langsomt, ofte endog yderst langsomt. Selv ved Filtration af små Mængder Agar må man derfor enten

a) bruge *Varmetragt*, eller — hvad der er at foretrække —

b) stille Tragt og Kolbe ind i *Kochs Dampsterilisations-apparat* og lade hele Filtrationen foregå derinde ved 100°. Men selv under disse Forhold tager Filtrationen meget lang Tid, og man nødes undertiden til at skifte Filter flere Gange.

Ulige bekvemmere er det at anvende den af *Hueppe* anbefalede

c) Filtration *gjennem hygroskopisk Vat ved Hjælp af Vandluftpumpe*: I en dobbelt gjennemboret Kautschukprop anbringes en Tragt og et knæbøjet Rør som fremstillet på Fig. 21, i Tragten lægges et almindeligt enkelt Papirfilter, og den fyldes nu indtil omtrent en Tredjedel af sin Højde med Vat, medens Sidefladerne, som på Figuren antydet ved en punkteret Linie, udføres med et nogle Centimeter tykt

Lag af samme Stof; Kautschukproppen med Tilbehør anbringes derpå tætsluttende i en stor konisk Kogeflaske; denne såvel som Vat- og Papirfilter vædes og forvarmes med hedt Vand, hvorpå det knæbøjede Rør sættes i Forbindelse med Vandluftpumpen, den næsten koghede Næringsagar hældes på Filtret, og Vandhanen åbnes saa meget som nødvendigt for at få Filtrationen i Gang. Her som altid er den Lethed, med hvilken Filtrationen går, meget vexlende, oftest går den dog

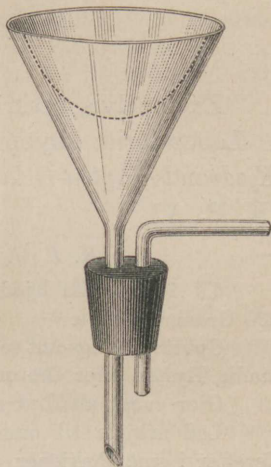


Fig. 21.
Vatfilter til Filtration af Agar.

så hurtigt, at man *ikke* behøver at anvende Plantamours Varmetragt, men denne kan naturligvis, hvis det kræves, anbringes omkring Tragten; undertiden kan man med Fordel lade Agaren løbe to Gange gennem samme Vatfilter; undertiden nødes man til at forny Filtret, da det tilstoppes fuldstændigt af Albuminmasserne; — i så Fald erindre man at *udpresse* det første Filter kraftigt med Hånden, hvorved en hel Del Agar kan indvindes.

Det må iøvrigt bemærkes, at i det langt overvejende Antal Tilfælde har Tilvejebringelsen af en „helt klar“ Agar mere æsthetisk end videnskabelig Betydning, idet Kultureernes makroskopiske Vækstforskjelligheder i Næringsagarens Dybde oftest ere små og uden Vigtighed for Diagnosen.

Exempelvis beskrives her nøjagtigt Tilberedelsen af de to i Laboratoriet hyppigst benyttede Næringsgeléer, nemlig: *Kjødvands-Pepton-Gelatine* (K. P. G.) og *Kjødvands-Pepton-Agar* (K. P. A.)

K. P. G. = Kjødvands-Pepton-Gelatine.

Til 1000 Gram Kjødvand sættes 10 Gram Pepton, 5 Gram Kogsalt, 100 Gram Gelatine.

Opvarm langsomt og forsigtigt — helst i Vandbad — og under stadig Rysten eller Omrøring, indtil Gelatinen er *fuldstændigt* opløst.

Gjør svagt alkalisk med en 10 % Natron-Opløsning.

Lad afkøle til omtrent 55° (vel renset Thermometer!) og tilsæt derefter i små Portioner og under stadig Omrøring en i omtr. 100 Gram Vand *udpidsket* Æggevide.

Kog — helst i Vandbad eller i *Kochs Dampsterilisationsapparat* — i 1/2 Time.

Filtrér gennem dobbelt dampsteriliseret (se Fig. 19) Foldefilter (prøv for en Sikkerheds Skyld atter det først gennemfiltreredes Reaktion).

Fordel på Kultur-Apparater.

Sterilisér *endeligt* ved afbrudt Opvarmning til 100° i Kochs Dampsterilisator 5 Minutter daglig tre Dage i Træk.

K. P. A. = Kjødvands-Pepton-Agar.

I 1000 Gram Kjødvand opløses under Opvarmning 10 Gram Pepton og 5 Gram Kogsalt.

Gjør svagt alkalisk med Natron-Opløsning.

Kog i 5 Minutter.

Filtrér og tilsæt derpå 15 Gram *meget* fint skåren Agar.

Kog i én Time — helst i Kochs Dampsterilisator — (overbevis sig om *fuldstændig* Opløsning af Agaren!).

Afkøl til omtr. 55° og tilsæt derefter i små Portioner og under stadig Omrøring en i ca. 100 Gram Vand *udpidsket* Æggehvide.

Kog atter i 1 Time *eller* opvarm i Autoklave til 115° i ½ Time.

Filtrér

enten
gjennem Papir i Dampsterilisator

eller
gjennem hygroskopisk Vat ved Hjælp
af Vandluftpumpe som ovenfor ud-
førligt beskrevet.

Fordel på Kulturapparater.

Steriliser endeligt

enten
ved 100° i Kochs Dampsterilisator
5 Minutter daglig tre Dage i Træk

eller
ved 115° i Autoklave én Gang i
10 Minutter.

Anm. Når man til K. P. A. sætter 5 % *steril Glycerin*, får man det af *Roux & Nocard* til Dyrkning af Tuberkelbaciller anbefalede *Glycerin-Kjødvands-Pepton-Agar*, der er langt lettere at tilberede end de til samme Formål benyttede Serumpræparater. (S. nedenf. S. 47).

K. P. A. G. = *Kjødvands-Pepton-Agar-Gelatine*.

Dette Næringssubstrat kan let fremstilles ved *Blanding af lige Dele* smeltet K. P. G. og K. P. A.

Vil man imidlertid have det i større Mængder, vinder man Tid ved at tilberede det som følger: Man påbegynder Tilberedelsen af 500 Gram K. P. G. under Anvendelse af de dobbelte Mængder Pepton og Kogsalt, gjør svagt alkalisk, som ovenfor angivet, og opvarmer stærkt. Samtidigt opløser man ¾ Gram Agar ved Kogning i 500 Gram Vand. De to næsten kogvarme Opløsninger blandes omhyggeligt, man lader afkøle til 55°, tilsætter Æggehvide, koger ½ Time o. s. v. ligesom ved Gelatinen. (Sikrest er det før den endelige Filtrering at frafiltrere en Prøve i et Reagensglas og se, om den holder sig klar ved 10 á 15 Minutters Kogning; Blandingen er nemlig tilbøjelig til, når Kogningen ej har været fortsat længe nok, at afsætte et voluminøst skyet Bundfald; dog forringer et sådant ikke Præparatets Brugbarhed i nogen væsentlig Grad).

Det må her atter udtrykkeligt fremhæves, at man som oftest kan undgå Anvendelsen af Kjødvand og istedenfor bruge en 5 % vandig Opløsning af *Liebigs* eller en 20 % Opløsning af *Cibils* Kjødextrakt, hvorved megen Tid og Ulejlighed spares. (Man erindre da, at i så Fald Kogsalt *ikke* skal tilsættes). Ja, efter mine hidtidige Erfaringer afgive de efter *Malms* Råd simpelthen med 20 % Cibil alene tilsatte Geléer af Gelatine eller Agar (C. G. og C. A.) en ligeså god Næringsbund for en Mængde forskellige Bakteriefomer som de langt kostbarere Kjødvandspeptongeléer.

Til Dyrkning af *Skimmel-* og *Gjærsvampe* benytter man Næringsgeléer, tilberedte ved Tilsætning af G. og A. til de ovenf. S. 28 nævnte Næringsvædske; særligt kan anbefales:

Ølurt-Agar (Ø. A.), der tilberedes af lige Dele Ølurt og Vand med $1\frac{1}{2}$ pCt. Agar-Agar.

Rosingelatine (R. G.); et Afkog af 250 Gram Rosiner til 1000 Gram Vand, hvortil sættes 10 pCt. Gelatine, koges og klares som ovenfor angivet.

Farvede Næringsgelatiner. I forskellige Øjemed kunne *Farvestoffer* sættes til de beskrevne Næringsgeléer, således har f. Ex.

Nöggerath anbefalet følgende Fremgangsmåde: Koncetrerede vandige Anilinfarve-Opløsninger, svarende til Spektralfarverne, nemlig Methylénblåt 2 Cc., Gentianaviolet 4 Cc., Methylgrønt 1 Cc., Krysoidin 4 Cc., Fuchsin 5 Cc. blandes, fortyndes med 200 Cc. Vand og henstilles i 10—14 Dage; af denne sorteblå eller mørkegrå Vædske tilsættes 7—10 Dråber til 10 Cc. K. P. G., som opkoges et Par Gange, udhældes på en hvid Porcellainsplade og tilsås ved Ridskulturer. Bakterierne fremkalde nu under deres Vækst i Gelatinen Farveforandringer, der kunne benyttes i diagnostisk Øjemed.

2) Tilsætning af nogle Dråber ved Kogning steriliseret *Lakmusopløsning* indtil tydelig Blåfarvning (henholdsvis Rødfarvning) af Geléen gjør det let at iagttage Næringssubstratets Reaktionsforandring under Bakteriernes Vækst; af særlig Betydning er dette f. Ex. for Diagnosen af Tyfusbacillen (se Kap. XIV).

III. Serum.

En Del større Glaskrukker (*firkantede* Picklesglas ere særligt at anbefale) blive alt efter Åbningens Størrelse overbundne med flere Lag Papir eller lukkede med Vatprop, derpå dampsteriliserede og tørrede.

De fyldes med *Oxe-*, *Kalve-* eller *Hesteblod* (Lammeblod er ikke at anbefale), der opsamles under Slagtningen med så stor

Renlighed, som det overhovedet er muligt at iagttage i et Slagtehus; så snart de ere fyldte, blive de *øjeblikkeligt*, og idet man *undgår at ryste* dem, henstillede til Koagulation, helst i koldt Vand; når man har overbevist sig om, at en *fast* Blodkage er dannet, bringes de til Laboratoriet, hvor de henstå roligt i 24—36 Timer på et koldt Sted, helst i Isskab. Efter denne Tids Forløb vil der i hvert Fald i en Del af Krukkerne have udskilt sig Serum under Retraktion af Blodkagen. (Skulde dette ej være sket, kan man med en ren Kniv, yderst forsigtigt, gjennejskjære Blodkagen eller løsne den fra Væggen og atter lade den henstå 12—24 Timer i Isskab). — Som oftest vil det vise sig, at den i de forskellige Krukker udskilte Serum er af meget forskjellig Kvalitet: I nogle Glas er den fuldstændigt klar, i andre mer eller mindre rødfarvet af tilbandede Blodlegemer; kun hin giver *fuldstændigt* dadelfri Næringsbund til *Stikkulturer*, dog lader en let blodfarvet Serum sig også bruge hertil, og selv den *stærkt* rødfarvede Serum kan ypperligt benyttes til *Overfladekulturer*. —

Af den meget stærkt rødfarvede Serum kan man forresten skaffe sig en noget ringere Mængde ufarvet Serum på følgende Måde: Med steril Pipette overføres den blodfarvede Serum i *høje*, vatlukkede, sterile Reagensglas, der henstilles lodret på Is i 2 á 3 Døgn; efter denne Tids Forløb ere Blodlegemerne helt eller næsten helt bundfældede; ved den lave Temperatur har der kun fundet en ringe Bakteriendvikling og næppe nogen som helst Sporedannelse Sted, og den klare ovenstående Serum kan nu efter de nedenfor givne Regler ompipetteres på sterile Reagensglas og behandles på sædvanlig Måde. — En langt hastigere Bundfældning af Blodlegemerne kan opnås ved en *kraftig* Centrifuge.

Overførelsen af Serum i Kulturapparaterne foretages ved Hjælp af steril Pipette med *størst mulig* Forsigtighed; enhver Forurensning vil nemlig være mere skjæbnesvanger her end ved Tilberedningen af de andre Næringsvædske, fordi den endelige Sterilisation må foretages ved *lav* Temperatur, altså på en *ufuldkommen* Måde; navnlig bør man undgå at væde Reagensglassenes Indside med Serum på de *øverste* Afsnit, der under den senere Opvarmning i Vandbadet ikke kunne sænkes ned under Vandfladen af Hensyn til Vattet. Når Reagensglassene således ere fyldte med et fire—fem Centimeter højt Lag Serum, blive så mange af dem, som der er Plads til,

anbragte i det ovenfor (se Fig. 6) beskrevne Vandbad; man opvarmer, indtil Thermometret viser $58-60^{\circ}$, og holder ved Hjælp af en lille Flamme Vandbadet på denne Temperatur i lidt over en Time; dette gjentages dagligt i Løbet af en Uge. — Den således behandlede Serum er bleven kjendeligt klarere end den var fra Begyndelsen af, har endvidere afsat et ringe hvidligt Bundfald, på dens Overflade svømmer en fin fedtet Hinde (af Cholestearin), og ved Opvarmningen ere alle de mindre resistente Kim, som fandtes i den, dræbte.

Tilbage står nu at få Serumen til at stivne uden at den taber sin Gjennemsigthed; dette opnår Koch ved langvarig Opvarmning til omtrent $68-70^{\circ}$ C. Vandbadet bringes altså op til denne Varmegrad, som vedligeholdes i længere Tid; alt efter de forskellige Blodprøvers Ejendommelighed er én eller flere (6—8) Timers Opvarmning nødvendig for at bringe Serumen til at stivne; man bør derfor med Mellemrum tage et Par Glas ud og se, om Koagulationen er begyndt. Er den så vidt fremskreden, at man let kan vende Bunden i Vejret på Reagensglassene, uden at Indholdet løsner sig fra Væggen, standser man Opvarmningen. Serum danner nu en ravgul Gelée, der i alt Fald ved direkte gennemfaldende Lys er tilstrækkeligt klar til, at man kan iagttage Ejendommelighederne ved de Kulturer, der voxe omkring Podestikkene i dens Indre.

Denne sidste langvarige Opvarmning til omtrent 70° bevirker ikke blot, at Serum gelatinerer, men bidrager naturligvis også sit til en fuldstændig Sterilisation; dog kan man ej være sikker på at have dræbt alle Kimene i Serum, førend man har overbevist sig om, at Reagensglassene vedblivende holde sig bakteriefri efter 3 til 4 Dages Henstand i Varmekassen ved omkring 35° (se Kap. VI). Denne Prøve bør derfor alle Serumglassene underkastes, førend de tages i Brug. De således behandlede Serumglas ere nu færdige til Anlæggelse af „Stikkulturer“. Ønsker man derimod at anlægge „Ridskulturer“ på en stor, skråtstillet Serumoverflade (som gjengivet Fig 5 II), må Reagensglassene under Stivningen anbringes i en skrå, næsten vandret Stilling, hvilket ej lader sig gjøre i det ovenfor beskrevne Vandbad. Koch benytter til dette Formål flade, kvadratiske glas- og filtbedækkede, skråtstillede Varmekasser. På Fig. 22 ses en sådan

i Tværsnit. Kassens Bund er 30 Ctm. i Kvadrat (indvendigt Mål), Vandlaget mellem de dobbelte Vægge er i Kassens Bund (*a a*) 6 Ctm., i dens Sidevægge (*b b*) 3 Ctm. tykt, Sidevæggens udvendige Flade *c* rager en Centimeter op over den indvendige og danner således en Ramme for Låget. Som Låg tjener en kvadratisk Glasplade *d* (som muliggjør en hyppig Iagttagelse af Temperaturen og Serumens Tilstand), og en Filtplade *e* (slet Varmeleder). Vandet hældes ind gennem Røret *f*; symmetrisk med dette findes et lignende Rør, gennem

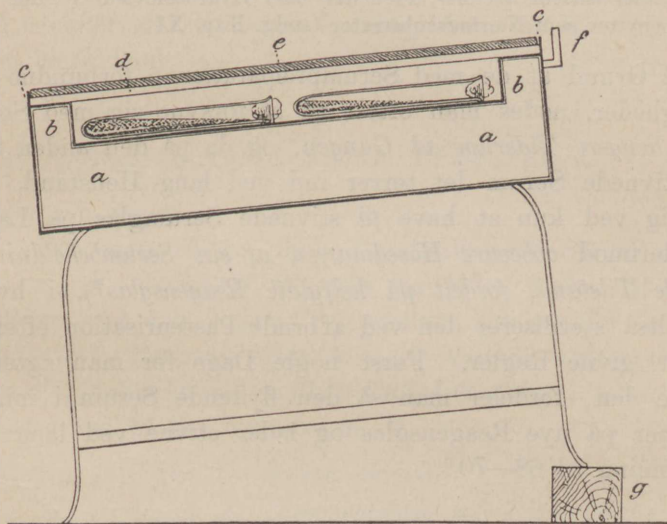


Fig. 22.

Flad Varmekasse til Præparation af skråtliggende Serumglas.

hvilket Luften kan slippe ud under Påfyldningen. Kassen stilles skråt ved, at et Par Klodser (*g*) lægges under to af dens Ben. I et Apparat af den her beskrevne Størrelse er der Plads til to Rækker Reagensglas; mellem dem lægges et Thermometer.

Den her skildrede *Forbindelse* af „Pasteurisation“ og „afbrudt Opvarmning“ (som først benyttedes af Koch ved Tilberedning af Serum til Dyrkning af Tuberkelbaciller) bør altid komme til Anvendelse, *når Blodet ikke har kunnet opsamles med den størst mulige Renlighed*. Når man derimod kan

få Lejlighed til at opsamle Blodet ved en „*efter alle Kunstens Regler*“ udført Åreladning med steril Sneppert og efter forudgående omhyggelig Vadskning af Hestens eller Koens Hals med 1 pro mille Sublimatvand, kan man som oftest trygt udelade den beskrevne langvarige og besværlige For-Sterilisation og *strax* — såsnart Serum er fordelt på Reagensglassene — *skride til at lade det stivne* ved langvarig Opvarmning til 68—70°.

Ganske på samme Måde som Blodserum behandles *serøse Ex- og Transsudater* (såsom Ascites-, Pleuritis- eller Hydrocele-vædske), der også kunne benyttes som Næringssubstrater (smlg. Kap. XI).

På Grund af de med Serumpræparationen forbundne Besværligheder, nødes man oftest til at forsyne sig med Serum *for et længere Tidsrum ad Gangen*, og da på den anden Side den stivnede Serum let tørrer ind ved lang Henstand, står man sig ved kun at have få stivnede Serumglas på Lager, men derimod *opbevare Hovedmassen af sin Serumbeholdning i flydende Tilstand, fordelt på helfyldte Reagensglas**), i hvilke man altså steriliserer den ved afbrudt Pasteurisation efter de ovenfor givne Regler. Først nogle Dage før man agter at benytte den, fordeler man så den flydende Serum i mindre Portioner på nye Reagensglas og lader stivne ved langvarig Opvarmning til 68—70°.

Steriliseringen af Serum i de ovenfor beskrevne billige og simple Apparater frembyder visse Ulemper. For det første: Besværligheden ved at holde Temperaturen omtrent på samme Højde i længere Tid ved Hjælp af en lille Gasflamme; denne kan man dog let undgaa ved *Anvendelsen af en Regulator*, f. Ex. Bohr's Model (se nedenfor Fig. 32); man kan da lade Serumglassene henstå i Timevis uden yderligere Kontrol. — Men for det andet er Brugen af det åbne Vandbad ube-

*) I større Beholdere (f. Ex. Medicinflasker af 100—200 Grams Rumfang) lykkes Pasteurisationen af Serum kun rent undtagelsesvis. — Til Sterilisation ved Hjælp af Chamberlands *Filtre* egner Serum sig ikke på Grund af dens Albuminholdighed.

kvem og medfører den Mislighed, at den øverste Del af Reagensglassene ej udsættes for samme høje Varmegrad som den nederste. Det er derfor fordelagtigt også at foretage Pasteurisationen i Luftbad, og man kan hertil benytte *en Varmekasse med Regulator og løse Hylder* af ganske samme Indretning som det Fig. 29 afbildede Drivhus. Under Pasteurisationen, og når man ønsker Serum koaguleret til Stikkulturer, henstå Glassene lodret i Varmekassen; skal Serum stivne med stor skråstillet Overflade, indsættes Hylderne, og på disse anbringes Reagensglassene skråt, næsten horizontalt liggende, i flade Æsker. Af og til trækker man Hylderne forsigtigt frem for at se om Stivningen er fuldendt.

Sammensatte Serum-Præparater.

1. *Glycerin-Serum.*

Når man til det flydende steriliserede Serum sætter 6—8 pCt. *steriliseret Glycerin* og lader denne Blanding stivne ved lidt højere Temperatur end ovenfor angivet (75—78°), får man efter *Roux & Nocard's* Iagttagelser et Næringssubstrat, på hvilket *Tuberkelbacillerne* voxe langt bedre end på det rene Serum.

2. *Kjødvands-Pepton-Druesukker-Serum.*

Til Dyrkning af *Difteribacillen* anvendte *Löffler* med Fordel en Blanding af tre Dele steriliseret flydende Serum og én Del steriliseret Bouillon, hvori var opløst 1 pCt. Pepton, 1 pCt. Druesukker og $\frac{1}{2}$ pCt. Kogsalt; det hele bragtes til at stivne ved 60° C.

3. *Serum-Agar-Gelatine.*

Til Rendyrkning af den *Bang'ske* Nekrose-Bacil benyttede *Stribolt* en Blanding af c. to Dele K. P. A. G. (se S. 41) og én Del flydende steril Serum, som blandes medens Serumen er opvarmet til 40° og Agar-Gelatinen holdes smeltet ved samme Temperatur. Denne og lignende Blandinger have Betydning derved, at de muliggjøre Spredningskulturer i et *smeltet serumholdigt* Substrat. Se mere herom nedenfor i Kap. VII og Kap. XIV.

VI. Andre Dyrknings-Substrater.

1. *Opblødt Franskbrød.*

Franskbrød skæres i Skiver, og Krummen pilles fra Skorpen i små Stykker, der i et enkelt Lag henlægges til Lufttørring mellem Filtrérpapir (for at undgå en altfor stor Mængde nedfaldende Støv). Når de efter nogle Dages Forløb ere knastørre, males de fint i en Kaffemølle, og dette *tørre Brødpulver* opbevares i en *kun med Papir* tilbunden Krukke. Når det skal benyttes, afvejes en passende Mængde af Pulveret, som hældes op i en steriliseret, vatlukket Kogeflaske, således at det danner et jævnt Lag på Bunden (til en af de *mindste* koniske Kogeflasker anvendes omtrent 8 Gram), og derpå ved Hjælp af en Pipette *langsomt* overhældes med omtrent 2½ Gange sin Vægt steriliseret Vand; den herved dannede Brød-Grød steriliseres slutteligen ved 2 Gange ½ Times Opvarmning i strømmende Vanddampe med et Døgn's Mellemrum.

Franskbrødet kan selvfølgelig også benyttes i simple *Skiver*, som (*uden* eller *efter* forudgående Sterilisation ved tør Varme) oplødes med kimfrit Vand og definitivt steriliseres ved strømmende Vanddampe. Ved Pulveriseringen får man imidlertid et smukkere, jævner og mere hand-
leligt Præparat.

Det opblødte Franskbrød egner sig udmærket til Dyrkning af *Skimmelsvampe*; også mange forskellige Bakterier trives fortræffeligt derpå. — Man kan forbedre og variere Brødgrødens Næringsværdi ved at opløde („gjøde“) det tørrede Pulver ikke med Vand, men med Bouillon, Svedskeinfus, Gjødningssaffkog o. s. v. (Brefeld).

2. *Æg.*

Hueppe har først anbefalet Anvendelsen af det friske Hønsæg som Dyrknings-Apparat: Ægget rystes, for at Hvide og Blomme kan blandes. Overfladen desinficeres ved Vadsugning med Sublimatvand; til yderligere Sikkerhed kan man ved Hjælp af en *lille* Flamme eller et lille ferrum candens forkulle Skallen på et begrændset Parti ved en af Polerne, hvor man derpå med en glødende Nål borer et Hul; gennem dette indføres Podenålen, hvorefter Hullet lukkes

med lidt Segllak, og det tilsæede Æg henstilles i Æggebæger. — Ønsker man livligere Luftadgang til Æggets Indre, borer man et noget større Podehul i Skallen og lukker med en steriliseret Vatprop.

Angående Dyrkning i ursteril Æggehvide, fordelt på Kultur-Apparater se nedenfor Kap. XI.

3. Gipsblokke.

Engel har først benyttet *fugtige Gipsblokke* som Dyrknings-substrat for *Gjærsvampe*, med det Formål at fremkalde den såkaldte *Ascosporedannelse* hos disse Organismer. Man kan hensigtsmæssigt give Gipsblokkene Form af cirkelrunde 5—6 Mm. høje Skiver, der støbes af 2 Mål Gipspulver og $\frac{3}{4}$ Mål Vand i en *ikke indfedtet* Form. De henlægges i Glasæsker (Fig. 18) og dampsteriliseres; før Brugen fyldes forsigtigt et 1—2 Mm. højt Lag sterilt Vand i Æsken, og Gipsblokken tilsås ved Hjælp af en Pasteurpipette med en *ung* Gjærkultur.

4. Kiselgeléer.

Kiselsyrehydrat, der allerede af *Kühne* (Zeitschr. f. Biol. XXVI) foresloges anvendt som Konstituens til Næringsgeléer, er af *Winogradsky* benyttet til Fremstilling af *faste* Nærings-substrater for sådanne Bakterier, som bedst eller *kun* kunne trives i Kulturmedier, der ere *absolut fri for organiske Stoffer*. Angående Enkelthederne ved Tilberedelsen se Ann. de l'Inst. Pasteur V Nr. 2 smlg. Centralblatt f. Bakteriolog. X, S. 209.

Påfyldning paa Dyrkningsapparaterne kræver kun nærmere Omtale for de *smeltelige Næringsgeléers* Vedkommende.

De *magasineres* på lignende Måde som Næringsvædskerne i vatlukkede, eventuelt tillakkede *Medicinflasker* af 150—250 Cc. Rumfang; disse tjene som Hovedbeholdere. Hensigtsmæssigt er det desuden at have *mindre Gelatine-Beholdere*, (f. Ex. store Reagensglas), for at man ikke, når man har Brug for lidt Gelatine, skal nødes til at åbne en stor Flaske, hvis

Indhold man så, hver Gang man har åbnet den, for Sikkerheds Skyld må give et nyt Opkog.

Når Magasinflaskens Indhold skal *fordeles på Dyrkningsapparaterne*, bliver det først smeltet i Vandbad eller i Dampsterilisationsapparatet; Påfyldningen på Reagensglas og andre Beholdere med forholdsvis vid Hals kan nu ske ved ligefrem at *hælde* fra Flasken eller ved Hjælp af større *Pipetter* af den Fig. 23 afbildede Form. Disse renses, tørres og steriliseres på sædvanlig Måde, — hvis deres Størrelse tillader det, i Sterilisationsskab ved 150° (indsvøbte i Papir), i modsat Tilfælde ved at trækkes langsomt frem og tilbage gennem en Gas- (eller Sprit-) flamme i Løbet af nogle Minutter. For at undgå Forurensning af Pipetten, når man lægger den fra sig, kan man som Underlag benytte et Par af de små *Glas-Knivstole* (Fig. 23), der tidligere anvendtes en Del i Husholdningen, og

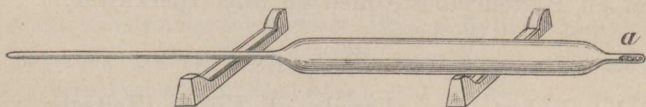


Fig. 23. Pipette (med Vatprop *a*), hvilende på to Glasbænke („Knivstole“).

hvis smalle øverste Flade let lader sig flammerense, førend de bruges. Iøvrigt er der ved Påfyldningen ikke andet at iagttagende, end at Beholderen hurtigst muligt atter skal lukkes, at Gelatinelaget i Reagensglassene helst skal være mindst 3 Ctm. højt, og at man skal undgå at befugte Glassenes Indside med Gelatine nær ved den frie Rand, da i så Fald Vatpropperne klistre fast til Væggen.

På *Kolberne*, hvis Hals har en forholdsvis *snæver* Åbning, sker Påfyldningen nemmest ved Hjælp af en almindelig — dampsteriliseret — *Sprøjteflaske*.

Efter Påfyldningen blive Kulturapparaterne *endeligt* dampsteriliserede efter de ovenfor givne Regler.

Har man intet Dampsterilisationsapparat til Rådighed, kan man nøjes med at give hvert enkelt Glas eller Kolbe et Opkog, sålænge indtil Dampene i nogle Sekunder have slået ud gennem Vatproppen.

Når Gelatinen er stivnet, opbevares Reagensglassene bedst i små Partier, indpakkede i Papir, da derved al Tilstøvning af Overfladen, navnlig af Vattet, undgås.

Ved længere Henstand begynder Næringsgelatinen at indtørre; det viser sig tydeligst i Reagensglassene derved, at deres Overflade bliver *indbuet*. Når man fører en Podenål ind i en sådan Næringsgelatine, vil den ikke som sædvanligt atter lukke sig efter Nålen, når denne drages ud igjen; men på Grund af de forandrede Spændingsforhold vil Gelatinen slå en Revne, der, under en eventuel Bakterieudvikling fra Podestikket af, i høj Grad kan forstyrre Billedet; før man benytter slige Gelatinebeholdninger, bør man derfor altid smelte dem og lade dem stivne. Om Midterne til at forhindre denne Indtørring se ovenfor Side 30.

KAPITEL IV.

Ren Udsæd.

Af de foregående Kapitler vil man have set, at det er forholdsvis let *både* at sterilisere Instrumentarium og Nærings-substrater og at holde dem sterile i ubegrændset Tid. Den egentlige Hovedvanskelighed ved Rendyrkningen har altid ligget på et andet Punkt, nemlig i *Tilvejebringelsen af den rene Udsæd*. Atter her er det Bakteriernes Ubikvitet og Lidenhed, der har nødvendiggjort Anvendelsen af ganske særegne og komplicerede Fremgangsmåder. Deres Ubikvitet gjør, at vi så vanskeligt kunne undgå uvedkommende Kim, og deres Lidenhed forhindrer os i at *udså en enkelt Kim*, således som vi gjøre ved Dyrkningen af højere Planter. For visse Svampeformers Vedkommende lader dette sig endnu gennemføre. Således har *Brefeld* allerede forlængst (1874) stillet og opfyldt den Fordring til sine *Skimmel-Kulturer*, at de skulde stamme fra *én eneste under Mikroskopets Kontrol udsået Spore*, og 1883 har *Emil Chr. Hansen* ved sine for Bryggerierne så betydningsfulde Rendyrkninger af *Ølgjæret* skaffet sig Kulturer, der bevisligt stamme fra *én Gjærcele*, ved Hjælp af andre og bedre Metoder, end de af *Brefeld* anvendte.

Bakteriernes forsvindende små og lidet karakteristiske Kim lade sig derimod som Regel ikke behandle på denne Måde;

man har måttet gribe til andre Midler for at få ren Udsæd til sine Kulturer, og i 1881 lykkedes det *Koch* at anvise en Vej til Isolation af de enkelte Bakteriekim, der sikkert i en uoverskuelig Fremtid vil blive stående som Hovedmethode.

Førend vi gå over til en Skildring af den Kochske Fremgangsmåde, der med forskellige Tillæmpninger uafbrudt vil komme til Anvendelse i det følgende, må vi korteligt omtale de andre Rendyrkningsmetoder, dels på Grund af deres historiske Interesse, dels fordi man også efter Opfindelsen af den Kochske Teknik, ofte nødes til at bruge dem eller med Nytte kan gribe til dem.

Alle de Fremgangsmåder, som hidindtil ere benyttede til at tilvejebringe ren Udsæd, lade sig indordne i to Hovedgrupper; det er dels A) sådanne, ved hvilke man har benyttet de *fysiologiske Forskjelligheder* mellem de enkelte Bakterierformer til at sondre dem fra hverandre, dels B) sådanne, ved hvilke *Spredning* af Kimene er benyttet som Isolationsmiddel.

A. Benyttelsen af de fysiologiske Forskjelligheder.

Når man f. Ex. i en rådden Vædske blandt en Mængde almindelige, ikke snyltende Forrådnelsesbakterier har én virulent Form, så kan man skaffe sig denne i ren Tilstand ved *Indpodning på et passende Forsøgsdyr*; i dets Blod vil nemlig kun den virulente Form komme til Udvikling, medens de andre gå til Grunde. På denne Måde har man fra råddent Blod fået ren Udsæd af den *Pasteurske* Kaninseptikæmis, den *Kochske* Museseptikæmis og den *Davaineske* Kaninseptikæmis Mikrober. — Eller et andet Exempel: I Blodet af et Miltbrandskadaver, der har henligget ved høj Temperatur, eller som hidrører fra et stort Dyr og altså kun langsomt afkøles, finder man i Følge Pasteur, såsnart Forrådnelsen er begyndt, foruden Anthraxbacillen også den af ham såkaldte *vibron septique* (der flere Aar senere blev beskrevet af Koch under Navnet *Bacillus oedematis maligni*); disse to pathogene Former lykkedes det nu Pasteur at adskille og rendyrke hver for sig ved Hjælp af deres forskellige Forhold overfor den *frie Ilt*; da *vibron septique* er anaërob, Miltbrandsbacillen derimod

aërob, og begge kunne voxe i Kjødvand, så fik han en Kultur af den ene eller af den anden, alt eftersom han såde Blodet i et almindeligt Kulturapparat eller i et sådant, fra hvilket al Ilt var fortrængt og holdt borte ved Hjælp af Kulsyre (smgl. nedenfor Kap. VIII).

Disse Exempler kunne forøges med mange flere (Dyrkning i *sure og alkaliske* Substrater; med eller uden Tilsætning af visse *Antiseptica*; ved højere og lavere *Varmegrad* o. s. v.), men kun to af de *Methoder*, der må regnes til Gruppe A, skulle vi dvæle lidt nærmere ved, nemlig:

1) *Den fraktionerede Kultur* (Klebs 1873).

En Vædske, i hvilken et større Antal forskellige Bakterierformer leve og trives ved Siden af hverandre, vil selvfølgelig ikke på ethvert Punkt indeholde en ligelig Blanding af alle de tilstedeværende Arter. Af de ubevægelige Former ville nogle synke tilbunds eller hæfte sig på Karrets Sider, medens de bevægelige ville kunne tumle sig overalt i Vædsken; nogle Former ville danne Hinder på Overfladen, andre kun trives i Dybden, hvor Ilttilførslen er ringere; endvidere ville alt efter Vædskens Natur nogle Former brede sig i den med stor Hast og i Antal langt overgå andre, som kun komme til at føre en tilbagetrængt Tilværelse i Vædsken. Sår man nu en ganske minimal Mængde af en sådan bakterierig Vædske over i et Kulturapparat, vil man efter al Rimelighed kun få nogle få Former overførte i den nye Næringsvædske, og disse ville atter her fordeles mindre ligeligt og udvikle sig i forskjelligt Antal; sår man dernæst fra den nye, mindre formrige Blanding igjen en yderst ringe Mængde over i en ny Kulturkolbe, og fortsætter således flere Gange, vil man efter al Rimelighed tilsidst komme til et Punkt, hvor Udsæden er *absolut ren*, d. e. kun indeholder én eneste Bakterief orm.

Methoden har kun ringe Værdi; og det må navnlig fremhæves, at man jo ved sådanne fraktionerede Kulturer ingenlunde kan gjøre Regning på tilsidst at få en Renkultur af denne eller hin *bestemte* Form blandt dem, der fandtes i den oprindelige Vædske — ja end ikke på at få den Form, som var *talrigst* repræsenteret deri. Endeproduktet bliver ofte kun

en af de mest udbredte almindelige Forrådnelsesbakterier, der, selv om den oprindeligt kun er til Stede i ringe Mængde, under Omdyrkningerne let tager Luven fra de andre Former. — Som Hjælpe-methode kan den fraktionerede Kultur dog af og til gjøre sin Nytte.

2) Kogningsmetoden (Cohn 1876).

Man havde længe vidst, at forskellige organiske Vædsker (Mælk, Høinfus, Ærteinfus o. a.), trods temmelig langvarig Kogning og samtidig Udelukkelse af Infektion fra Luftkimenes Side, dog blev Sædet for Bakteriudvikling; Tilhængerne af Selvdannelseslæren havde atter og atter taget denne Kjendsgjerning til Indtægt for deres Doktrin; men først i 1876 viste Cohn gennem en Række Forsøg med Høinfus, at dette Forhold måtte bero på visse *Bacillus-Sporers overordentlige Modstandskraft* imod høj Varme: Kogevarmen tilintetgjorde hurtigt alle de ikke-sporedannende og ikke-sporebærende Bakterier; men *Bacillussporerne* (ved Cohns Forsøg Sporerne af *B. subtilis*) dræbtes ikke, hvad *Brefeld* også senere overbeviste sig om ved direkte mikroskopisk Iagttagelse af de kogte Sporers Spiringsproces. Hermed var en Methode given til at skaffe sig *ren Udsæd af visse sporedannende Bacillusformer*: Man propper en stor Erlenmeyersk Kolbe fuld med Hø og overhælder det derefter med såmeget Vand, som Flasken kan rumme, holder det i nogle Timer på 30—40° (det kan ske *enten* i et Varmeskab *eller* over fri Flamme, medens et Thermometer er stillet ned i Vædsken), afhælder det mørkerødbrunne Infus og fortynder med destilleret Vand, indtil det får en smuk guldgul Farve (en Vægtfylde af 1006), filtrerer gennem Lærred, neutraliserer med kulsurt Kali, fordeler det neutrale Høinfus på flere vatlukkede Beholdere, koger dem i 10 Minutter og henstiller dem i Varmekassen ved omtrent 30—40°; der vil da efter et Par Dages Forløb i et større eller mindre Antal af Beholderne indfinde sig en Vegetation af sporedannende Baciller, som giver sig tilkjende ved Dannelsen af en tæt, stiv Hinde på Overfladen; ofte vil det være en Renkultur af *Bacillus subtilis* Cohn.

Det må erindres, at indenfor de forskjellige, sejglivede Bacillussporers Kreds er *Modstandskraften mod Kogevarme atter meget forskjellig*: Nogle Bacillusarters Sporer overleve kun ganske få Minutters Kogning, andre tåle selv timelang Opvarmning til 100°. Se mere herom i Kapitel XII: Desinfektionsforsøg.

Methodens Begrændsning er given med det ovenfor sagte: Det er ved den kun muligt at udskille de Baciller, som danne meget *resistente Sporer*, og en virkelig Renkultur får man kun med Sikkerhed, når den kogte Vædske *ikke indeholder flere omtrent lige sejglivede Former*. Undtagelsesvis vil der dog være Brug for Kogningen som Hjælpemiddel ved Isolationsforsøg.

Langt videre er man kommen med

B. Spredningsmethoderne.

Af disse er den ældste

1) Härrörsmethoden (Salomonsen 1876).

Udgangspunktet for denne Fremgangsmåde dannede Iagttagelsen af det rådende Blods Farveforandringer. Det ved Piskning defibrinerede, højrøde Oxeblood antager, som bekendt, under Forrådnelsen en sorterød eller rødbrun Farve, der dels skyldes Oxyhæmoglobins Afiltning, dels Farvestoffets Udtredelse af Blodlegemernes Stromata, dels andre kemiske Processer (Svovlbrintedannelse). Når Blodet umiddelbart efter Defibrineringen henstilles *roligt* i et Cylinderglas ved forholdsvis lav Temperatur, f. Ex. 10° C., så ser man, at Farveforandringen begynder *pletvis* hist og her i Blodmassen, og en nærmere Undersøgelse viser, at det er Bakterier (eller Skimmel- og Gjærsvampe), der fremkalder disse „*Forrådnelsespletter*“. Nærmest Bunden (se Fig. 24 c), hvor de tæt sammenstuede, sænkede Blodlegemer ligesom danne et *fast Legeme*, i hvilket Bakterierne voxe ligeligt til alle Sider, ere Pletterne *cirkelrunde, skarpe, sorterøde*; i de højere Lag (*b*) ere de *langagtige*, oftest kølleformede, have desuden mere *forvirkede* Konturer og ikke slet så mørk en Farve; i disse Lag ere Blodlegemerne nemlig suspenderede i en forholdsvis stor Mængde Serum, og

i denne *Vædske* kunne Bakterierne uafbrudt synke tilbunds og betegne deres Vej ved langagtige Pletter eller Striber.

Vil man nu benytte sig af de beskrevne Forhold til at skaffe sig *ren* Udsæd af de forskjellige Forrådnelsesbakterier, der voxe i Blodet, behøver man blot at opsuge det defibrinerede Oxeblood i *lange* (50—60 Ctm.) *Glashårrør* af $\frac{1}{2}$ til 1 Mm.s Tykkelse, anbringe dem på $3\frac{1}{2}$ Ctm. brede, grå *Kartonstrimler* ved Hjælp af 2 Lakdråber*), der

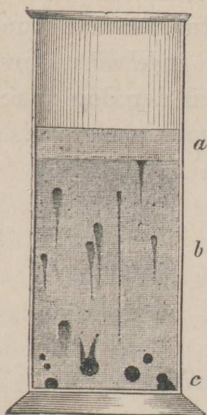


Fig. 24. Cylinderglas med pisket Oxeblood, hvori Forrådnelsespletter. a. Serumlag. b. Cruorlag med opstemmede Blodlegemer og *langagtige* Pletter. c. Cruorlag med bundfældede Blodlegemer og *cirkelrunde* Pletter.

på én Gang lukker for Hårrørens Ender og fæster dem på Kartonen; de henlægges derpå ved Stuevarme til daglig Iagttagelse, og Forrådnelsespletterne ville nu snart indfinde sig, nogle kort efter Blodets Udtømmelse, andre først mange Dage senere, — nogle bredende sig med overordentlig Hastighed, andre kun langsomt voksende. Pletternes Løbenummer, Tidspunktet for deres Fremtræden, så vel som deres Væxt fra Dag til Dag kan let noteres på Kartonen; Væksten angives bedst ved Blyantstreger, der hver Morgen og Aften linieres på den Fig. 25 angivne Måde. Billedet, som viser den ene Ende af en Karton med fastlakket Hårrør, hvori tre Forrådnelsespletter, gjør enhver nærmere Beskrivelse overflødig.

Forrådnelsespletterne stamme fra de Bakteriekim, der tilfældigvis ere tilbandede Blodet under Slagtningen; man kan derfor i det ene Individ's Blod finde mange, i det andets få Pletter, men i *hver Plet finder man kun én Bakterief orm*. Når derfor Pletterne ligge forholdsvis langt fra hinanden

*) Som en fortræffelig Lakmasse kan anbefales følgende: 8 Dele Harpix sammensmeltet under stadig Omrøren med $2\frac{1}{2}$ Del Vox; af én Del tyk Terpentin tilsætter man dernæst i små Portioner så meget, at en Dråbe af den smeltede Masse hurtigt stivner, når man lader den falde ned på en Glasplade. En anden god Lakmasse er: Cire Galoz (fås hos Alvergniat frères, 10 rue de la Sorbonne, Paris).

i Rørene, således at de ej flyde sammen, danner hver af dem en lille Renkultur, fra hvilken man kan tage ren Udsæd af en bestemt Bakterief orm. Ved denne Fremgangs-

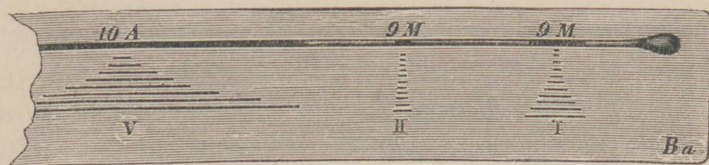


Fig. 25. Den ene Ende af en Kartonstrimmel med påklæbet, blodfyldt Hærrør; i dette tre Forrådnelsespletter. På Kartonen er indskrevet Tiden (10 A = den 10de om Aftenen, 9 M = den 9de om Morgen) for Pletternes Optræden, deres Væxthastighed (angivet med Streger) og deres Løbenummer (I II V).

måde blev tillige for første Gang en broget Forrådnelsesflora opløst i sine Elementer, således at Kimenes Antal, Tiden for deres Optræden, deres Væxthastighed o. s. v. kunde fremstilles rent tabellarisk.

2) Fortyndingsmetoden (Lister 1878 [Nægeli 1879])

består i at fortynde en bakterieholdig Vædske så stærkt med kimfrit Vand, at et bestemt Rumfang af Blandingen kan antages kun at komme til at indeholde én eneste Kim, og derpå udså et sådant Rumfang. I Kulturkolben danner da denne ene Kims Afkom en fuldstændig Renkultur.

Når en Vædske f. Ex. i 1 Cc. indeholder 5000 Bakteriekim, så vil man kunne få en Renkultur fra en eller flere af disse Kim på følgende Måde: Til en Liter steriliseret Vand sættes $\frac{1}{10}$ Cc. af den bakterieholdige Vædske, og Blandingen rystes meget omhyggeligt. Når Kimene ere fuldstændigt lige-
 ligt fordelt i Vædsken, vil der være gennemsnitlig $\frac{1}{2}$ Kim i hver Kubikcentimeter, og udsår man nu med en steriliseret Målepipette Blandingen i en Række Kulturapparater, således at der kommer 0,05 Cc. i hvert, vil der i omtrent Halvdelen af Glassene ingen Bakteriekim indføres — og altså ingen Bakterieu udvikling komme; i de øvrige Glas vil der efter al Sandsynlighed kun indføres én Kim, — og altså udvikle sig en Renkultur. Lister opfandt og benyttede denne Methode til

Rendyrkning af Mælkesyrebacillen; uafhængigt af ham har *Naegeli* ved Hjælp af Fortyndingsmetoden rendyrket en urinstofdekomponerende Mikrokok. Om Fremgangsmådens Enkeltheder se nedenfor i Kapitel VII.

3) *Rendyrkning ved Hjælp af faste (særligt smeltelige, gelatinerende) Næringssubstrater* (Koch 1881)

består i at fordele *Kimene* på eller i faste Næringssubstrater, hvor de da senere, når de udvikle sig, kunne danne vel adskilte Kolonier.

Når man har en Kulturflaske som den Fig. 11 VII afbildede, hvis Bund er dækket med et tyndt Lag Næringsgelatine, og man bringer dette til at smelte ved nogle og tredive Grader, tilsætter en ganske lille Dråbe bakterieholdig Vædske, fordeler den omhyggeligt i Gelatinen ved forsigtig Rystning (se nedenfor Kap. VII), atter lader Blandingen stivne og henstå ved Stuetemperatur, så vil der efter nogen Tids Forløb rundt om i Limen dukke små Kolonier op — hver stammende fra én Kim — og den rene Udsæd er tilvejebragt.

Dette er kun én af de mange Former, under hvilke den Kochske Rendyrkningsmethode kan komme til Anvendelse; i et følgende Kapitel om den bakteriologiske Analyse vil Metoden blive udførligt behandlet i sine Enkeltheder og Tilæmpninger.

Med Benyttelse af de nævnte Fremgangsmåder kan man forholdsvis let skaffe sig *ren Udsæd* af alle de Bakterierformer, som vi overhovedet formå at dyrke; det gjælder nu blot om på den hensigtsmæssigste Måde at overføre den i Kulturapparaterne.

KAPITEL V.

Såning.

Overførelsen af den rene Udsæd til et af de beskrevne Kulturapparater er forholdsvis let. Den uundgåelige Åbning

at de forskjellige Beholdere og Udsædens Transport gennem Luften medfører selvfølgelig Fare for en Forurensning; men denne Fare er meget ringe, og når man arbejder *forsigtigt og hurtigt*, mislykkes Såningen kun i et aldeles forsvindende Antal Tilfælde.

De *Sånings-Redskaber*, som man altid bør have til sin Rådighed ere:

1) *Platinpodenåle* (Koch), 2) *lange Glashår-rør*, 3) *Pasteurske Pipetter*, 4) *Glasnåle*.

1) *Platinpodenålen* består af en omtrent 27 Ctm. lang og 4—5 Mm. tyk Glasstang, i hvis ene Ende en 4—5 Ctm. lang Platintråd er indsmeltet på den Fig. 26 angivne Måde. Umiddelbart før Brugen flammerenses Glasstangens Overflade, og Platintråden gjøres glødende i hele sin Udstrækning; når denne efter få Sekunders Forløb atter er tilstrækkeligt afkølet, bringes den i Berøring med Udsæden, og føres hurtigt over i Dyrkningssubstratet.

Man bør have nogle *ganske tynde* og nogle lidt *tykkere* Platinnåle til Disposition; de første have den Fordel fremfor de sidste, at de afkøles hurtigere efter Glødningen, de sidste derimod ere mindre bøjelige og kunne derfor benyttes, når man vil jage Nålen ind i et eller andet mere resistent Organ som Lever eller Lunge.

Et i en Glasstang indsmeltet, *meget tykt, kort* Stykke Platintråd, hvis frie Ende er hamret flad („Platinspatel“ Fig. 26 d) gør også undertiden god Nytte, når Udsæden skal *gnides ind* i faste Substrater.

Den tynde Platinnål kan man alt efter Omstændighederne give forskjellig Form f. Ex. bøjé i ret *Vinkel* (Fig. 26 b), når man ønsker at *ridse* Udsæden ind på en Gelatineflade, eller forme til en *Øsken* (Fig. 26 c), så at

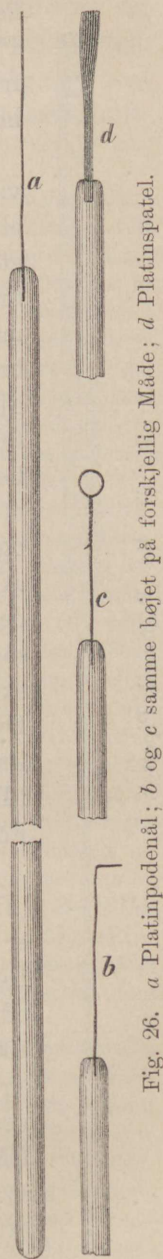


Fig. 26. a Platinpodenål; b og c samme bøjé på forskjellig Måde; d Platinspatel.

den kan fange en Vædske dråbe; Øskenen må være helt lukket; den dannes bedst derved, at man bøjer Platintråden om en Glasstang og derpå snor dens frie Ende og dens Midterparti spiralformigt om hinanden.

Når Såningen skal foretages gennem en forholdsvis snæver Åbning, som Glasstangen kun vanskeligt eller slet ikke kan passere, så kan man enten benytte et *tilstrækkeligt langt Stykke Platintråd*, eller man kan bruge små 5—6 Mm. lange Stykker Platintråd, som man fatter med en steriliseret Pincet, udgløder, bringer i Berøring med Udsæden og lader falde ned gennem den snævre Åbning i Kulturkolben. Selvfølgelig kan i slige Tilfælde også Hårrør og Glasnåle benyttes.

2) *Hårrørene* bør have en Længde af 20—25 Ctm. og være tilsmeltede ved begge Ender. Før Brugen afbrækkes Rørets ene Ende, dets Udside flammerenses, den åbne Ende dyppes ned i den Vædske, der skal sås, og først da afbrækkes den anden Ende. Vædsken stiger nu op i Røret. Indholdet *pustes* ud i Dyrkningsapparatet, ved hvilken Lejlighed man må sørge for *ikke at puste det helt tomt*, men lade en lille Vædskesøjle blive i Røret for at undgå mulig Forurensning fra den indblæste Lufts Side.

3) *Den Pasteurske Pipette* består, som Afbildningen (Fig. 27) viser, af et Stykke Glasrør, hvis ene Ende er lukket med en Vatprop, der ej må nå udenfor Rørets Rand, medens den anden Ende er trukket ud i et smeltet Hårrør; det hele steriliseres ved 150°. Før Brugen afbrækkes den tilsmeltede Spids, og Hårrørsenden flammerenses. Pipetten fyldes ved Sugning og tømmes ved Udpustning. Fremfor Hårrørene have de Pasteurske Pipetter den Fordel, at de ere rummeligere, samt at de tillige kunne bruges som Dyrkningsapparater, når den kapillære Ende på ny tilsmeltes umiddelbart efter Fyldningen (se iøvrigt om Pipettens Brug Kap. XI).

Fig. 27. En „Pasteursk Pipette“.



4) *Glasnålene* d. v. s. Glasstænger, som ere udtrukne i et ganske tyndt Afsnit (af indtil 15 Ctm. Længde) udmærke sig fremfor Platinnålene ved deres fuldkomne *Glathed* og *Stivhed*, der undtagelsesvis kan være af Betydning (f. Ex. når man ved Stikkulturer af anaërobe Former vil undgå at føre små Luftblærer ned i Gelatinen).

Alle disse fire Podeapparater kan man let selv fabrikere ved Hjælp af en almindelig Bunsens Gasbrænder eller en god Spritlampe. (Et Glasblæseapparat letter naturligvis Arbejdet, men er ikke nødvendigt).

a) *Podenålen*. En omtrent 4 Mm. tyk Glasstang deles i Stykker af 25—30 Ctm.s Længde. Der, hvor man ønsker Stangen delt, behøver man blot med en almindelig fin, *trekantet Fil* at file en lille Tværfure af 1—2 Mm.s Længde; Stangen lader sig da uden Vanskelighed brække over på det indfilede Sted. Den Ende af Glasstangen, i hvilken Tråden skal smeltes ind, holdes under stadigt omdrejende Bevægelser med venstre Hånd ind i Flammen, indtil den er glødende og blød; samtidigt fattes Platintråden med en Pincet omtrent 5 Mm. fra Enden af; dette 5 Mm. lange Stykke gjøres ligeledes glødende og trykkes nu sindigt ind i Glasstangens Ende i Retning af dens Axe. Derpå lader man *langsomt* afkøle, idet man holder Glasset nogle Sekunder i Flammens Nærhed. Endelig afrundes den skarpe Rand ved Glasstangens *anden* Ende, idet man under omdrejende Bevægelser gløder den let i Flammen — og Podenålen er færdig.

b) *Hårrør*. Et Glasrør af 6—8 Mm.s Tværmål lader sig let trække ud til Hårrør på følgende Måde: Først gjør man under stadige og hurtige omdrejende Bevægelser i Flammen Røret glødende på en kortere Strækning (1—2 Ctm.); når det er fuldstændigt blødt, tages det ud af Flammen og trækkes ud i et omtrent 2 Alen langt Hårrør, som derpå afsmeltes fra de uforandrede Afsnit af Glasrøret. Ligeledes ved Hjælp af Flammen kan man på én Gang *dele* det lange Hårrør i Stykker af den ovenfor angivne Længde og *tilsmelte* disse for Enderne. Den stærke Glødning og den umiddelbart derefter stedfindende Af- og Tilsmeltning garanterer Rørenes Kimfrihed. — Jo *videre* det benyttede Glasrør er, i jo *større Udstrækning* det er smeltet, jo *langsommere* og jo *kortere* det trækkes ud, — desto *videre* bliver Hårrøret og omvendt. Når man erindrer dette, kan man let prøve sig frem, indtil man træffer den Vidde af Hårrørene, som man i det givne Tilfælde ønsker.

c) *Pasteurske Pipetter*. Et Glasrør deles ved Hjælp af den trekantede Fil (se ovenfor) i Stykker på 15 Ctm.s Længde; et sådant Stykke bliver på Midten glødet i Flammen under stadig Omdrejning; derpå, som ovenfor beskrevet, trukket ud i et omtrent 30 Ctm. langt kapillært Parti, som gennem- og tilsmeltes på Midten; således får man to Pipetter. De skarpe Rande, der omgive deres åbne Ender, afrundes nu ved kortvarig Glødning i Flammen; efter Afkølingen anbringes Vatpropperne, og man steriliserer definitivt ved 150°. Ganske på samme Måde som de Pasteurske Pipetter trækkes

d) *Glasnålene*; kun benyttes hertil ikke Glasrør, men Glasstænger.

For at få Lejlighed til at fremhæve de mange små Håndgreb, der ere nødvendige, når man med Sikkerhed vil udføre en Rensåning, gives her en i det enkelte gående Skildring af A) *en Såning med Podenål i et gelatinefyldt Reagensglas* og af B) *en Såning ved Hjælp af små Platintrådsstykker i en vædskefyldt Kulturkolbe med snæver Hals*.

A. Man udvælger nogle (ikke indtørrede [se Side 51]) gelatinefyldte Reagensglas og overbeviser sig om, at deres Vatpropper ikke ere fastklitrede til Væggene, ved gentagne Gange at dreje Propperne rundt. Podenålen steriliseres, idet dens Glasstang trækkes flere Gange frem og tilbage gennem Flammen, og Platintråden glødes i hele sin Udstrækning. Når Nålen efter nogle Sekunders Forløb er afkølet, åbner man det Reagensglas, fra hvilket der skal sås, idet man med Fingrene fjerner Vatproppen under *omdrejende* Bevægelse og på denne Måde tvinger de eventuelt fastklitrede Vattråde til at lægge sig op ad Glassets Vægge og ikke forhindre Nålens Passage. Reagensglasset holdes med *Bunden nedad eller opad, alt eftersom den Bakterie, der vover i det, har smeltet Gelatinen*

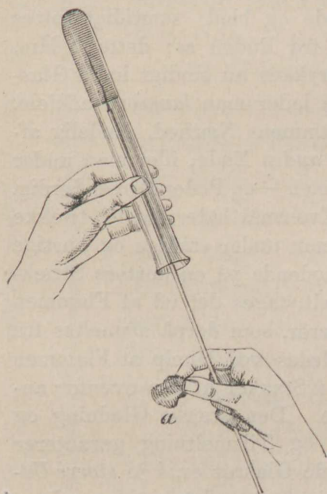


Fig. 28. Såning i et gelatinefyldt Reagensglas.

eller ej. Vatproppen holdes således, at dens indad mod Reagensglasset vendende Flade ej kommer i Berøring med noget kimholdigt Legeme. Nålen føres nu hurtigt ned (eller op) i Bakteriekulturen, trækkes atter ud, og Glasset lukkes. Når dette er sket, bliver det utilsæede Gelatineglas, der holdes med Bunden i Vejret, hurtigt åbnet under omdrejende Bevægelse af Vatproppen, og ligeså hurtigt stikkes Podenålen op i Limen (på et eller flere Steder); Vatproppen sættes atter i, derpå etiketteres med omhyggelig Angivelse af Dato, Udsæd o. s. v. Så snart Såningen er tilendebragt, *renses Podenålen atter ved Glødning*. Fig. 28 oplyser disse Håndgreb.

B. Kulturkolbens Overflade atterres omhyggeligt, hvorpå nederste Del af Kautschukrøret og det tilstødende blottede Parti af Halsen flammerrenses i Gas-(Sprit-)flammen; Kautschukslangen skydes nu lidt til Vejrs, så at den sidder ganske løst over Halsen, og let kan fjernes med én Hånd. En steriliseret Pincet anbringes på et Par af de ovenfor omtalte Glasbænke eller henstilles i et lavt Cylinderglas; små Stykker Platintråd holdes beredte i en Glasskål; en sådan lille Platintråd fattes i den ene Ende med Pincetten, således at de indbyrdes danne en ret Vinkel; Tråden glødes, afkøles, dyppes i den Bakteriekoloni, fra hvilken man vil så; derpå åbnes Kulturkolben hurtigt med venstre Hånd; man lader Platintråden falde ned gennem den snævre Åbning, sætter atter Rørproppen *fast på* og etiketterer.

KAPITEL VI.

Varmekasser.

Hovedmassen af de hidindtil kjendte og dyrkede Bakterier trives ved almindelig „Stuetemperatur“ (15—20° C.). Når man altså kun ønsker at holde Kulturerne vedlige, kan man i Almindelighed nøjes med at henstille dem i sin Stue; man vil da se dem efter kortere eller længere „Incubationstid“ spire frem og få Lejlighed til *med blotte Øje* at iagttage den store *Ulighed*, der ofte findes mellem de forskellige Bakteriearters Kulturer. Imidlertid er det hyppigt nødvendigt at dyrke Bakterierne ved en *højere og mere ensartet* Temperatur end den, der som Regel findes i vore Beboelsesværelser; thi nogle Bakterierformer udvikle sig kun *livligt* ved højere Temperatur, andre trives *aldeles ikke* ved Temperaturgrader under 30°, nogle Arter kræve høj Varme for at *sætte Sporer*. Desuden kan jo, som *Pasteur* først har vist, Dyrkning ved høj Temperatur forandre Bakteriernes fysiologiske Karakter og benyttes til Fabrikation af „Vacciner“. Ofte er det også ønskeligt at dyrke en Mikroorganisme gennem længere Tid ved *samme* Varmegrad — aldeles bortset fra dennes Højde.

Hertil benyttes „Thermostater“ 1: *Drivhuse*, i hvilke *Temperaturen holdes uforandret* på samme Punkt Uger og Måneder igjennem. Vedligeholdelsen af samme Varmegrad er forbunden med visse Vanskeligheder, idet *for det første* Temperatursvingningerne i Værelset, hvor Thermostaten står, virker forstyrrende; den må man søge at modvirke ved at gjøre Beklædningen med slette Varmeledere så omhyggelig og solid som muligt og eventuelt henstille Thermostaten i et Kjælderum, hvor Varmegraden svinger forholdsvis lidet; — *for det andet* virker Svingningerne i *Varmekildens Styrke* forstyrrende, og navnlig bliver dette føleligt, når man benytter Gas, da Gastrykket kan variere betydeligt i Døgnet Løb; herpå kan man råde Bod ved Hjælp af *Trykregulatorer* (W. Nr. 381. R. Nr. 163—173) og *Varmeregulatorer* af forskellig Konstruktion.

En lille hensigtsmæssig, forholdsvis billig, selvregulerende Thermostat er den Fig. 29 afbildede. Det er en firkantet Kasse af Zink- eller Kobberblik, anbragt på et Båndjærnsstativ med c. 24 Ctm. høje Fødder; af Kassens 6 Vægge er den øverste og nederste, samt de tre Sidevægge dobbelte, og det overalt $2-2\frac{1}{2}$ Ctm. brede Rum mellem dem kan fyldes

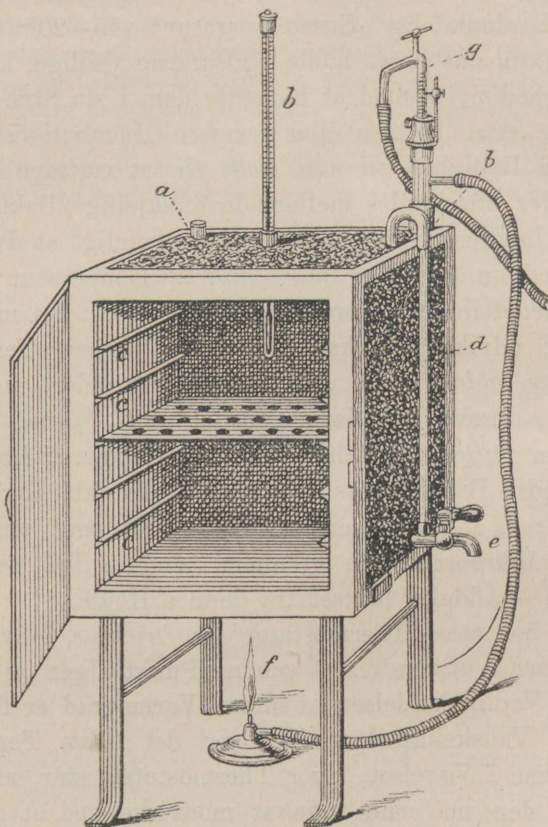


Fig. 29. Filtbeklædt Varmekasse med Thermoregulator.

helt med Vand gennem Åbningen *a*, som efter Påfyldningen lukkes med en Prop, den fjerde Sidevæg er enkelt og tjener til Dør. Midt i øverste Væg er en 3 Ctm. vid Åbning; i denne anbringes en Prop med et Thermometer *h*, som rager ned i Kassens Indre og kan aflæses, uden at man behøver at åbne Thermostaten. (Helst bør man tillige have et Thermo-

meter *stående inde i* Thermostaten i et med Olje fyldt Cylinder-glas; Oljen bevirker, at Thermometret ikke synker så hastigt, når man tager Glasset ud for Aflæsningens Skyld). På Indsiden af de to modstående Sidevægge findes en Del smalle fremspringende Lister (*cc*), på hvilke man kan lægge Glas eller Blikhylder og således skaffe Plads for et større Antal lave Gjenstande. Kassen er udvendigt beklædt med Filt, forsynet med Vandstandsrør (*d*) og Afløbshane (*e*).

Den opvarmes ved Hjælp af en *Bunsensk Brænder*, hvis *Skorsten* er afskruet, så at den giver en spids, lysende Flamme; man kan da regulere den lille Flamme meget fint og undgår, at den „slår ned“. *Temperaturen holdes konstant ved Hjælp af Regulatoren g*, som er anbragt i Åbningen *b*.

To almindeligt benyttede, gode *Regulatormodeller* findes afbildede Fig. 30—31; af disse er navnlig den *Rohrbeckske* (Fig.

31) at anbefale. — Fig. 30 viser den *Reichertske* Regulator. Gassen træder ind ved *a*, går videre gennem Røret *e* og strømmer ud ved *c*. Når Regulatoren er anbragt i Thermostatsens Vand, og Thermometret viser den ønskede Temperatur, kan man ved at dreje på Skruen *d* indstille *Kvægsølv søjlen* således, at Udstømningsåbningen på Røret *e* just lukkes; dette vil dog ikke bevirke nogen Slukning*) af Flammen, thi på

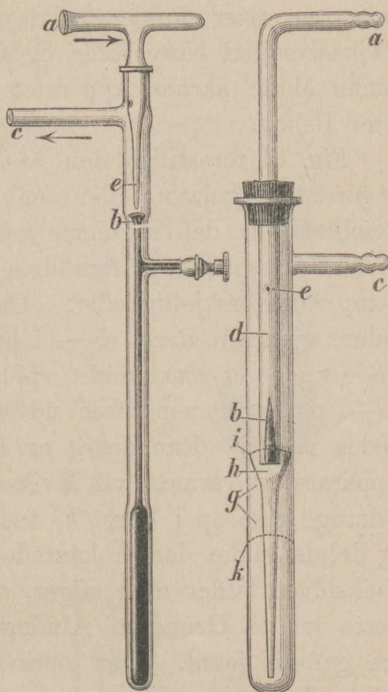


Fig. 30. Fig. 31.

Fig. 30. Reicherts Thermoregulator.

Fig. 31. Rohrbecks Thermoregulator.

*) *Nogen* Fare for, at en således „selvreguleret“ Flamme skal gå ud, er der dog naturligvis altid. For i så Fald at forhindre, at Gassen i rigelig Mængde skal strømme ud i Værelset og medføre Explosions-

det T-formede Indstrømningsrør er der anbragt en fin Reserveåbning, gennem hvilken der kan strømme så megen Gas, at Flammen vel holdes vedlige, men ikke bliver stor nok til at tilføre Thermostaten en kjendelig Mængde Varme. Hvis Temperaturen atter skulde synke under den ønskede Højde, vil Kviksølv søjlen påny falde og Gassen strømme rigelig til; på denne Måde skruer Apparatet selv Gasflammen op og ned efter Behov.

Fig. 31 forestiller den af *Rohrbeck* modificerede *Lothar-Meyerske* Regulator; den er noget finere mærkende end Reicherts, da den reguleres ved Hjælp af Kviksølv og *Æther*, hvis Dampspænding forandres forholdsvis stærkt ved små Temperaturforskjelligheder. Gassen træder ind ved *a*, går videre gennem Røret *d*, — i hvis Væg der ved dets nederste Ende findes et skarprandet, spidst tilløbende, trekantet Udsnit *b*, — og strømmer atter ud ved *c*; den fine Reserveåbning findes ved *e*. Rummet *g* er fyldt med *Æther*dampe. Når Apparatet opvarmes, vil Kviksølvet ved *Æther*dampenes Udvinding stige op i Røret *h*, f. Ex. til den punkterede Linie *i*, og delvis lukke den trekantede Åbning, der nu, alt eftersom Kviksølvet falder eller stiger, vil forstørres eller formindskes. Dette vil på Grund af Åbningens Form og Skarprandethed ske ganske jævnt. Den oprindelige Indstilling af Kviksølv søjlen sker ved, at man skyder Røret *d* op eller ned gennem Korkproppen. — Fig. 31 viser Regulatoren i sin tarveligste Form; den haves også i exaktere Udførelse; Røret er da af Stål og er indstilleligt ved Hjælp af en Skruegang (s. Fig. 29 *g*).

fare, har Koch konstrueret Brændere, der selv skrue til for Gassen, når de ved et Uheld slukkes (R. 179—81). I det hele bør man naturligvis ved Opstillingen af Thermostaten ikke forsømme at iagttage alle de selvfølgelig små Forsigtighedsforanstaltninger, som slige stedse brændende Apparater kræve: Man må sørge for, at Kautschukslangerne ere pålideligt fastbundne, helst må hele Apparatet stå på et brandfrit Underlag, f. Ex. en Metalplade, et Stykke Asbestpap; den lille Flamme kan ved et Lampeglass eller en Glimmercylinder skjærmes mod Lufttræk, man kan stille Brænderne og den dertil hørende Ende af Kautschukslangen i en Skål med Vand, der hindrer en for stærk Opvarmning af Slangen o. s. fr.

Fremfor disse almindeligt benyttede Modeller frembyder en af *Bohr* konstrueret Regulator (Fig. 32) betydelige Fordele. Den luftfyldte Beholder *a* anbringes med åbentstående Hane *b* i det Rum, hvis Temperatur skal reguleres; det forneden skråt afskårne Rør *d* må ved Forskydning i Proppen *g* være indstillet således, at dets nederste Spids just når ned under Kviksølvoverfladen, så at dets Åbning næsten helt lukkes ved en ringe Forskydning af Kviksølvet. Så snart den ønskede Varmegrad er nået, lukkes Hanen *b*, og enhver yderligere Stigen af Temperaturen vil nu bevirke en Udvidning af Luften i *a* og en Forskydning af Kviksølv søjlen, hvorved *d* lukkes, og Gassen kun passerer gennem Reserveåbningen *e*. Hvis Flammen ikke formindskes tydeligt, så snart Varmegraden stiger over det ønskede Grademål, må man tvinge den ned ved at indstille Røret *d* dybere. — Man erindre, *førend* man efter endt Forsøg slukker Gassen, at *åbne Hanen b*, for at Kviksølvet ikke skal blive suget over i Luftbeholderen.

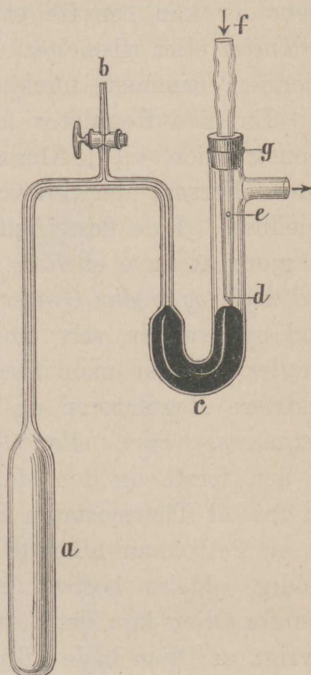


Fig. 32.

Bohrs Thermoregulator.

Bohrs Regulator udmærker sig for det første ved sin store Simpelhed, der gør det muligt for Enhver med Lethed at rense og påfylde den (Kviksølvet hældes gennem Åbningen *g* ned i den *vel tørrede* Glasbeholder), men desuden udmærker den sig fremfor de ovenfor beskrevne Modeller derved, at *det samme Exemplar kan benyttes ved en hvilken som helst Varmegrad*, der ligger under Glassets Smeltepunkt, og at den *med største Lethed kan indstilles* på enhver Temperatur. Den har endvidere *samme Finhed* ved enhver Varmegrad, og den Indflydelse, som *betydelige* Barometersvingninger have på dens (som på den Rohrbeckske

Models) Virksomhed, kan let udjævnnes ved, at man et Øjeblik åbner og atter lukker Hanen *b*.

Endelig fortjener det at bemærkes, at man ved Hjælp af Bohrs Regulator også *med Lethed kan holde konstant Middeltemperatur i større Rum*, idet man kan give Beholderen *a* en hvilkensomhelst Form og Størrelse og altså eventuelt som Beholder kan benytte et i den anden Ende hermetisk lukket (*tilknebet* eller *tilsmeltet*) langt Blyrør, som man lader forløbe gennem Rummets forskellige Dele.

En med Regulator forsynet Thermostat af den beskrevne Konstruktion vil i Almindelighed være tilstrækkelig selv til finere Forsøg, der kræve en konstant Temperatur Måneder igennem. I de fleste Tilfælde er det os jo imidlertid kun om at gøre at have et *Rum*, i hvilket vi kunne dyrke *Bakterierne ved nogle og tredive Grader*, og Thermostaten er da fuldkommen god og brugbar, selv om den i Dagens Løb svinger nogle få Grader. Stiller man ikke større Fordringer, så kan man helt undvære Regulatoren og nøjes med en sædvanlig lille *Gas*-, *Petroleums*-, *Sprit*- eller *Oljeflamme*. Af disse fire Varmekilder er den første og den sidste ubetinget at foretrække. Gå vi ud fra, at Thermostaten har sin Plads i vort Arbejdsværelse, så er Petroleum allerede på Grund af sin ilde Lugt mindre heldig, aldeles bortset fra dens Brandfarlighed. Sprit har fremfor Oljen kun det Fortrin at give en ikke sodende Flamme; iøvrigt er Oljen både billigere og kræver mindre Forsigtighed i Behandlingen. Bekvemmost er det naturligvis at bruge *Gas*, hvis man har den til Rådighed i Værelset. Da Gasflammen som Regel kun behøver at være *lille*, når en mindre Thermostat, som henstår i et beboet Værelse, skal holdes på 30—40°, så må man atter her helst benytte en *spids, sodende Flamme*, se ovenf. S. 65. Man prøver sig frem i nogle Dage, indtil man finder den passende Højde af Flammen, og kan, når den omgivende Lufts Temperatur ej varierer for meget, nøjes dermed. En *regelmæssigt* tilbagevendende (f. Ex. natlig) Forandring i Gasstrykket kan man let neutralisere ved at løfte eller sænke Brænderen lidt hvert Døgn på bestemt Tid. — Kan eller vil man ej bruge Gas, er *Olje* at anbefale, navnlig i den Fig. 33 afbildede Form: En stor Kumme fyldes indtil et Par Centi-

meter fra Randen med Vand (*d*), ovenpå dette hældes forsigtigt et 2 Ctm. højt Lag Olje (*e*), og i dette anbringes en eller flere af de små Svømmere (*f*) med dertil hørende Væge, som benyttes til Natlamper („Veilleuser“). En sådan Veilleuse giver en særdeles konstant Varme. Da Flammen ikke kan gjøres større eller mindre, gjælder det om at finde den passende *Afstand* mellem Flammen og Thermostaten, og just fordi denne

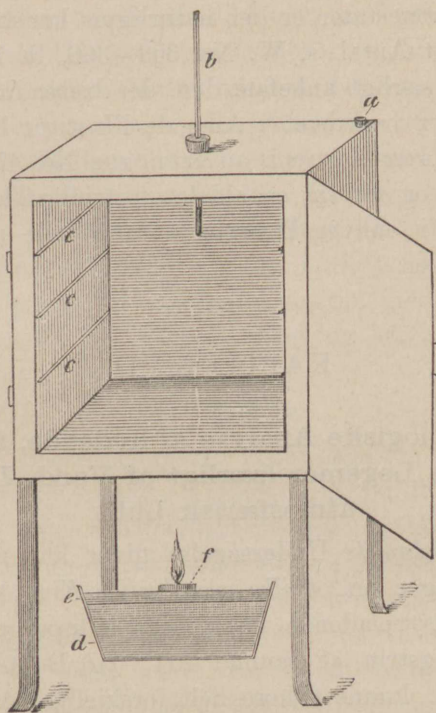


Fig. 33.

Simpel Varmekasse med Oljelampe.

Afstand så vidt muligt må holdes uforandret hele Døgnet igjennem, bør man anvende en *stor* Kumme og et *tyndt* Lag Olje, så at Vægen ved Oljens Svind ikke fjærnes for langt fra Varmekassens Bund. De små Væger bør fornyes hver Morgen og Aften.

På samme Billede (Fig. 33) ses endvidere en endnu *tarveligere* udstyret Thermostat end den Fig. 29 gjengivne. Den har ingen Regulator, intet Vandstandsrør, ingen Afløbshane

og ingen fast Filtbeklædning; den kan imidlertid altid let beklædes enten med firkantede *Filtstykker* eller med flade *Vatpuder*, af hvilke de fire kunne syes sammen langs deres sammenstødende Rande; den femte derimod, der dækker Døren, fastsyes kun med sin øverste Rand til den ene Naboplade, så at den kan klappes op, når Kassen skal åbnes, medens den *bindes* fast til de to andre Naboplader, når Døren er lukket.

Af større, mer eller mindre hensigtsmæssigt og luxuriøst udstyrede Thermostater er der naturligvis konstrueret et overordentligt stort Antal (s. W. No. 352—366, R. 107—130). Af disse kan jeg særligt anbefale den, der bærer *Roux's* Navn, og som af ham er beskrevet i Ann. de l'Institut Pasteur Bd. V, S. 158 (s. W. premier suppl. au catalogue No. 473—474). Den er ikke blot i og for sig en aldeles fortrinlig Thermostat, men overgår også i enhver Henseende langt alle andre mig bekendte Modeller.

KAPITEL VII.

Den bakteriologiske Analyse af flydende, faste og luftformige Legemer (særligt af Vand, Jord og atmosfærisk Luft).

Den *mikroskopiske* Undersøgelse giver kun meget mangelfulde Oplysninger om, *hvilke spiredygtige Kim* der findes i et Præparat. Tilsyneladende forskellige Mikroorganismer kunne være Udviklingstrin af samme Art, og Bakterier, som se ganske ens ud, kunne tilhøre helt forskellige Arter; desuden kunne ingenlunde alle Bakteriekim diagnosticeres som sådanne under Mikroskopet, og de levende ikke med Sikkerhed skjelnes fra de døde. Gjælder det blot om at få afgjort, om denne eller hin *bestemte* virulente Bakterieform findes i en Vand- eller Jordprøve, og er det en af de *på Dyr inokulable* Former, så er *Indpodning* undertiden et brugeligt Middel til at få Spørgsmålet besvaret. *Vandet* indsprøjter man, alt efter Omstændighederne, under Huden, i Peritonæalhulen, i Venerne på et passende Forsøgsdyr; *Jorden* kan lægges ind i en under antiseptiske Kauteler med Kniv og Pincet frembragt lille Poche

i det subkutane Væv, hvilken atter lukkes med en Suture. *Luftens* Bakterier opsamles først i et steriliseret Sandfilter (se ndf. under Luftanalyse), som derefter indpodes ligesom Jordprøverne. Men en tilfredsstillende bakteriologisk Analyse kan umuligt anstilles uden Anvendelse af passende *Dyrkningsmetoder*. Disse Dyrkningsmetoder er det af særlig Interesse for Lægen at kjende; de danne det betydningsfuldeste Led i den hygiejniske Vand-, Jord- og Luftundersøgelse, og ere efter Koleraspirillens og Difteribacillens Opdagelse blevne medoptagne blandt de vigtigste kliniske Undersøgelsesmetoder. — Til en udtømmende bakteriologisk Analyse hører, foruden Artsbestemmelsen af de tilstedeværende Organismer, Bestemmelsen af deres *Mængde*; men af let forståelige Grunde er så vel ved de hygiejniske som ved de kliniske Undersøgelser, hvortil der ovenfor hentydedes, den *kvalitative Analyse oftest af ganske overvejende Betydning i Sammenligning med den kvantitative*.

I det Følgende vil nu den bakteriologiske Analyse blive behandlet særskilt for *flydende, faste og luftformige* Legemers Vedkommende.

A. Vædske.

Ved den bakteriologiske Vædskeanalyse kunne alle de ovenfor i Kap. IV omtalte Fremgangsmåder finde Anvendelse; af disse ere atter *Fortyndingsmetoden* og *Kimspredningen i Næringsgelée* de to Hovedmetoder, til hvilke vi som Regel tage vor Tilflugt. Den sidstnævnte Fremgangsmåde, der først er angivet af *Koch* og af ham uddannet til en høj Grad af Fuldkommenhed, fører i det overvejende Antal Tilfælde alene til Målet og skal derfor her behandles med særlig Udførlighed.

I. Spredning i Nærings-Gelée.

1. Ridskulturer.

a) På Objektglas.

Sine første analytiske Pladespredninger foretog *Koch* som „Ridskulturer“ på Objektglas: Tre à fire sterile Objektglas lægges Side om Side på et rent Underlag (f. Ex. et Stykke Silkekardus) og dækkes med en omvendt, flad, steriliseret Glas-tallerken; en ringe Mængde Næringsgelatine smeltes, idet man passer på kun at opvarme den til nogle få Grader over dens

Smeltepunkt, Glastallerkenen løftes, og Gelatinen bliver nu med en steril Pipette hurtigt udbredt i langagtige Dråber på Objektglassene, idet man søger at undgå, at den løber helt hen til Randene (s. Fig. 34); Glastallerkenen sættes atter på, og under denne lader man Gelatinen stivne. Når dette er sket, foretages Såningen med en retvinklet bøjet Platinnål (s. Fig. 27 b), der dyppes i den kimholdige Vædske, og med hvilken man dernæst *ridser en Række Tverfurer* hen over Gelatinen, som Fig. 34 viser. Efter nogle Dages Forløb dukke så Bakteriekolonierne op i Podefurerne, tættest og ofte helt sammenflydende i de først ridsede (til venstre paa Figuren), sparsommere og *vel adskilte i de sidste*. En god Hjælp til at kjende de fra Luften stammende Forurensninger af slige Ridskulturer har man deri, at de næsten altid ville falde *mellem* Podefurerne, som antydnet ved den Fig. 34 afbildede Skimmelkoloni.

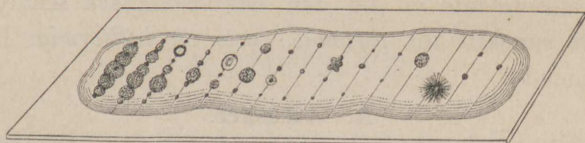


Fig. 34.

Objektglas med Næringsgelatine, hvori 15 Podestriber med talrige Bakteriekolonier. Lidt til højre for 13de Poderids en Skimmelkoloni, der skyldes tilfældig Forurensning fra Luften (Halvskematisk).

Denne Fremgangsmåde er nu helt forladt til Fordel for den nedenfor beskrevne Pladespredning i smeltet Gelatine; dog benyttes Spredning i Ridskulturer meget, når man har med *ikke smeltelige Substrater* at gjøre, f. Ex. stivnet Serum, og man foretrækker da at foretage den

b) i *Reagensglas* (Flasker eller Tallerkener).

Man benytter hertil tre vatlukkede Reagensglas (eller Flasker), i hvilke Næringsgeléen er stivnet med stor skråtstillet Overflade, og ved Hjælp af den med Udsæden ladede Platinnål ridser man i hvert Glas 2—4 Podestriber eller *ganske overfladiske Podefurer*, begyndende nærmest Bunden og langsomt dragende Nålen hen mod Munden. Der er da en Chance for, at i det mindste de sidste, respektive 6te eller 12te Pode-

rids i det sidst tilsæede Glas vil indeholde *isolerede* Kolonier. Denne Fremgangsmåde anvendes f. Ex. ved Rendyrkning af Difteribacillen fra de membranøse Belægninger.

2. Spredning i smeltet Gelée.

I det langt overvejende Antal Tilfælde foretage vi imidlertid Spredningen efter Kochs Angivelse således, at den *kimholdige Vædske omhyggeligt blandes med smeltet Næringsgelatine*; Blandingen udbredes derpå i et tyndt Lag, som man lader stivne, og som holdes beskyttet mod Fordampning og Forurensning fra Luftens Side. Blandingen og Spredningen kan selvfølgelig foretages i de mest forskellige Beholdere, blandt disse er der fem, ved hvilke vi særligt skulle dvæle.

a) Glasplader.

Udrustningen til og Fremgangsmåden ved Udførelsen af en „Kochsk Pladekultur“ er i alle sine Enkeltheder følgende:

a) *Pladerne.* Rektangulære Glasplader ($6\frac{1}{2} + 12$ Ctm.) renses, poleres med Skind og tørsteriliseres ved 150° , vel indpakkede i Papir, af hvilket de først pakkes ud umiddelbart før Brugen.

β) *Såning.* Reagensglas, der indeholde omtrent 5 Cc. Næringsgelatine, opvarmes, indtil denne er fuldstændigt smeltet; man overbeviser sig ved at føle på Glassene om, at Gelatinen ej er over omtrent $30-40^{\circ}$ varm, og tilsætter nu med Platin-øksen eller Pipette den Vædske, der skal analyseres (s. Kap. V, smlg. S. 76).

γ) *Blandingen* af Gelatinen og den bakterieholdige Vædske må foretages *grundigt*, så at Kimene blive *ligeligt* fordelt over hele Geléen; man må imidlertid *ikke ryste Gelatinen*, så at den skummer; for at undgå Skummen holder man Reagensglasset lodret og lader det gjentagne Gange beskrive en stor Cirkel i samme vandrette Plan; ved Centrifugalkraften sættes da Indholdet i en så livlig Bevægelse, at Blandingen bliver fuldstændig, uden at der rystes Luftblærer ind i Gelatinen.

δ) *Kjøleapparatet.* Et brugbart Kjøleapparat kan man let sammensætte sig på følgende Måde (se Fig. 35): På en almindelig Porcellænstallerken (a) stilles et af de meget benyttede

lave Præparatglas med sleben Krave (*b*), i dette lægges nogle Stykker Is, og der hældes forsigtigt Vand i, indtil dette står med en let hvælvet Overflade uden at løbe over; nu lægges en

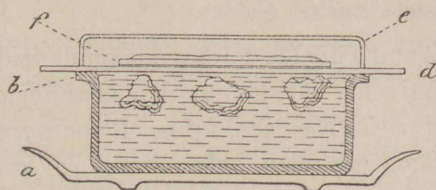


Fig. 35.

Et simpelt Kjøleapparat. Skematisk.

Præparatglassets Rand og ned på Tallerkenen. Endelig stilles en steriliseret Glastallerken (*e*) med Bunden i Vejret som „Klokke“ ovenpå Glaspladen — og Kjøleapparatet er færdigt.

e) Udbredning og Afkøling. En af de rektangulære Glasplader udpakkes, lægges hurtigt ind under Glasklokken (den omvendte Glastallerken, se Fig. 35 *e*), hvor den snart bliver afkølet af Isvandet. Vatproppen tages ud af Reagensglasset, hvis Rand hurtigt flammerenses; derefter løftes Glasklokken, og den endnu flydende Gelatineblanding hældes *forsigtigt* og *langsomt* ud over Glaspladen, idet man sørger for, at den ikke

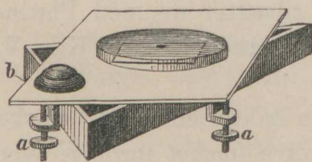


Fig. 36.

Nivellerstativ med Dæselibelle (*b*) og Plade.

flyder for langt ud mod Randen, endsige ud over den. Glasklokken sættes atter over Pladen for at dække den, medens Gelatinen stivner. Jo mere nøjagtigt horizontalt Glaspladen står, desto bedre. Strømmer Gelatinen hen i en bestemt Retning, fordi Pladen ikke ligger horizontalt, kan man let, *idet man fatter Tallerkenen med begge Hænder,*

rette på Pladens Stilling og styre Gelatinens Løb *), indtil den

*) Bekvemmere er det naturligvis i Forvejen at stille Pladen horizontalt ved Hjælp af det Fig. 36 afbildede Nivellerstativ, der består af en trekantet Træramme med to Stilleskruer *a a*; over Trærammen lægges en løs Glasplade, på hvilken Kjøleapparatet og et Vandpas (*b*) kunne stilles

er stivnet tilstrækkeligt. Stivner den for hastigt, inden den har bredet sig ud over et tilstrækkeligt stort Parti af Glaspladen, kan man ved Hjælp af en steril, (ikke for stærkt!) opvarmet Glasstang fordele den bedre. Reagensglasset, i hvilket der altid bliver nogle Dråber Gelatine tilbage, lukkes atter med sin Vatprop, etiketteres, rulles nogle Minutter (smlg. nedenf. S. 77) eller henlægges i horizontal Stilling, så at Gelatineresten i det stivner i et tyndt Lag, og opbevares som *Supplement* til Pladekulturen, der, såsnart den er helt stivnet, ligeledes etiketteres og flyttes fra Kjøleapparatet over i et

ζ) *Fugtigt Kammer*. Til en enkelt Plade kan et Par af de Fig. 17 afbildede flade Glastallerkener passende benyttes som fugtigt Kammer. Som Regel har man imidlertid at gjøre med flere Pladekulturer af samme Vædske (se nedenf. ι); i så Fald benytter man en *Osteklokke*, der stilles i en af de almindelige riflede *Lerspyttebakker*. Før Brugen behøver man kun med 1 pro mille Sublimatopløsning at afskylle Klokken og Bakken, i hvis Bund der desuden lægges et Par Lag *Filtréerpapir*, vel vædet med Sublimatvand. I dette fugtige Kammer anbringes nu Pladerne på små (Glas- eller) Metalbænke, der kan stables ovenpå hverandre; *Zinkblikbænke* af den Fig. 37 afbildede Form ere meget hensigtsmæssige på Grund af deres Holdbarhed; de kunne før Brugen let steriliseres ved 150°.



Fig. 37.

Bænk af Zinkblik til Anbringelse af Pladekulturer.

η) *Undersøgelsen* med blotte Øje bør foretages dels på hvid, dels på sort Grund (hvidt Skrivepapir, sort Glandspapir), da mange Farveforskjelligheder mellem Kolonierne først træde tydeligt frem på denne Måde. Iøvrigt erindre man, at lige gamle Kolonier af samme Bakterie på samme Gelatineplade kunne frembyde store Forskjelligheder med Hensyn til Omfang, Form og Farve, alt eftersom de voxe i *Overfladen* af Gelatinen eller i dens *dybere* Lag. *Tællingen* af Kolonierne foretages bedst ved Hjælp af svag *Loupeforstørrelse* og lettes betydeligt, når Pladerne lægges ovenpå en anden Glasplade, i hvilken der er indslæbet en *Kvadratcentimeterdeling*.

9) Den *mikroskopiske* Undersøgelse af Pladen lader sig uden Vanskelighed foretage selv med temmeligt stærke Forstørrelser; vil man sikre sig at kunne overse Pladekulturerne i *hele* deres Udstrækning, må man bruge endnu mindre Plader end de ovenfor beskrevne, f. Ex. almindelige *store Objektglas*.

c) Da man ej i Forvejen kan beregne, hvor mange Kim man i de enkelte Tilfælde sætter til Gelatinen, bør man gjøre sig til Regel altid at anlægge *tre Pladekulturer* ad Gangen i *tre forskellige Fortyndinger*; dette gjøres bedst på følgende Måde: Gelatinen gjøres flydende i 3 Reagensglas, som etiketteres Nr. 1. 2. 3.; når Nr. 1 er tilsæt med Platinnål eller Pipette, og Blandingen er omhyggeligt foretaget, bliver der — henholdsvis med Nål eller Pipette — sæt over fra Nr. 1 i Nr. 2; man blander atter omhyggeligt og sår på lignende Måde fra Nr. 2 til Nr. 3, hvorefter Udbredningen på Pladerne foretages nøjagtigt efter de ovenfor givne Regler. På denne Måde får man en høj Grad af Sandsynlighed for, at i det mindste én af de tre Plader indeholder et „passende“ Antal Kolonier, hvad enten man nu ønsker disse *så talrige*, at Pladekulturen kan benyttes til en nogenlunde pålidelig Bestemmelse af den undersøgte Vædskes Kimmængde — eller *så fåtallige*, at man får en næsten absolut Garanti for den enkelte Kolonis Renhed og uden Vanskelighed kan foretage Såning fra den.

Man erindre, — som alt ovenfor tilrådet — at *opbevare de 3 Reagensglas*, efterat man ved at rulle dem nogle Gange har fordelt Gelatinen i et tyndt Lag på deres Væg eller blot har henlagt dem i horizontal Stilling; hvor det drejer sig om en nøjagtig Bestemmelse af Kimenes Antal i den udsåede Vædske-mængde, er det jo ligefrem nødvendigt at tage de Kim med, som blive tilbage i Reagensglasset; men aldeles bortset derfra, er det altid en Fordel at have to Spredningskulturer af hver Fortyndingsgrad i Stedet for én.

Den beskrevne Form for Gelatinespredninger — den „*Koch'ske Plademethode*“ — udmærker sig i første Linie derved, at den muliggjør mikroskopisk Undersøgelse af Kolonierne i *hele* Gelatinens Udstrækning med stærk Forstørrelse, men den frembyder på andre Punkter flere Ulemper: Pladerne ere ifølge Sagens Natur let udsatte for at inficeres af Luftkim, de ere vanskeligt

transportable, Gelatinens Udbredning på Pladerne kræver særlig Omhu og et ikke helt ubetydeligt Apparat o. s. fr.; man har derfor søgt på engang at gjøre de Koch'ske Gelatine-spredninger bekvemmere at udføre og at sikre dem mod Forurensning ved at anvende *andre Beholdere*, og man har da navnlig foretaget dem i

vatlukkede koniske Kogeflasker (Salomonsen),

vatlukkede vide Reagensglas (Esmarch),

flade Glastallerkener, s. Fig. 17 (Salomonsen),

firkantede flade Tinkturflasker, s. Fig. 38 (H. A. Nielsen).

I alle disse Tilfælde bliver Gelatinen *dækket* enten af Vatprop eller Glaslåg, og man undgår de med Nivellering og Udbredning forbundne Vanskeligheder, — i tre af Tilfældene foregår desuden Spredning og Stivning i *samme Beholder*. Der klæber imidlertid også store Ulemper ved Anvendelsen af de Erlenmeyerske Kolber (stor Plads, Skjørhed, Utilgjængelighed for mikroskopisk Undersøgelse) og Reagensglas (besværlig Stivning, mikroskopisk Undersøgelse ubekvem, særligt uheldige ved smeltende Former), så at disse to kun fortjene at komme i Betragtning som Undtagelsesmetoder. Fremgangsmåden ved Kimspreddningen i de nævnte fire Beholdere er nu følgende:

b) *Koniske Kogeflasker.*

En mellemstor konisk Kogeflaske med Vatprop og et tyndt sterilt Lag Næringsgelatine i Bunden (se Fig. 11 VII), opvarmes indtil dette just er smeltet; ved Hjælp af Nål eller Pipette tilsætter man derpå med størst mulig Forsigtighed og Hurtighed en ringe Mængde af den Vædske, der skal analyseres. Vædsken og Gelatinen *blandes omhyggeligt uden at rystes* (smlg. S. 73) og henstilles derpå til Stivning.

c) *Reagensglas.*

Til en såkaldt „Esmarch'sk Rullekultur“ benyttes bedst *vide* Reagensglas, der indeholde circa 10 Cc. Næringsgelatine; når denne er opvarmet til *lidt* over Smeltepunktet, foretages Såning og Blanding ganske som Side 73 angivet. Udbredningen må foretages samtidigt med Gelatineringen på følgende

Måde: Man afsvider den Del af Vatproppen, der rager op over Reagensglassets Rand og forsyner dette med en lille tætsluttende Kautschukhætte, der forhindrer Indtrængning af Vand gennem Vattet; Reagensglasset lægges nu i en Skål koldt Vand — helst Isvand — og medens man lader det svømme på Vandets Overflade, giver man det med den ene Hånd en såvidt muligt nøjagtigt vandret Stilling og meddeler det med den anden Hånd en roterende Bevægelse så længe, indtil Gelatinen er stivnet i et jævnt Lag på Væggens Indside; Glasset aftørres og Kautschukhætten fjernes. Undertiden bliver Vatproppen under Rulningen overtrukket med et så tykt Lag Gelatine, at Lufttilførselen til Reagensglassets Indre hæmmes på en for Bakteriudviklingen skadelig Måde. I så Fald kan man blot gennemstikke Prop og Gelatinehinde med en steril Platintråd. Fordelen ved Reagensglasset fremfor Kogeflasken er den, at det tager mindre Plads op, og at dets Indhold er lettere tilgængeligt for mikroskopisk Undersøgelse.

d) *Glastallerkener* (Tallerkenpar).

Et Par af de Fig. 17 afbildede flade Glastallerkener af ca. 20 Ctm. Diam. og $1\frac{1}{2}$ Ctm. Højde tørsteriliseres, vel indsvøbte i Papir, af hvilket de først pakkes ud, umiddelbart før de skulle bruges. Blandingen af den bakterieholdige Vædske og Gelatinen foretages i et Reagensglas ganske som ovenfor beskrevet. Reagensglassets Vatprop fjernes, dets Rand flammesrens, og såsnart den er afkølet, hældes Indholdet *hurtigt* ud i den mindre (nederste) Tallerken, medens den større (øverste) skydes lidt til Side. Da Reagensglasset aldrig tømmes helt, men en ringe Mængde Gelatineblanding altid bliver tilbage i det, gjør man rettest i at henlægge det horizontalt til Stivning samt etikettere og opbevare det som et Supplement til Tallerkenkulturen.

Man får i Tallerkenen sjældent noget *ligeligt* Gelatinelag. Tallerkenbundene ere nemlig ikke plane, men som Regel lidt opadvælvede i Midten; den derved frembragte Forskel i Gelatinelagets Tykkelse har imidlertid også sine Fordele; thi når der i den analyserede Vædske findes mange Kim, og de ligge tæt i de tykke, perifere Afsnit af Gelatinen, finder man

dem mere spredte i det centrale, tynde Gebet. Kolonierne ere i slige Tallerkenkulturer ligeså let tilgængelige for Undersøgelse med det blotte Øje og med Loupe som på Pladerne. Undersøgelsen vanskeliggjøres ofte noget derved, at Undersiden af den øverste Tallerken beslår sig; i så Fald kan man fjerne den, medens det nøjagtige Eftersyn af Kulturen står på, og erstatte den med en steriliseret Glasplade. Til *mikroskopisk* Undersøgelse egne Tallerkenkulturerne sig også fortrinligt, navnlig når man vælger *mindre* Tallerkenpar af 5 à 10 Ctm. Diameter; dog stå de i denne Henseende tilbage for Pladekulturerne.

Soyka skaffer sig på følgende nemme Måde i *ét* Tallerkenpar et *stort Antal* ganske små Pladekulturer: Han benytter Tallerkenpar, der adskille sig fra de Fig. 17 afbildede ved at være af 1,5 Mm. tykt Glas, af 50 □ Ctm. Fladerum og ved at have en kun 3—5 Mm. høj Rand; i den nederste Tallerken er indslæbet 7 runde Fordybninger (som i de hulslebne Objektglas s. Kap. IX); før Brugen opvarmes denne svagt, med en Pipette hældes Gelatine i de små Fordybninger, og med en Platinøsken foretages nu under omhyggelig Omrøring hurtigt Udsåning i en af Gelatineportionerne, fra denne over i en anden o. s. v., dernæst sættes den øverste Tallerken — Låget — atter på. — Denne Soykas Modifikation af den sædvanlige Koch'ske Plademethode forekommer mig fortrinlig i sin Plan, men Tallerkenparrenes Form og Fordybningernes Størrelse ere ikke godt valgte; jeg vilde af Hensyn til den mikroskopiske Undersøgelse foretrække rektangulære (f. Ex. 12×5 Ctm.) Glastallerkener, af hvilke de nederste ved fremspringende Kamme vare delte i 8 firkantede Rum, så at den enkelte „Pladekulturs“ Areal blev større.

e) Firkantede Tinkturflasker.

Man benytter de Fig. 12 afbildede flade Flasker (først anvendte af *Nielsen* ved hans Undersøgelser over Københavns Drikkevand), der indeholde så megen Næringsgelatine som nødvendigt til at danne et tyndt Lag på Flaskens *brede* Væg. Tre sådanne Flasker stilles i Vandbad, indtil Gelatinen er smeltet, hvorpå Såning i tre Fortyndinger samt Spredning foretages nøjagtigt efter de S. 73—76 givne Regler, og Flaskerne henlægges *på Bredside*n, indtil Gelatinen er fuldstændigt stiv, derefter drejes de om, *så at den gelatinebeklædte Væg kommer til at vende opad*, og opbevares nu i denne Stilling til videre Iagttagelse; hensigtsmæssigt er det at anbringe tre sammenhørende Flasker i et Stativ af tyk Metaltråd som Fig. 38 fremstillet. Ved at vende den gelatinebeklædte Væg opad

opnår man, at *eventuelle smeltende Kolonier ikke så hurtigt udfolde deres ødelæggende Virkning på Spredningskulturerne*, thi den smeltede Gelatine vil i Stedet for at flyde ud over de usmeltede Nabopartier, dryppe ned på den modstående, nedad-

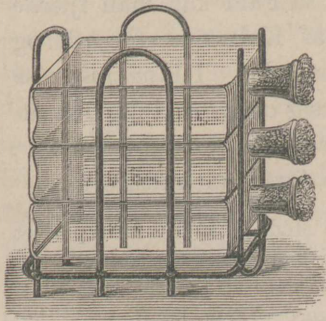


Fig. 38.

Metaltrådstativ med et Sæt
firkantede Kulturflasker.

vendende Væg, og man kan derfor ofte, selv når udbredte Smeltninger have fundet Sted, endnu Måneder efter Kulturens Anlæggelse finde usmeltede, kolonifyldte Gelatinepartier uskadte på Flaskevæggen. Flaskerne hvile sikkert på Mikroskopbordet og kunne undersøges i hele deres Udstrækning med så stærke Forstørrelser, som almindeligt benyttes til at eftervise *Habitus-Forskjellighederne* mellem de enkelte Arters Kolonier på de tidligste

Stadier. Anvendelsen af *stærke Forstørrelser* er derimod umulig på Grund af Væggenes Tykkelse, men frembyder jo i de fleste Tilfælde heller ingen Interesse. Også Opfiskningen af Bakterierne til Såning og mikroskopisk Undersøgelse er naturligvis vanskeligere end fra Plader og Tallerkener, og navnlig Hjørnerne nærmest Halsen ere mindre let tilgængelige, dog lærer man hurtigt at ramme Kolonierne på *alle* de forskellige Punkter af Flasken med Platin-Podenålen, — som man må give *en efter Koloniens Beliggenhed afpasset Krumning*. I det hele må det siges, at Fordelene ved Brugen af disse firkantede Flasker langt opveje Ulemperne, og de kunne *fremfor alle de andre ovenfor nævnte* Beholdere anbefales ved Anlæggelse af Gelatine-Spredninger.

Vi ere ved de ovenfor givne Beskrivelser stadigt gået ud fra, at Spredningerne foretoges i en eller anden

1) *Gelatine*; denne er også lettest at anvende, da den kan gøres og holdes flydende ved en forholdsvis meget lav Varmegrad; den Omstændighed, at *mange Bakterier og Skimmel-svampe smelte (peptonisere) Gelatinen*, er imidlertid en Ulempe,

som ofte bliver meget følelig ved slige Analyser. De allerfleste BakteriefORMER forårsage derimod ingen Henflyden af

2) *Agar-Agar*, der dog på Grund af sin *Tungsmeltelighed*, sin noget *ringere Gjennemsigtighed* og sin *Utilbøjelighed til at klæbe* ved Glasset egner sig mindre godt end Gelatinen til Pladekulturer; den lader sig imidlertid godt anvende til slige Analyser, når man går frem på følgende Måde: Reagensglassene med Agar smeltes i Vandbad; man kan hensigtsmæssigst hertil anvende en cylindrisk Kobberbeholder af 16 Ctm. Højde og $8\frac{1}{2}$ Ctm. Diameter; nogle Centimeter fra Bunden findes på dens

Indside tre små Knaster, på hvilke man kan lægge et cirkelformet Stykke Jerntvist, der forhindrer, at Reagensglassene og det ved Siden af dem opstillede Thermometer kommer i umiddelbar Berøring med Bunden. Når Agaren er smeltet i Reagensglassene — hvilket først sker ved omtrent 90° — lader man atter afkjøle, og når Thermometret er sunket til ca. 40° , ved hvilken Temperatur Agar endnu holder sig flydende, udsår og spreder man *hurtigt* i de tre Glas efter de S. 73 givne Regler og hælder derpå Agaren så snart som muligt ud i Glastallerkener; man må sørge for at arbejde *hurtigt*, for at Geléen ikke skal stivne i Reagensglassene, førend de tømmes, eller under Udhældningen „klumpe sig“ og danne et ujævnt Lag. At vælge *Plader* til Udbredning af Agaren er meget u hensigtsmæssigt, da den ikke klæber godt til Glasset; man bør ubetinget for Pladerne foretrække *Glastallerkener*; allerbedst er og bliver dog de *firkantede Flasker*, der overflødiggjøre Omhældningen; Flaskerne behandles naturligvis ganske som Reagensglassene; Størrelsen af det ovenfor beskrevne Vandbad er derfor valgt således, at to Flasker bekvemt kunne have Plads ved Siden af hinanden deri.

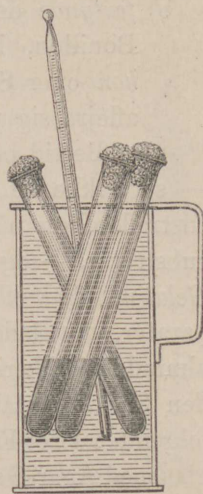


Fig. 39.
Vandbad til Agar-Spredning.

3) *Agar-Gelatine*, — tilberedt efter *Jensens* Formel, — frembyder de S. 36 omtalte Fordele fremfor den rene Gelatine og den rene Agar; den lader sig fortræffeligt benytte til

Spredningsanalyser ligesom Gelatinerne; dog er det sikkert at holde den flydende ved at stille den i et 30—40° varmt Vandbad under Arbejdet.

4) *Serum* lader sig ikke benytte på den beskrevne Måde, da Koagulationen kun kan fremkaldes ved langvarig Opvarmning til en så høj Varmegrad, at Kimene derved kunne tilintetgøres. Nødes man til at anvende den *ublandede Serum* til Spredningsanalyser, må man gøre et af to, enten

- a) foretage „Ridskulturer“ (s. S. 72) på et større Antal Serumglas med skråtstillet Overflade, eller
- b) *fortynde* den bakterieholdige Vædske stærkt med steril Bouillon, lade en lille Dråbe af denne Blanding flyde hen over Serumoverfladen og håbe på, at Kimene ville afleje sig på denne i en vis Afstand fra hverandre.

Imidlertid behøver man som Regel ikke at byde Bakterierne — selv ikke de mest serumelskende — *ublandet Serum*; det er tilstrækkeligt, når *Serum* er tilstede i rigelig Mængde i Nærings-substratet, — og ved Blandinger af *Serum* med passende Mængder *Gelatine*, *Agar* eller *Agar-Gelatine* får man „smeltelige“ Serumpræparater, der lade sig bruge til Spredningsanalyser ligesom de almindelige Næringsgeléer. Fremgangsmåden ved Spredning i den S. 47 omtalte *Agar-Gelatine-Serum* (Stribolt) er f. Ex. følgende: I det Fig. 39 afbildede Vandbad anbringes tre Reagensglas med *Agar-Gelatine*; når Beholdningerne ere smeltede, lader man afkøle, indtil Temperaturen er sunket til omkring 55°; man stiller nu et Reagensglas med flydende *Serum* ned i Vandbadet og afventer den yderligere Afkøling til 40—45°; nu hældes Serummen — der imidlertid er bleven opvarmet til henimod samme Temperatur — over i A. G.-Glassene i så stor Mængde, at der omtrent kommer én Del *Serum* på to Dele A. G., — derefter sås, spredes o. s. v. som ovenfor beskrevet.

II. Vædske-Analyse efter Fortyndingsmetoden.

For efter *Miquels* Anvisning at udføre en Fortyndingsanalyse af en bakterieholdig Vædske, må man have

- 1) en større Mængde — efter Omstændighederne 30—50 — vatlukkede Reagensglas eller Flasker, hver indeholdende 9 Cc. steril Næringsbouillon.

- 2) en Del *steriliserede Målepipetter*; disse kunne hensigtsmæssigt tørsteriliseres og opbevares *enten* indpakkede i Papir *eller* anbragte i Reagensglas, i hvis Munding en fast Vatkrans er stoppet ned, således som Fig. 40 viser.

Man begynder med at overføre 1 Cc. af den Vædske, der skal undersøges, i et af Bouillonglassene (Nr. 1) og blander omhyggeligt ved langvarig Rystning; af denne Blanding overføres påny med steril Målepipette 1 Cc. i et andet Bouillonglas (Nr. 2), og man sørger atter ved langvarig Rystning for jævn Fordeling af Kimene; de 10 Cc., som dette Glas (Nr. 2) indeholder, fordeles nu med en steril Målepipette på 10 andre Bouillonglas, 31, 32, 33, 34 o. s. v.; hvert af disse indeholde altså $\frac{1}{1000}$ Cc. af den oprindelige Vædske; ved nu atter at fordele Indholdet af Glas 31 på 10 nye Glas, 41, 42 o. s. v., får man en Række Kulturapparater, af hvilke hvert indeholder 0.0001 Cc. af den oprindelige Vædske. Alle de 20 tilsæede Glas (o: alle de benyttede Glas med Undtagelse af Nr. 2 og 31, hvis Indhold helt og holdent er blevet fordelt på de andre Glas), henstilles nu i Thermostat ved ca. 35° i Dage eller endnu bedre Uger.

Hvis der kommer Væxt i alle Glassene, er Forsøget mislykket; man må da gentage Analysen og *drive Fortyndingen videre* under Anvendelse af 40 eller 50 Kulturglas; hvis derimod kun nogle enkelte af Glassene vise Bakteriudvikling, vil man tilnærmelsesvis kunne beregne Kimmængden i den analyserede Vædske efter de ovenfor S. 57 udviklede Regler.



Fig. 40.
Sterili-
seret
Måle-
pipette.

Bemærkninger om den bakteriologiske Drikkevands-Undersøgelse.

Det er navnlig to Hovedopgaver, der atter og atter stilles Lægen på den bakteriologiske Drikkevands-Analyses Område.

- 1) at bestemme *Kimmængden* og eventuelt de herskende Arter i en given Vandprøve.

- 2) at påvise Tilstedeværelsen eller Ikke-Tilstedeværelsen af en *bestemt pathogen Bakterie* i en given Vandprøve.

1. *Bestemmelsen af Kimmængden*

foretages hensigtsmæssigst ved Anlæggelse af Pladekulturer efter de ovenfor givne Regler. Desuden mærke man sig følgende:

Opsamling. Vandet opsamles i tørsteriliserede Flasker med Vat- eller Glasprop. — Hvis det tages fra en *Hane* eller *Post*, lader man det strømme ti Minutter, førend man opsamler det; — under Opsamlingen må Proppen være beskyttet mod Forurensning med fremmede Kim (Opbevaring i steril Glasæske, Fig. 18). — Fra en *let tilgængelig Vandflade* tages Prøverne med en steriliseret Pipette og fordeles strax på sterile Flasker; til *dybere liggende* må man hejse en steriliseret, med et tungt Legeme ombunden Flaske ned, som er lukket med en Vatprop, i hvilken en lang Snor er fastbunden; når Flasken har nået Overfladen, trækkes Vatproppen ud, og *umiddelbart* efter at den i fyldt Tilstand atter er hejset op, fordeles dens Indhold på mindre, lukkede Flasker. — Et Apparat til Opsamling af Vandprøver fra *forskjellige Dybder* findes afbildet og beskrevet i *Miquels* nedenfor citerede Bog.

Forsendelse. Vandprøverne må forsendes, for det første forsvarligt *lukkede*, f. Ex. med fastbundne, eventuelt parafin-overtrukne Glaspropper, eller med *omhyggeligt* (s. S. 30) *overlakkede* Vatpropper, eller (efter Miquel) med *overlakkede* Korkpropper, hvis Overflade er *steriliseret ved Forkulling* i Gasflammen. For det andet må de være *pakkede i Is*, thi ved almindelig Temperatur *formere Vandkimene sig så hurtigt*, at man vil få ganske misvisende Resultater, når man opsætter Undersøgelsen blot nogle Timer; ved Opbevaring i Is kan denne Formerelse vel ikke helt forhindres — thi der gives udbredte Bakterier-former, der kunne formere sig ved 0° — men dog hæmmes så betydeligt, at den ingen væsentlig Betydning får. Imidlertid *bør man, når det på nogen Måde lader sig gøre, undgå Forsendelse* af Vandprøverne og foretage *Udsåningen umiddelbart efter Opsamlingen*, altså *på selve Stedet*, hvor Vandet tages. Til Vandundersøgelser ere derfor de firkantede Flasker (Fig. 12 og 39)

særligt at anbefale, da de ere så overordentligt lette at tilså, sprede i og transportere. En steril Opsamlingsflaske, nogle sterile Målepipetter, en Spritlampe og nogle geléefyldte, firkantede, Kulturflasker ere under almindelige Forhold det hele Materiel, man behøver at medtage på en Udflugt til den Vandbeholdning, man vil undersøge.

Den *Mængde* Vand, der skal sættes til hver Gelatineflaske, når man vil have et pålideligt Resultat af sine Tællinger, er jo afhængig af Vandets Rigdom på Kim: Af kimfattigt Vand kan man tage en hel Cubikcentimeter, undertiden vil $\frac{1}{50}$ Cc. være en passende Mængde; særdeles kimrigt Vand må først fortyndes — undertiden *flere tusinde Gange* — med steriliseret Vand, og en Dråbe af slig en Blanding giver måske allerede en stor Mængde Bakteriekolonier på Gelatinefladen. — En simpel Følge af disse Forhold er det, at man af enhver Vandprøve, om hvis omtrentlige Kimmængde man ingen Forestilling har, altid skal anlægge flere, mindst tre, helst fire eller fem Fortyndinger, og selv da kan man gribe fejl. Hensigtsmæssigst er det at henstille sine Gelatine-Spredninger ved 20—22° og at foretage Tællingen og Bestemmelsen af de Kolonier, som have udviklet sig indtil 3die eller 4de Dag. Under alle Omstændigheder må man selvfølgelig sørge for at henstille de forskellige Gelatineplader ved samme Temperatur og foretage Tællingerne på samme Tidspunkt efter Spredningen, når det drejer sig om *sammenlignende Undersøgelser* over forskellige Vandprøver. Det må nemlig erindres, at man ved slige Pladekulturer ikke opnår at få *alle* den undersøgte Vandprøves Kim til at voxe ud (smlg. nedenf. S. 102). En virkelig *udtømmende* Analyse af et Drikkevands Bakteriefloa, d. v. s. en sådan, ved hvilken man bestemmer alle de deri forekommende Bakteriearter samt disses absolute og relative Antal — en sådan Analyse kræver et overordentligt langvarigt og omfattende for ej at sige uoverkommeligt Arbejde; — men den simple Pladeanalyse i Gelatine giver os tilstrækkeligt nøjagtige Resultater til, at vi gennem dem kunne danne os et Billede af Bakteriefloaen i dens Hovedtræk, og Methodens store, praktiske Betydning ligger deri, at vi i den have fået et Middel til på en fuldtud tilfredsstillende Måde at kontrollere alle de Forandringer i Kimmængden, som til enhver

Tid måtte indtræde i et bestemt Drikkevand og til derigjennem at kontrollere Driften af Vandværkerne — særligt af Vandfiltrene.

Den anden ovenfor nævnte Hovedopgave på den bakteriologiske Drikkevands-Analyses Område:

2. *Eftervisningen af bestemte pathogene Bakteriearter i en given Vandprøve*

er vanskeligere at løse; de simple Spredninger i Gelatine slå som Regel ikke til, men må forbindes med andre Isoleringsmetoder, afpassede efter vedkommende Bakteriearts fysiologiske Egenskaber, og når det vel er lykkedes at isolere en Bakterief orm, der makro- og mikroskopisk har det søgte Smitstofs Ejendommeligheder, så kræves der undertiden en hel ny Forsøgsrække alene til at sikre Diagnosen, som det kan være vanskeligt nok at fastslå, da de pathogene Arter oftest have nærstående, ikke-pathogene Slægtninge, som de kun ved Anvendelse af vore fineste diagnostiske Hjælpemidler kunne holdes ude fra.

Til Oplysning om de Midler, man kan benytte, skulle følgende Eksempler tjene, som just angå to Bakteriearter, der kunne fremkalde udprægede „Drikkevands-Epidemier“.

1) *Koleraspirillen*. Koch anbefaler følgende Fremgangsmåde: Til 100 Cc. af Drikkevandet sættes 1 % Pepton og 1 % Kogsalt, hvorpå Opløsningen henstilles ved 37°; efter 10—20 Timers Forløb anlægges man fra Overfladen af disse Kulturer Pladespredninger på Gelatine og Agar, som ovenfor beskrevet, og først i disse Spredninger søger man efter Kommabaciller og Spiriller, hvis Natur da nærmere må bestemmes gennem Rendyrkning, kemiske Reaktioner og Dyreforsøg (smlg. Kap. XIV), for at undgå Forvexling med de mange koleralignende Spirilarter, som kan findes i Vandet.

2) *Tyfusbacillen*. Vincent skaffer sig Renkulturer af Tyfusbaciller fra Vand på følgende Måde: Endel Reagensglas, der indeholde steril Peptonbouillon, som er tilsat med 0,7 Gram krystalliseret Karbolsyre pr. Liter, tilsås med det Vand, der skal undersøges; alt efter dets Kimrigdom kan man sætte nogle Dråber eller nogle Cubikcentimeter til hvert Glas; de henstilles derpå i et Vandbad (s. Fig. 6), der ved Hjælp af en Regulator holdes på 42°; såsnart der er kommet Væxt i Glassene, overfører man nogle Dråber af deres Indhold i nye Glas med karboliseret Peptonbouillon, som atter henstilles ved 42°; man gjentager dette endnu én eller to Gange, og anlægges endelig fra den sidste Serie af Karbol-Bouillonkulturer Gelatineplader, i hvilke man søger efter ikke smeltende Kolonier, der på Grund af deres gennemskinnende, perlemoderglindsende Udseende kunne mistænkes for at være Tyfusbaciller; hvis den mikro-

skopiske Undersøgelse viser, at de indeholde Baciller af Udseende som *B. typhosus*, må de atter omsås på andre Næringssubstrater (Kartoffer, Mælkesukker-Lakmus-Gelatine o. s. v.) og underkastes en længere Række Prøver, førend man med Sikkerhed kan erklære, at man virkelig har den „ægte“ Tyfusbakterie for sig og ikke *B. coli commune* eller en anden af de „pseudo-tyföse“ Baciller (smlg. Kap. XIV).

I første Tilfælde benytter man sig altså af Spirillens Tilbøjelighed til at opsøge den frie Ilt og af dens dermed i Forbindelse stående Tilbøjelighed til *hurtig* Overfladevæxt (*Schottelius*) — man lokker så at sige dens Kim hen på et bestemt Punkt i Vædsken, hvor de derefter kunne få Forspring for de andre Vandbakterier, og indfanger dem i Løbet af de få Timer, som hengå, inden alle de andre Mikrober tager Overhånd; — i det andet Tilfælde hæmmer man Konkurrenternes Udvikling og Væxt ved Hjælp af en Varmegrad og en Gift, som Tyfusbacillerne tåle langt bedre end de fleste andre Vandmikrober.

De, der ønske at gjøre sig nærmere bekendt med den bakteriologiske Vandanalyses Enkeltheder, kunne henvises til *Miquel*, Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux. 1891.

B. Faste Legemer

(med særligt Hensyn til Jordundersøgelse).

Den bakteriologiske Analyse af faste Legemer foretages i det hele og store ganske som Vædskeanalysen. En af de følgende Fremgangsmåder er alt efter Omstændighederne (Legemet's Konsistents, Kimrigdom o. s. v.) at anbefale.

- 1) Legemet *kastes ned i den smeltede Næringsgelée*, i hvilken man da søger at *afskylle* og *fordele* Kimene ganske som ved Vædskeanalysen; man kan yderligere fremme Frijgjørelsen af Kimene ved at *knuse* eller *ælte* det faste Legeme med en ved 150° steriliseret Glasstang (opbevaret indsvøbt i Papir eller anbragt i Reagensglas som Pipetten Fig. 40).
- 2) Er man ikke sikker på at få Kimene grundigt nok fordelt på den beskrevne Måde, kan man *først* med Glasstang eller Metalstang *knuse* eller *ælte* og samtidigt *længe ryste* Legemet i sterilt Vand (Bouillon) og derpå
 - enten* a) undersøge „Skyllevandet“ efter de for Vædskeanalysen givne Regler (*Hueppe*),
 - eller b) når Rystningen er tilendebragt, tilsætte Vandet med samt det deri indeholdte faste Legeme et lige så stort Rumfang smeltet, steril 20 % Næringsgelatine, blande om-

hyggeligt og udbrede Blandingen på en af de under Vædskeanalysen beskrevne Måder. Før Tilsætning af Gelatinen må Skyllevandet helst i Vandbad opvarmes til 25—30°, for at Stivningen ej skal foregå for hurtigt.

Ved *Jordbundsanalysen* foretrækker *Fraenkel* på Basis af en større Række sammenlignende Forsøg den førstnævnte Fremgangsmåde. Sikkrest er det dog altid *tillige* efter *Hueppes* Råd at anvende den som 2 a eller b beskrevne Methode.

Opsamlingen af Prøver fra de overfladiske Jordlag kan jo foretages uden Vanskelighed i sterile Glas; fra de *dybere* Lag — der ifølge Kochs og *Fraenkels* Undersøgelser ere meget kimfattige — kunne de kun med Sikkerhed fås uden Tilblanding af Jord fra omliggende Lag, når de tages med særegne *Boreapparater*; et sådant er konstrueret af *Fraenkel* og *Muencke* og findes afbildet R. Nr. 525.

Jorden må ligesom Vandprøverne *undersøges snarest muligt efter Opsamlingen*, da der navnlig i de fra Dybden stammende kimfattige Prøver foregår en meget *hurtig Formerelse* af Bakterierne, så at de i Løbet af faa Dage kunne blive tusinde Gange talrigere end de vare, da Prøven toges (*Fraenkel*). Årsagen til denne Formerelse — der ej kan forhindres ved Opbevaring i Is — kjendes endnu ikke.

Den *Mængde* Jord, der udsås, foreslår *Fraenkel* at bestemme ikke efter Vægt men efter *Mål*, og benytter hertil en lille „skarp Ske“ af omtrent $\frac{1}{50}$ Cc. Rumfang. Som Enhed ved Angivelse af Kimmængden vælges da 1 Cubikcentimeter Jord.

Et vist Mål Jord bliver altså hældt ud i en af de firkantede Tinkturflasker (Fig. 39) med smeltet Gelatine, og bearbejdes nogle Sekunder med en iforvejen tørsteriliseret Glas- (eller Metal-)Stang; derpå fordeler man i Gelatinen, anlægger om fornødent Fortyndingskulturer i et Par andre Flasker og lader stivne efter de ovenfor givne Regler. — Når Jorden — som Tilfældet i Almindelighed er med de *overfladiske* Jordlag — indeholder mange smeltende Former, kan man nødes til at *anvende Agar eller i hvert Fald Agar-Gelatine* for at få et pålideligere Billede af Kimmængden; endvidere erindre man, at der

i Jordproverne forekomme Kim, der først *meget sent* udvikle sig til Kolonier.

Iøvrigt gjælder om disse Jordanalyser og de derved erholdte Oplysninger om „Kimmængden“ i Jorden ganske det samme, som ovenfor er sagt om Vandanalyserne: De kunne ifølge Sagens Natur hverken give os noget Billede af den *absolute Kimmængde* i Jorden, ej heller bringe *alle* de i Jorden forekommende Arter til Udvikling, men ere fortrinlige, hvor det gjælder visse *sammenlignende* Undersøgelser over Mængden af *de almindelige ærobe Jordkim* på forskellige Tider og Steder, og når det drejer sig om at påvise eller skaffe Renkulturer af bestemte ærobe Mikrob-Arter, der ej kræve ganske særlige Kulturbetingelser.

Ved sine første Jordanalyser anvendte Koch den simple Fremgangs-måde *at drysse Jorden ud over en Gelatine-Overflade*. Nogen sikker og grundig Spredning af Kimene opnås naturligvis ej på denne Måde; men man får et fortræffeligt Overblik over nogle af de almindeligt i Jorden forekommende Bakterie- og Svampeformer. Man indretter sig bedst som følger: Den sterile Næringsgelatine hældes ud på Glasplader eller Tallerkener, hvor man lader den stivne. Jorden opsamles med de sædvanlige, selvfølgelige Forsigtighedsregler i vatlukkede sterile Reagensglas eller Flasker. Umiddelbart før Såningen fjernes Proppen, og Glasset tilbinder hurtigt med et Lag steriliseret Filtrepapir; heri stikkes nu med en udglødet Knappenål en Mængde Huller, og gennem disse drysses Jorden ud på Gelatineoverfladen, således at de små Partikler komme til at ligge *vel spredte*.

C. Luft.

Undersøgelsen af de Mikroorganismer, der svæve rundt i Atmosfæren og udgjøre en vigtig Bestanddel af Luftens såkaldte „*Støv*“, har været dreven i lang Tid efter mange forskellige Metoder og med større Iver end både den tilsvarende Vand- og Jordanalyse, på den ene Side af Hensyn til Læren om generatio æquivoca, — på den anden Side, fordi man lagde overdreven Vægt på Luftens Betydning som Transportmiddel for næsten alle Smitstoffer. Den anvendte Tid og de anvendte Kræfter står imidlertid i et sørgeligt Misforhold til det ringe Udbytte for Læren om de pathogene Bakterieførers Levesæt og Transportmåde.

Til Opsamling af Luftens Støv med de deri indeholdte Organismer anvender man to forskellige Fremgangsmåder. Man kan lade Støvet

- 1) ved sin egen Tyngde aflejre sig eller
- 2) ved en Aspirator suges ind i passende Apparater.

Aspiratorer.

a) En simpel og let transportabel Aspirator er den Fig. 41 afbildede: To store Flasker, f. Ex., Erlenmeyerske Kogeflasker (I—II), forsynes med Kautschukpropper med dobbelt Boring; den ene stilles (eller hænges) med sin Bund noget højere end den andens Munding; i hver af Propperne anbringes et kort Glasrør, der kun når lidt ned under Proppens Underflade, og Flaskerne forbindes på den i Billedet angivne Måde ved Hjælp af Glas- og Kautschukrør; på Midten af den således dannede Hævert anbringes en Klemmehane (c), og den højst stillede Flaske I fyldes med

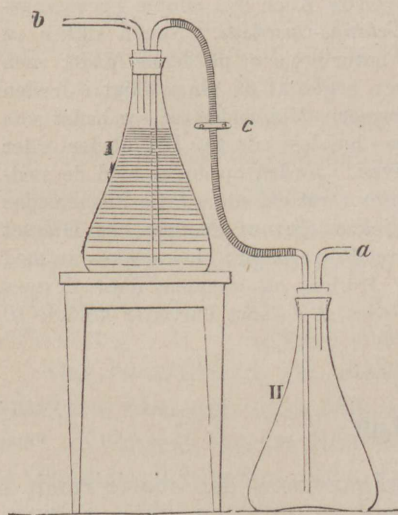


Fig. 41.
Aspirator.

Vand. Åbnes nu Klemmehanen, og suger man et Øjeblik ved a, indtil Hæverten er fyldt, vil Vandet strømme uafbrudt fra Flaske I ned i den tomme II, og der vil frembringes en jævn og stadig Luftsugning ved b, indtil I er tomt. Hælder man nu Flaske II's Indhold atter over i I, kan man begynde Sugningen igjen. Kjender man den benyttede Vandmasses Rumfang og den Tid, som medgår til, at Vandet strømmer fra den ene Flaske over i den anden, så véd man også, hvor megen Luft der i en given Tidsenhed indsuges af Apparatet. Den Hastighed, med hvilken Vandet flyder fra Flaske til Flaske, kan reguleres dels ved Hjælp af Klemmehanen, dels ved Hjælp af ulige vide Glasrør, som kunne indskydes i Kautschukslangens Forløb. Man forskafter sig et Antal sådanne

Stykker Glasrør af forskjellig Vidde, bestemmer for hvert enkelt af dem Gjennemstrømningstiden for 1 Liter Vand, indridser Resultatet med Skrivediamant på Glasset og benytter alt efter Omstændighederne et videre eller snævrere Rør (Hesse).

b) En anden Aspirator-Model er den ovf. S. 12, Fig. 8 afbildede.

c) Fig. 42 viser en *Dryp-Aspirator*, ved hvilken den kontinuerlige Strøm fra en Vandhane på en hensigtsmæssig Måde kan benyttes som Sugemiddel. Idet Vandet i små Portioner falder fra Vandhanen ned

gjennem Rørene *a* og *b*, rive de små Vædskesøjler større og mindre Luftsøjler med imellem sig og frembringe således ved *c* en kraftig Sugning, der dog ikke er så *jævn* som i de to nysnævnte Aspiratorer. Heller ikke angiver Apparatet selv den gennemsugede Luftmasse, således som det forrige, og det må altså, hvis denne skal bestemmes, forbindes med et *Gasuhr*.

d) Dette sidste gjælder også om *Vandluftpumpen* (s. Fig. 10 a), der naturligvis er at foretrække, når *store* Luftmængder i kort Tid skal indsuges.

e) En af *Petri* til æroscopisk Brug konstrueret Håndluftpumpe findes afbildet R. Nr. 328.

Skjønt den direkte mikroskopiske Under søgelse af Luftens „Støv“ ikke oplyser noget som helst om de *Bakterickim*, der føres om i Atmosfæren, så danner den dog et naturligt Led i hele den æroscopiske Under søgelse og har desuden i andre Henseender så stor hygiejnisk Interesse, at vi korteligt må berøre

I. Opsamlingen af Støvet til direkte mikroskopisk Undersøgelse.

Man kan naturligvis simpelthen opsamle det på forskellige Steder *tilfældigt aflejrede* Støv, der jo undertiden danner meget tykke Lag. Er Laget kun tyndt, kan det let med Pennefjeder opfejes på Papir. Små Portioner af det således opsamlede Støv udrøres da med en Dråbe Glycerin eller anden Vædske på et Objektglas, og den mikroskopiske og mikrokemiske Undersøgelse af Præparatet foretages efter de sædvanlige Regler.

Vil man opsamle Støvet fra *bestemt Tid* og *Sted*, sker det bedst ved Hjælp af et såkaldet *Äeroskop* (*Pouchet* 1859, s. R. Nr. 345, smlg. R. Nr. 340, 343). Af de forskellige Modeller skal her kun omtales den *Schönauerske*, som let kan sammensættes

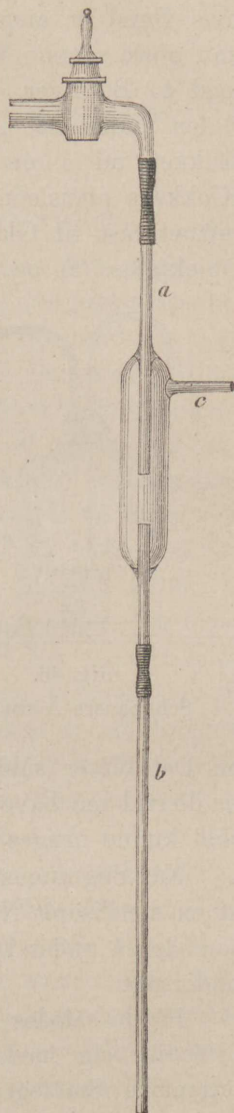


Fig. 42.
Dryp-Aspirator.

i ethvert Laboratorium. Det består (Fig. 43) af en simpel Glasklokke (*a*) med plansleben Rand og kort Hals (en Flaske, hvis Bund er afsprængt, og hvis Rand derpå er plansleben, kan gjøre samme Nytte); i Halsen anbringes en Kautschukprop med to Boringer, og i den ene af disse et kort Glasrør (*d*), i den anden det i en Bue bøjede Rør *e*, hvis ene Ende er trukket ud i en Spids med omtrent 1 Mm. vid Åbning. Klokken planslebne Rand indsmøres med Vaseline og trykkes lufttæt fast til Glaspladen *b*. Under Klokken er anbragt et Objektglas (*c*) og på dette en lille Dråbe af en steriliseret

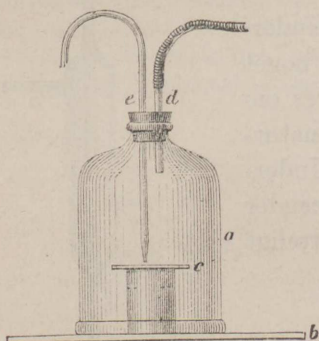


Fig. 43.

Schönauers Aëroskop.

Opløsning af 1 Del *Druesukker* i 2 *Dele Glycerin* (Miquel); Røret *e* stilles derpå således, at dets Spids står i omtrent 1 Mm.s Afstand fra Dråbens Overflade, og Røret *d* sættes i Forbindelse med en Aspirator. Så snart Sugningen begynder, strømmer Luften og det deri suspenderede Støv igjennem det buede Rør lige ind imod Glycerindråben, hvor Luftstrømningen frembringer en lille Fordybning på Overfladen, og hvor en stor Del af Støvet holdes tilbage;

en Del bliver siddende i det temmeligt lange Glasrør, der imidlertid må have den beskrevne buede Form, hvis Apparatet skal kunne bruges i fri Luft (Regnvejrr).

Når Sugningen er endt, udtages Objektglasset. Ved Hjælp af en steriliseret Nål fordeles Støvet ligeligt i Glycerindråben, som derpå under Dækglass bliver mikroskopisk og mikrokemisk undersøgt.

På de således indvundne Præparater kan man fortræffeligt orientere sig med Hensyn til mange af de uorganiske og organiske Smålegemer, der i uhyre Masser svæve rundt i Luften, såsom *Kul-* og *Kiselstøv*, *Småkrystaller* af forskellige Salte, uldne og linnede *Tråde*, *Hår*, *Stivelsekorn*, Brudstykker af Plantevæv, *Støvkorn* o. s. v. — Også mange *Svampesporer* ere kjendelige, men *Bakteriekimene* ere for små og for lidet karakteristiske til at kunne diagnosticeres i slige Præparater.

Mængden og Arten af de til en given Tid i Luften svævende Bakteriekim får man først Oplysning om, når man udsår Støvet i passende Kulturapparater.

II. Opsamling af Støvet i Dyrkningsapparater.

Ved den

a) orienterende „kvalitative“ Luft-Bakterioskopi

kan man nøjes med simpelthen at lade Luftens Kim aflejre sig på Overfladen af faste (eventuelt gelatinerende) Næringssubstrater; man får herved meget smukke og brugbare Resultater.

Fremgangsmåden er følgende: Flere Par flade Glas-tallerkener (Fig. 17) steriliseres ved 150°, hvert Par indpakket for sig i Papir; Næringsgeléerne hældes i et tyndt Lag forsigtigt og hurtigt op i de mindre (nederste) Tallerkener, medens de større (øverste) et Øjeblik skydes lidt til Side; det er hensigtsmæssigt i nogle af Tallerkenerne at hælde en for Bakterier særligt gunstig Næringsgelée (f. Ex. K. P. G.), i andre et af Gjør- og Skimmelsvampe særligt yndet Næringssubstrat (f. Ex. Svedske- eller Ølurt-Agar). Når Gelatinen er stivnet, indpakkes Tallerkenparrene atter og bringes hen til det Sted, hvor de skulle benyttes. Her pakkes de ud, Lågene (d. e. de øverste, dækkende Tallerkener) tages af, og man lader de gelatinefyldte Tallerkener henstå kortere eller længere Tid udsatte for Luften — alt efter dens Rigdom på Kim et Par Minutter eller en hel Time. Lågene sættes nu atter på, og Tallerkenparrene henstilles til Observation ved Stuetemperatur; efter nogle Dages Forløb ville så Kimene begynde at spire.

Hensigtsmæssigt er det at bruge det steriliserede Indpakningspapir til at indsvøbe Lågene i, medens de gelatinefyldte Tallerkener ere udsatte for Luften, og når Lågene atter ere påsatte, da igjen at indsvøbe Tallerkenparrene i Papiret, inden de transporteres tilbage til Laboratoriet.

Selvfølgeligt kan man i Stedet for at hælde Gelatinen direkte ud i Glastallerkener brede dem ud på en Glasplade, som derpå henlægges mellem et Tallerkenpar.

Hvor simpel og primitiv den beskrevne Fremgangsmåde end er, så giver den som sagt meget brugbare Resultater; man kan let overbevise sig derom ved at lade en Del gelatinefyldte Tallerkener henstå samtidigt og lige længe på et Par forskellige Steder. Arts- og Mængdeforskjellighederne mellem Luftens Kim på de forskellige Lokalteter ville da træde tydeligt frem.

Ved de almindeligst forefaldende „kvalitative“ Luftanalyser er denne simple Tallerkenmethode som sagt at anbefale. Om det Antal Kim, der findes i et givet Rumfang Luft, får man imidlertid på denne Måde ingen Oplysninger. Til en sådan

b) kvantitativ bakterioskopisk Luftanalyse

er der angivet en Mængde forskellige Fremgangsmåder og Apparater, blandt hvilke man ubetinget bør give Pulverfiltrene (uopløselige eller opløselige) Fortrinet.

Pasteur var den første, der anstillede sammenlignende Undersøgelser over Atmosfærens Kimmængde i forskellige Egne; han benyttede dertil den Fig. 44 afbildede *selvsugende Kolbe*, en kugleformet Beholder med en lang, i en kapillær Spids udtrukken Hals; den fyldes og benyttes på følgende Måde: Den kapillære Spids tilsmeltes, og Kolben steriliseres ved 150°; efter Afkølingen åbnes Spidsen atter, Luften i Kolben opvarmes lidt over fri Flamme, og Spidsen dyppes i den steriliserede Næringsvædske; under den påfølgende Afkøling stiger nogle Dråber Vædske op i Kuglen; disse bringes forsigtigt i Kog over fri Flamme, og medens Vanddampene fuse ud gennem Spidsen, dyppes denne påny ned i Næringsvædsken; nu stiger en større Mængde Vædske op, og, når Kuglen er omtrent halvfuld, løftes Spidsen atter op af Vædsken; denne bringes dernæst forsigtigt i (ikke altfor voldsomt) Kog over en Gasflamme; når den har kogt et Par Minutter, og Vanddampene med en hvislende Lyd jages ud af den fine Spids, fjærnes Flammen, og endnu medens Vanddampene strømme ud, tilsmeltes Spidsen omhyggeligt. Apparatet er nu færdigt til at tages i Brug, hvilket sker således: Man holder Kolben så langt bort fra sig som muligt i den Retning, fra hvilken Vinden kommer (for at Kim ej skulle føres fra ens Legeme hen imod den). Med en flamberet Tang eller Sax åbnes Spidsen, Luften strømmer nu med Hvislen ind og fylder den lufttomme Beholder; den tilsmeltes atter, rystes, for at alle Kimene kunne blive skyllede af Væggen ned i Vædsken, og man afventer Udviklingen af Mikroorganismer i Næringsvædsken.

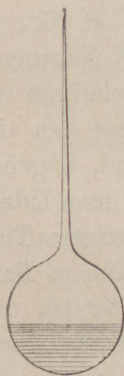


Fig. 44.

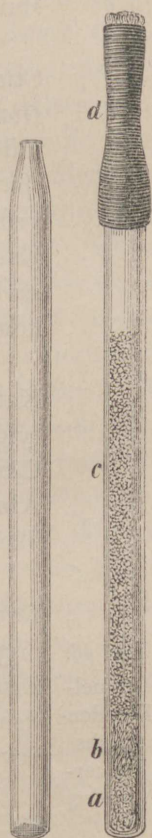
Selvsugende Kolbe til Opsamling af Luftens Kim.

Ved Hjælp af dette simple og sindrige Apparat, som i sig forener Aspirator, Gasmåler og Kulturkolbe, tegnede *Pasteur* allerede forlængst (1860) Grundlinierne af Atmosfærens bakteriologiske Topografi, som navnlig *Miquel* senere med så stor Udholdenhed har arbejdet på. Nu har imidlertid den selvsugende Kolbe som æroskopisk Instrument hovedsagelig kun historisk Interesse; man vil nu til Dags ved Undersøgelser over Luftens Kimmængde i første Linie anvende

Pulverfiltre.

Fremgangsmåden er i sine grove Træk følgende: Man suger et afmålt Rumfang Luft gennem et Pulverlag, der har en sådan Tykkelse og en sådan Kornstørrelse, at man kan være sikker på, at det frafiltrerer *alle* de i Luften indeholdte Kim; når Gjennem-sugningen er til Ende, foretager man så bakterio-logisk Analyse af Filtret — på en noget forskjellig Måde, eftersom man benytter uopløselige Filtre, f. Ex. Sand, eller opløselige, f. Ex. Rørsukker eller svovlsurt Natron; i første Tilfælde omformer man så at sige Luftanalysen til en „Jord“-Analyse, i andet Tilfælde til en „Vand“-Analyse.

I begge Tilfælde anvender jeg det Fig. 45 II afbildede Æroskop, som er en simplificeret Udgave af det *Miquel-Freudenreich'ske* (s. Fig. 46), fra hvilket det kun adskiller sig derved, at det mangler Indsnevringen nær Basis, og at det lukkes med en rørformet Kautschuklås, medens hint bærer en tilsleben Glasrørlås (*a b*) af samme Form, som den på de *Pasteur'ske* Kulturflasker. Det frembyder den Fordel, at det er yderst let at lave: Man behøver kun i Flammen af en almindelig Bunsen-Brænder at gjøre et Glasrør af passende Længde og Vidde rødglødende på et begrændset Parti, trække det ubetydeligt ud, så at det forsnævres lidt på det blødgjorte Afsnit, efter Afkjølingen indfile og overbrække på det smalleste Sted og afrunde Brudranden i Flammen. Fremgangsmåden er nu følgende ved Brugen af de



I II
Fig. 45.
Pulver-Æero-
skop med rør-
formet Vatlås.

Uopløselige Pulverfiltre.

Petri har på Basis af en Række meget omhyggeligt udførte Forsøg anbefalet *Sand* som Filtrationsmiddel fremfor de af andre Undersøgere (*Miquel, Moreau, Freudenreich, Frankland*) benyttede Substantser: *Glasuld* og *Asbest*; Sandet rystes først gennem en Metalsi, hvis Masker ere 0,5 Mm. vide; hvad der passerer denne Si, sigtes atter gennem en Si med 0,25 Mm. store Masker; hvad der bliver tilbage på denne, har en passende Kornstørrelse.

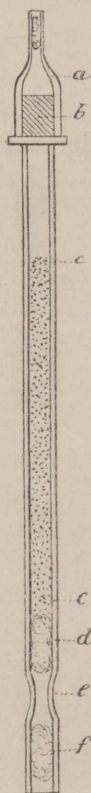


Fig. 46.
Miquel-
Freuden-
reichs
Pulver-
Aëroskop.

Gjennem den vide Ende af Aëroskopets Glasrør (15 Ctm. l. — 8 Mm. v., Fig. 45 i) indføres nu først en Tot *Glasuld* og efter den en Vatprop, som altså skyder Glasulden foran sig længere ind i Røret; ved Afsvidning fjernes de ud over Rørets Åbning ragende Vattråde; ved Hjælp af en gennem Rørets modstående, snævrere Ende indført stiv Metaltråd stampes Glasulden (b) såvidt muligt fast mod Vatproppen (a), så at de komme til at ligge som Figuren viser.

Gjennem en lille Glastragt, der ved en kort Kautschukslange forbindes med Rørets smalle Ende, fyldes dette nu med Sand, indtil det danner en 8—10 Ctm. høj Søjle (c); en Vatprop anbringes i den øverste Åbning, og det hele tørsteriliseres ved 150° i 1/2—1 Time.

De rørformede Vatlåse tilberedes som S. 23 beskrevet; førend de anbringes på Glasrøret, bliver den lille Vatprop i øverste Åbning fjærnet, øverste Ende af Røret hastigt flamberet og Kautschukrøret skudt ned over den, som Fig. 45 ii viser; det færdige Aëroskop opbevares nu indsvøbt i Papir.

Når Apparatet skal bruges, søger man først ved en Række små Stød at ryste Sandet fast ned mod Glasuldproppen; derpå fixeres det i lodret eller næsten lodret Stilling (Hældning mod Vinden!), for at Sandet ikke under Gjennemsugningen skal falde fra Væggen og gjøre det muligt for Luften at passere ufiltreret forbi Pulveret på noget Sted.

Man suger nu Luften gennem Filtret, alt efter Omstændighederne med forskjellig Hastighed og i forskjellig Tid: Døgnet gennemsnitlige Kimmængde på et bestemt Sted får man oplyst, når man i Løbet af 24 Timer suger Luften langsomt gennem Filtret; vil man lære Kimmængden på et *givet Tidspunkt* at kjende, må man i den kortest mulige Tid suge den størst mulige Luftmængde gennem Filtret. Når Gjennem sugningen er endt, foretages

Udsåningen. Ved denne benytter man: ¹⁾ et Sæt (3—5) firkantede Kulturflasker med Næringsgelée, ²⁾ to små Flasker, f. Ex. 15 Grams Medicinflasker, Nr. 1 og 2, med nogle Cubikcentimeter Næringsgelée i hver, ³⁾ en steriliseret Glasæske (Fig. 18), ⁴⁾ en omtrent 20 Ctm. lang Kautschukslange. Med Pincet udtages Vatproppen *a*, som lægges i Glasæskan, derefter udtages på lignende Måde Glasuldproppen *b*, som kastes i den smeltede Næringsgelatine i en af de to Medicinflasker; umiddelbart derefter indsættes atter Vatproppen *a*. Nu fjernes den rørformede Kautschuklås og henlægges i Glasæskan, hvorefter Sandet fordeles på de tre eller fire store firkantede Kulturflasker, dog ikke *ligeligt*, men således, at der i en Flaske kun hældes en *lille* Portion af det *øverste* kimfyldte Afsnit; i en anden Flaske hældes en noget større Mængde af de tilstødende Afsnit af Sandsøjlen, medens de nederste fem Centimeter Sand, der kan forudsættes kun at indeholde meget få Kim, hældes i sidste Flaske (jo flere Kim Luften indeholder, des flere Flasker må man anvende). Kautschukslangen skydes derpå ned over Rørets vatlukkede, vide Ende, den spidse Ende flammerenses hurtigt, dyppes ned i den smeltede Næringsgelée i Medicinflaske Nr. 2, og idet man flere Gange suger og atter blæser ud gennem Slangen, skylles næsten alle tilbageblevne Sandkorn af Rørets Indside. Medicinflaske 2 lukkes med sin Vatprop, Aëroskopets spidse Ende flamberes, og Kautschuklåsen skydes atter over den; hvis der da er blevet nogle Kim tilbage i det, ville de danne en „Rullekultur“ i Gelatinehinden på dens Væg. Næringsgelatinen i de firkantede Flasker smeltes nu i Vandbad ved 30°; Sandet synker tilbunds i den, og når der ikke længere stiger Luftblærer op fra Sandet, fordeles det så ligeligt som muligt i Gelatinen, som man derefter lader

stivne på Flaskens Væg. Efter en passende Tids Forløb tælles og undersøges Kolonierne i Kulturflaskerne samt i Medicinflaske 2 og på Aëroskoprøggen; Medicinflasken, i hvilken Glasuldproppen er udsat som Kontrolfilter, bør holde sig steril; kun i så Fald kan man være sikker på, at *alle* Luftkimene ere holdte tilbage af Sandet.

Opløselige Pulverfiltre.

Denne sindrige Methode angaves af *Pasteur* allerede for 30 År siden, men det er *Miquel* — vistnok den mest erfarne nulevende Aëroskopiker — som har gjenoptaget Metoden og uddannet den til dens nuværende Fuldkommenhed. Fremgangsmåden ved Anvendelsen af uopløselige og af opløselige Filtre er på så mange Punkter den samme, at jeg i det følgende kan indskrænke mig til at omtale Forskjellighederne.

Af de forskellige Pulvere, som der kan være Tale om at vælge (Rørsukker, Kogsalt, fosforsurt Natron, svovlsurt Natron o. s. v.) anbefaler *Miquel* *Rørsukker* og *svovlsurt Natron*.

Rørsukkeret stødes i en vel rensed Morter, og rystes gennem to Metalsigter, som ovenfor under Sandfiltrene beskrevet, så at Kornstørrelsen bliver henved $\frac{1}{2}$ Mm., hvorpå det spredes i tyndt Lag på et Stykke Papir og tørres i Tørsterilisationsovnen ved 110—120°.

Det *svovlsure Natron* må først i en emaillet Kasserolle smeltes i sit Krystallisationsvand, inddampes og tørres fuldstændigt, hvorpå det pulveriseres i en Morter og sigtes på ovenfor angivne Måde.

Da navnlig Sukkeret ikke tåler en så langvarig og stærk Opvarmning som Sandet, gjør man rettest i, når man bruger opløselige Pulvere, *først at tørsterilisere* det tomme, med Vat- og Glasuldpropper forsynede Aëroskop ved 150°, derpå, medens det endnu er varmt og *absolut tørt* efter Sterilisationen, at hælde det *tørrede* Pulver på som ovenfor beskrevet, og nu atter at tørsterilisere det *fyldte* Glasrør ved 130—140° i en Timestid. Når Pulver og Glasrør have været *tørre*, vil endog en højere Temperatur, 150—160°, tåles godt, og Sukkeret vil kun antage en ganske svag gullig Farve; i modsat Fald vil det karameliseres, og Aëroskopet blive ubrugeligt. — De sterili-

serede, pulverfyldte Filtre må, hvis de først skulle tages i Brug længere Tid efter, at de ere færdigt lavede, opbevares på et ganske *tørt* Sted, helst i en *Exsiccator*; i et højt Cylinderglas, som er lukket med en fastkittet Glasplade, og på hvis Bund der over en passende Mængde Chlorcalcium er anbragt en lille Jerntrådsplade på tre 5 Centimeter høje Ben, kan et helt lodretstillet Bundt af slige Aëroskoper let få Plads.

De rørformede Vatlåse, som opbevares dampsteriliserede, indsvøbte i Papir, påsættes først umiddelbart før Aëroskopet tages i Brug; — Pulveret stampes fast, Røret henstilles lodret, Vatlåsen gjemmes i en steril Glasæske, Gjennemsugningen finder Sted, Låsen sættes atter på, — alt ganske som ved Sandfiltrene beskrevet.

Ved den derpå følgende *Analyse* af det kimladede Filter benytter man

- 1) alle de under Sandfilteranalysen S. 97 nævnte Sager, men *desuden*
- 2) en med nogle få (5—10) Cc. sterilt Vand fyldt, vatlukket Medicinflaske,
- 3) en med sterilt Vand fyldt Erlenmeyersk Kolbe; alt eftersom man har Grund til at vente få eller talrige Kim i Filtret, anvender man en større (500—1000 Gram) eller mindre (50—100 Gram) Mængde Vand.

Derpå bliver Prop *a* udtaget og lagt i en steril Glasæske; — Prop *b* udsæt i den lille gelatinefyldte Medicinflaske — Prop *a* atter indsat — den rørformede Vatlås fjærnet — Pulveret hældt ud i den *Erlenmeyerske Kolbe*; hvis det ikke løber let ud, f. Ex. er delvis sammensintret, må man skyde det ud ved Hjælp af Vatproppen *a* og en steril tyk Metaltråd, der indføres gennem den vide Åbning; derpå skydes Kautschukslangen over Rørets vide Ende, dets spidse Åbning dyppes ned i det sterile Vand i den *lille Medicinflaske*, og Rørets Indside *skylles* omhyggeligt af ved Indsugning og Udblæsning af Vandet; sluttelig hældes dette Skyllvand over i den Erlenmeyerske Kolbe. Når Pulveret er *helt opløst* i Vandet, blive Kimene ligeligt fordelte i dette ved langvarig Rystning, og deres Mængde bestemmes, ganske som ved Vandanalysen beskrevet, i de firkantede Flasker.

De opløselige Filtre frembyde en stor Fordel fremfor de uopløselige, nemlig den, at man til den kvantitative Analyse kun behøver at benytte en Brøkdel af Pulveropløsningen og de deri indeholdte Kim, medens den overvejende Del kan benyttes til forskellige kvalitative Undersøgelser (bl. A. Opsøgning af Anaërobionter), som det ej var muligt at udføre med de tidligere Metoder, ved hvilke alle de opsamlede Kim måtte benyttes i den kvantitative Analyses Tjeneste.

Disse „faste Filtre“ — uopløselige og opløselige — ere ubetinget at foretrække for alle andre hidindtil opfundne Apparater til Bestemmelse af Luftens Kimmængde; de ere lette at transportere, de kunne ved enhver Temperatur „lades“ med Bakterier på Steder, som ligge langt borte fra Laboratoriet, og derefter opbevares, indtil man under gunstige Arbejdsbetingelser kan foretage Udsåningen; de gjøre det endvidere muligt i forholdsvis kort Tid at opsamle alle Kim fra et meget stort Rumfang Luft. — Af de faste Filtre ere atter de opløselige de uopløselige langt overlegne.

Kun i sjældne Undtagelsestilfælde slå de ikke til: Det kan efter Miquels Erfaring i særligt stærkt tåget Vejr hænde, at det bliver umuligt at arbejde såvel med uopløselige som med opløselige Pulverfiltre; i så Fald kan man da nødes til at gribe til

Gjennemboblingsapparater.

Et sådant kan man meget let sammensætte på følgende Måde: Et smalt Pille- eller Cylinderglas forsynes med en tæt-sluttende Kautschukprop med dobbelt Boring, gennem den ene går et lige, i en fin Spids udtrukket Glasrør, som når ned til Bunden, og som foroven er lukket med en rørformet Vatlås (a), gennem den anden går et i en meget stump Vinkel bøjet Glasrør, som ved b og c er forsynet med to Vatpropper eller bedre med en Glasuldprop (b) og en Vatprop; i Glasset fyldes et 3 Ctm. højt Lag af den Vædske eller Gelée, i hvilken Kimene skal opfanges. Man steriliserer det hele før Brugen i Autoklaven, eller man anvender Kochs Dampsterilisationskasse under Iagttagelsen af de S. 13 givne Forsigtighedsregler (for-

udgående Tørsterilisation af Glas- og Vatdelene, Dampsterilisation af Kautschuk-Delene, — Påfyldning og Sammenføjning — definitiv Dampsterilisation af det sammenføjede Apparat). Efter Sterilisationen bliver til yderligere Sikkerhed Proppen tættet med Parafin.

Fremgangsmåden er lidt forskjellig, alt eftersom Gjennemsugningen foretages gennem 1) en *Vædske* (Cohn, Miquel o. m. Fl.) eller gennem 2) en *smeltelig Nærings-Gelée* (Tryde, v. Sehlen, Hueppe, Straus & Würtz).

1) I første Tilfælde anvendes *sterilt Vand*; Aspiratoren sættes i Forbindelse med *c*. Rørlåsen (*a*) fjernes, og Gjennemsugningen foretages; når denne er til Ende, påsættes atter Rørlåsen *a*, ved at blæse forsigtigt gennem *c* lader man Vandet gjentagne Gange stige op i Røret *d* for at nedskylle de på dets Indside fastklæbede Kim; man fjerner med Pincet Vatproppen *c*, støder med steril Metaltråd Glasuldproppen *b* ned i Vædsken, indsætter atter Vatproppen *c* og ryster omhyggeligt, — hvorpå Kimmængden i Vandet bestemmes efter de for Vædske-Analysen givne Regler. Den hensigtsmæssigste Form er: Ved Hjælp af en steril Pipette at fordele hele Aëroskopets Indhold hurtigt og forsigtigt i mindre Portioner på firkantede gelatinefyldte Flasker (Fig. 38) og i dem foretage Pladespredninger; samt til de i Aëroskopet tilbageblevne Dråber Vand at sætte nogle Cubikctm. steril Næringsgelatine som i en „Rullekultur“ udbredes på Glassets Væg.



Fig. 47.
Gjennemboblings-
Aëroskop.

2) I andet Tilfælde benytter man *Nærings-Gelatine* eller *Agar*, som da under Gjennemsugningen må holdes flydende ved at sættes i varmt Vand (henholdsvis 30° og 40°). Gelatinens stærke *Skummen*, der umuliggjør en nogenlunde hurtig Gjennembobling af Luften, kan man forhindre derved, at man sætter nogle Dråber steril Olivenolie til Gelatinen (Straus og Würtz); derved bliver det muligt at suge store Luftmængder gennem Gelatinen i kort Tid; på den anden Side vanskeliggøres Iagttagelsen af Koloniernes Udvikling ikke lidet derved, at Oljen under Gjennemboblingen emulsioneres fint i Gelatinen og således gør denne uklar.

Gjennemsugning og Nedstødning af Glasuldproppen foretages som ovenfor beskrevet, hvorpå Kautschukproppen et Øjeblik fjernes, og Indholdet hurtigt hældes *ud i et sterilt Glas-Tallerken-*

par (Fig. 17); Låsen påsættes atter, og de i Beholderen tilbageblevne Dråber Gelée udbrede på dens Indside til en „Rullekultur“.

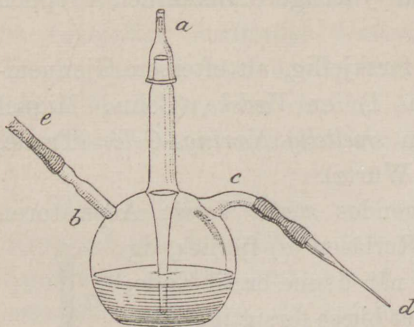


Fig. 48.

Miquel's Gjennemboblingsapparat.

ene — *Miquels* — er nærmest bestemt til *Vædsker*; det består af en Flaske, hvis Hals, der foroven er lukket med Vatlås (a) ganske som en Pasteurs Kulturflaske, nedadtil forlænger sig med en fint udtrukken Spids lige til Flaskens Bund. Siderøret b, i hvilket der er anbragt to Vatpropper (ej gjengivne på Figuren) forbindes med et Sugeapparat; til det andet Siderør c er ved Hjælp af et Stykke Kautschukrør befæstet et kapillært udtrukket, ved d *tilsmeltet*, Glasrør. I Flasken hældes 30—40 Cctm. Vand; under Gjennemsugningen aftages den hætteformede Vatlås, når den er flamberet og atter påsat, blæser man, som ovenfor beskrevet, ved e for at afskylle de på Halsens Indside fastklæbende Kim, støder den inderste Vatprop i Røret b ned i Vædsken, flammerenser og afbrækker Spidsen, udhælder gennem denne Vædsken på firkantede gelatinefyldte Flasker til Kimspredning, samt tilsætter lidt steril Gelatine til de i Flasken tilbageblivende Dråber.

Det andet, Fig. 49 afbildede, Apparat er konstrueret af *Straus & Würtz* og nærmest bestemt til *gelatiniserende* Substrater. Dets øverste og nederste Afsnit måler 15 Mm. i Diameter, medens Mellemsykket A danner en vid cylindrisk Beholder, som bærer det let indsnævrede Siderør D med de to Vatpropper f og g. Røret B er forneden *fint* udtrukket, foroven lukket med en Vatprop e og bærer den slebne Udvidning C, der lufttæt lukker Beholderens Munding, når Røret anbringes i denne, som Figuren viser. Apparatet steriliseres ved 150°, derefter påhældes 10 Ccm. 10 pCt.

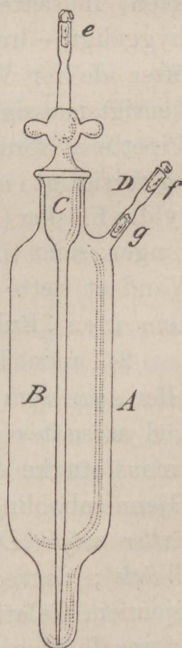


Fig. 49.

Straus & Würtz's Æeroskop.

Gelatine (eller bedre Agar-Gelatine), samt nogle *Dråber steriliseret Oliven-olje*; endelig dampsteriliseres det Hele. Gelatinen smeltes; *D* sættes ved en Kautschukslange i Forbindelse med en Aspirator, og *e* fjernes; under Gjennemledningen holdes Næringssubstratet flydende (Gelatine ved Håndvarme, Agar-Gelatine i Vandbad). Efter Gjennemledningen gjenindsættes *e*; ved at puste gennem *D* lader man Gelatinen gjentagne Gange stige op i *B* for at afskylle fastklæbede Kim: *f* udtages, og *g* stødes med en steril Platintråd ned i Gelatinen; man gjenindsætter *f*, ryster lempeligt *g* rundt i Gelatinen og kan nu enten lade denne stivne i selve Beholderen som en Esmarchsk Rullekultur, eller — bedre! — hælde den ud på Glas-tallerkener.

Vi have i dette Kapitel så godt som udelukkende beskæftiget os med den *Koch'ske Gelatinesprednings* Anvendelse i den bakteriologiske Analyses Tjeneste; den må også for så vidt siges at være *Bakteriologiens analytiske Hovedmethode*, som Anlæggelsen af Koch'ske *Pladekulturer* under en eller anden af de beskrevne Former er det Middel, vi først ville gribe til, når vi skulle opsoge og rendyrke Bakterierne i et givet Stof. Det må imidlertid erindres, at den, *således som den ovenfor er skildret*, kun er beregnet på *aërobe* Bakterieformer; men til en udtømmende Analyse af en ubekjendt Bakterieblending hører jo tillige *Eftervisningen af de obligat anaërobe Arter*, der spille en så stor Rolle i Naturens Husholdning — også som Sygdoms-årsager; de ere i det foregående ladte helt ude af Betragtning og ville blive Gjenstand for en udførlig og særlig *Behandling i næste Kapitel*.

Men aldeles bortset herfra må vi altid have for Øje, at Pladekulturerne kun føre til Målet, *når vi tilstrækkeligt variere Næringssubstrat, Temperatur, Iagttagelsestid, Kimmængde* o. s. v.: Er der for talrige Kim i en Geléespredning, kunne enkelte Former fuldstændigt umuliggjøre andre tilstedeværende Arters Væxt; foretages Undersøgelsen på et *tidligt Stadium*, må man frygte for ikke at støde på de sent spirende Arter, *udsættes* på den anden Side Undersøgelsen af en *Gelatine-Spredning*, risikerer man, at *hurtigt voxende, peptoniserende* Bakterier og *Skimmelsvampe* lægge store Partier af Geléen øde og skjule de derværende, trægt voxende Kolonier og Kim; — mange

kræse Arter spire aldeles ikke i de almindeligt benyttede Næringsgeléer, selv om de henstilles ved den for dem gunstigste Temperatur — andre kræve særligt høje eller lave *Varmegrader* for at spire eller for at kunne hævde sig i Kampen for Tilværelsen. Når man gør sig dette klart, vil man forstå, hvorfor en udtømmende Analyse af en ubekendt, broget Bakterie-blanding, således som vi kunne finde den i Overfladevand, kræver et så omfattende og stort Arbejde (smlg. S. 85), og hvorfor en „Vandanalyse“ af den ovenfor skildrede Art — altså en simpel Spredning i Næringsgelatine med Undersøgelse på 3dje—4de Dag — kan give et meget vildledende Billede af den undersøgte Vædskes Bakteriefloa, selv om den slår fuldkomment til som Kontrolmethode for Filterdriften.

Gelatinespredningen er med andre Ord ingen Universal-methode i den Forstand, at den skulde kunne gøre enhver anden Fremgangsmåde overflødig; vi kunne tvertimod ofte med Nytte gribe til en af de i Kap. IV („Ren Udsæd“) skildrede Isolations-metoder, enten alene eller som Hjælpemethode, og det er kun ved en efter Forholdene afpasset Kombination af „de fysiologiske Forskjelligheders Metoder“ og „Spredningsmetoderne“, at det er lykkedes at rendyrke den lange Række af Smitstoffer, som vi i de senere Aar have lært at kjende.

I denne Henseende kan der imidlertid ingen almindelig Regel gives; man må i hvert enkelt Tilfælde vælge sin Plan. Exempler på de anvendte Fremgangsmåder findes beskrevne i Kap. XIV.

KAPITEL VIII.

Dyrkning af Anaërobionter.

I 1861 gjorde *Pasteur* den overraskende Opdagelse, at der gives Organismer, som kunne leve, ernære og forplante sig uden Adgang til fri Ilt. Hans Lære om „la vie sans air“, *Anaërobiosen*, blev modtaget med Tvivl og Mistro, men fortsatte Undersøgelser bekræftede hans Iagttagelse fuldstændigt.

Ja, Pasteur ledede endog med Anaërobiosen som Udgangspunkt hele Respirationsfysiologien ind i nye Baner og rykkede os Forståelsen af mange vigtige Gjæringsprocesser nærmere. Anaërobiosen viste sig at være et meget betydningsfuldt og udbredt Fænomen, og ved nærmere Undersøgelse af de forskellige Bakteriers (Gjær- og Skimmelsvampes) Ilttræng fandt man, at dennes Styrke var yderst forskjellig. Nogle Bakterier kræve

en meget rigelig Iltadgang for at kunne trives, på andre derimod virker den frie Ilt som en Gift, der ikke blot hindrer deres Trivsel, men hurtigt udslukker deres Liv, og midt imellem disse to Yderpunkter, de udpræget *aërobe* og de udpræget *anaërobe*, findes en hel Skala af Overgangsformer. Nogle synes at trives *omtrent lige godt med og uden Adgang af fri Ilt*; nogle voxer livligt ved en lavere, andre ved en højere Iltspænding, — et For-

hold, der undertiden på en meget slående og iøjnefaldende Måde giver sig et Udtryk i Gelatinekulturernes Form og Udseende; medens Væksten omkring Podestikket i de gelatinefyldte Reagensglas jo for mange Formers Vedkommende foregår meget rigeligt på og umiddelbart under Overfladen og aftager i Styrke nedad mod Bunden (se Fig. 50 c), kan man træffe andre Kulturer (Fig. 50 a), som vise en yderst svag Væxt nær Overfladen, medens Bakteriekolonien tiltager jævnt i Tykkelse, alt eftersom man fjerner sig fra Atmosfæren;

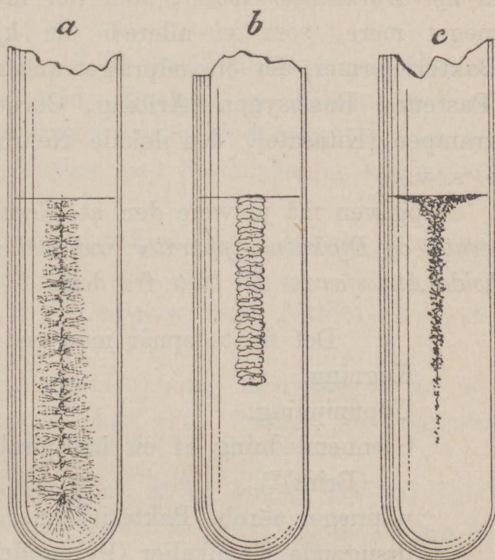


Fig. 50. *a.* Museseptikæmiens Bacil dyrket i K. P. G. — *b.* En ufarvet Gjærsvamp dyrket i Rosingelatine. — *c.* Miltbrandsbacillen, dyrket i K. P. G. De tre Kulturer have henstået i samme Tid under nøjagtigt samme Forhold.

— hin er selvfølgelig en *aërob*, denne en *anaërob* Form; foruden disse mer eller mindre kegleformede Kulturer med nedad- eller opadvendende Spids træffer man andre, der præsenterer sig som en trådfin eller tyk Cylinder langs Podestikket (Fig. 50 b), — på deres Væxt har Atmosfærens Ilt hverken virket hemmende eller fremmende.

Anaërobiosens Opdagelse har nødvendiggjort Indførelsen af nye *Dyrkningsmetoder*, som her må omtales udførligt, så meget mere, som vi allerede nu kjende mange *pathogene* Bakterierformer, der ere udpræget anaërobe (det maligne Ødem [Pasteur], Raslesygen [Arloing, Cornevin & Thomas], Stivkrampen [Kitasato], den lokale Nekrose hos Kvæget [Bang] o. s. v.).

Opgaven må jo være den at *fjerne al den i Næringssubstrater og Dyrkningsapparater indeholdte fri Ilt* og dernæst at *holde Atmosfærens Ilt borte* fra dem.

Det første opnår man ved

Kogning,

Udpumpning,

Gjennemledning af en irrespirabel, ikke giftig Luftart (Brint)*),

udpræget aërobe Bakterierformer (*B. subtilis*),

iltsugende Kemikalier (Pyrogallussyre),

og man skjærmer Næringssubstraterne mod Atmosfæren ved Hjælp af

faste (Glas, Glimmer, Agar, Parafin-Vaselin) flydende (Olivenolje, Petroleum) luftformige (Brint o. s. v.)	} Legemer.
---	-------------------

Man vil finde Exempler på de fleste af de ovennævnte Fremgangsmåder beskrevne i det Følgende, hvor jeg dog skal indskrænke mig til at omtale et *begrændset Antal* Dyrkningsmetoder og -apparater, som have fået erfarne Forskeres

*) Også *Kulsyre* (Pasteur) og *Belysningsgas* (Würtz, se nedenfor S. 113) kunne benyttes, men det må erindres, at de ere *giftige* for mange Bakterie-Arter (Fraenkel, Kladakis).

Anbefaling; Hovedvægten vil atter — i Overensstemmelse med Bogens Plan — blive lagt på de Kulturmehoder, der kræve det lettest tilgængelige og mindst bekostelige Materiel.

Til Dyrkning af Anaërobionter *behøves ingen særlige Nærings-substrater*, dog synes Væxten af mange anaërobe Bakterier at begunstiges ved Tilsætning af let iltelige Substantser til Næringsmediet. Navnlig anbefales:

1. Tilsætning af 2 pCt. *Druesukker* (Liborius); også den gavnlige Virkning af

2. *Gelatine*-Tilsætning til Næringsvædskerne må vistnok forklares på den angivne Måde (Duclaux). — *Kitasato og Weyl* have anstillet en Række systematiske Undersøgelser over de let iltelige Stoffer, der således med Fordel kunne komme til Anvendelse; de anbefale

3. Tilsætning af 0,3—0,5 pCt. *myresurt Natron* til en almindelig Næringsagar, samt

4. Tilsætning af 0,1 pCt. *indigo-svovlsurt Natron* til en almindelig Næringsagar.

Når Dyrkningen af en Anaërobiont mislykkes i de almindelige Næringssubstrater, kan man forsøge de nævnte Tilsætninger.

De allersidste minimale Spor af Ilt kunne ikke antages at være fjernede fra Kulturapparaterne, selv ved de bedste af de nedenfor beskrevne Metoder, men de have under alle Omstændigheder vist sig tilstrækkeligt iltfri til, at man i dem har kunnet dyrke de mest exkvisite Anaërober. Som et let anvendeligt og for vort Formål tilstrækkeligt fint Reagens på Iltfriheden kan *Indigotinet* anbefales: Når man til et af de almindelige faste eller flydende Næringssubstrater, som er gjort stærkt alkalisk, og til hvilket der yderligere er tilsat en ringe Mængde *Druesukker*, føjer så meget af en *indigotin-svovlsur Natron-Opløsning**), at Vædsken eller Geléen får en tydeligt blå Farve — og når man dernæst på en eller anden Måde — ved Kogning, Brintgjennemledning eller Udpumpning — udjager den i det blåfarvede Substrat absorberede Ilt, bliver

*) Indigotinet opløses ved Kogning i stærk Svovlsyre; derpå neutraliseres ved Tilsætning af kulsurt Natron.

dette affarvet, idet Indigoblåt af Druesukkeret reduceres til Indigohvidt. En Tilbagevenden af den blå Farve viser, at Ilten ikke er tilstrækkeligt pålideligt afspærret. — Man kan på denne Måde f. Ex. let overbevise sig om, *hvor langsomt* Ilten diffunderer ned i et højt Agarlag og i det hele prøve Pålideligheden af de nedenfor beskrevne Kulturmethoder.

Dyrknings-Apparaterne og -måderne ville nu blive beskrevne i to Hovedgrupper, alt eftersom de skulle benyttes til

I. *Vedligeholdelse af en foreliggende anaërob Renkultur*, enten denne nu er given „in vitro“ eller i en syg Organisme.

II. *Rendyrkning af anaërobe Former ud af en Bakterie-blanding.*

I. Vedligeholdelse af en given anaërob Renkultur.

1. *Dyrkning i højt gelatinerende Lag (Liborius).*

Et Reagensglas fyldes med et 10—15 Centimeter højt Lag Næringsgelatine eller -Agar; ved Opvarmning i Autoklave eller Dampsterilisationsapparat eller ved forsigtig Kogning over fri Flamme udjages den absorberede atmosfæriske Luft, hvorpå Glasset nedsænkes i koldt Vand, for at Indholdet *hurtigst muligt* kan bringes til at stivne; såsnart dette er sket, anlægges efter de sædvanlige Regler Stikkulturen med en (*lige*) Platin- eller *Glasnål*, der er lang nok til at kunne nå helt ned til Glassets Bund. Når Dyrkningen lykkes, vil man da se Bakterierne udvikle sig langs Podestikkets *dybere* Partier, medens der i de øverste Lag af Næringsgeléen ingen Væxt iagttages (se Fig. 51). Naturligvis kan Såningen af en Renkultur i højt Lag også foretages ved Spredning (som nedenfor S. 118 beskrevet).

2. *Dyrkning under flydende eller smelteligt Dække.*

I et Reagensglas, der indeholder et Lag Næringsgelée af den sædvanlige Højde, bringes dette i Kog over fri Flamme, afkøles og stivnes hurtigst muligt ved Nedsækning i koldt

Vand, hvorpå strax Såningen foretages med Nål; umiddelbart derefter overhældes Næringssubstratet, under Iagttagelse af de sædvanlige Forsigtighedsregler, med et fem Centimeter højt Lag af enten

1. *Olivenolie*, eller
2. *Vaseline*, eller en af *Miquel* angiven Blanding af
3. *Vaseline 90, Vox 8, Parafin 2*, eller
4. *en 2 pCt. Agaropløsning*.

Det følger af sig selv, at de dækkende Substantser iforvejen må være steriliserede, om fornødent smeltede og ikke stærkere opvarmede end nødvendigt for at holdes flydende.

Denne Methode kan benyttes til Dyrkning såvel i *flydende* som i *fast* Næringssubstrater.

Miquel anbefaler at have Kulturglassene stående i Beredskab, forsynede med Vaseline-Vox-Parafin-Proppe: Når Næringssubstratet er påfyldt, overhældes det med den smeltede Masse, og det hele steriliseres i Autoklave ved 115°. Således behandlede kunne Kulturapparaterne holde sig brugbare i meget lang Tid; før Brugen smeltes Proppen i Vandbad.



Fig. 51.
Stikkultur
af en Anaë-
robiont i
højt Gela-
tinelag.

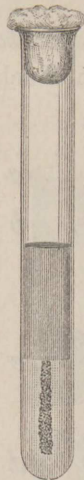


Fig. 52.
Stikkultur
af en Anaë-
robiont
under Vase-
lineprop.

3. Dyrkning i helfyldte, tilsmedte Beholdere

er anvendt af *Pfeffer*, der benyttede små „selvsugende Kolber“, som fyldtes helt med Næringssubstratet på den S. 94 beskrevne Måde, senere af *Roux* og af *Nikiforoff*. Det er en ret ufuldkommen Methode, der dog i visse Tilfælde kan yde gode Tjenester; et Exempel herpå findes anført nedenfor i Kap. XIV (det maligne Ødems Bacil).

5. Ilten fjernes ved Hjælp af Pyrogallol.

Denne Fremgangsmåde er først anbefalet af *Buchner*, der sår den anaerobe Form i et lille, vatlukket, agarfyldt Reagensglas, som derpå anbringes på et Trådstativ i et andet, større Reagensglas, i hvilket der

findes en alkalisk Pyrogallol-Opløsning (1 Gmm. Pyrogallussyre til 10 Ccm. af en 10 pCt. Kali-Opløsning); det store Reagensglas lukkes med en tætsluttende, parafinoversmeltet Kautschukprop.

Stribolt har angivet en hensigtsmæssig Simplifikation af den *Buchner'ske Methode* (s. Fig. 53). Han benytter et vat-



Fig. 53.
Anaëro-
biont, dyr-
ket under
Pyrogallol
(efter *Stri-
bolt*).

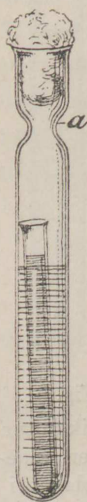


Fig. 54.
Kultur-
apparat til
Anaërob-
dyrkning
(*Salomon-
sen*).

lukkert Reagensglas, som indeholder den sædvanlige Mængde Næringsvædske eller -Gelée; når denne er bragt i Kog og atter hurtigt afkølet ved Nedsænkning i koldt Vand, foretages Såningen; derefter afsvides øverste Del af Vatproppen, og denne (*d*) skydes med en steril Glasstang ned til Næringssubstratets Overflade uden dog at berøre denne. Dernæst skydes en tætsluttende Prop af *hygroskopisk* Vat (*c*) ned i Reagensglasset, indtil den er i en ringe Afstand fra Vatprop *d*, og ved Hjælp af en Pipette dryppes der så meget Pyrogallolopløsning på den afstedede Vatprop, som den kan optage; men man må sørge for ikke at tilsætte mere, såat Overskudet løber ned under Proppen; man anbringer nu en tredje tætsluttende Prop af almindeligt, men i *Forvejen* tørsteriliseret Vat i Reagensglassets Munding, skyder Vattet lidt ned under dennes Niveau og lukker endelig hermetisk ved at hælde smeltet Parafin (*a*) over Proppen, indtil det står i Højde med Glassets Rand.

5. Ilten fjernes ved Hjælp af aërobe Bakterier.

Roux's Fremgangsmåde er følgende: I et vatlukkert Reagensglas bringes en passende Mængde Næringsagar i Kog og afkøles hurtigt i koldt Vand; strax efter at den er bleven fast, foretages Såning med Glasnål; en ringe Mængde flydende, ikke for varm Næringsgelée hældes nu ned i Reagensglasset, og så snart den er stivnet, sås på dens Overflade et Par Dråber Kultur af *B. subtilis* (eller en anden udpræget

Aërobiont). Reagensglasset tilsmeltes og henstilles i Thermostat. *B. subtilis* vil nu voxe livligt på Overfladen, forbruge den ovenstående Ilt og således umuliggjøre dens Adgang til Agar'en, i hvilken den anaërobe Mikrob altså kan udvikle sig uforstyrret. Vil man så fra denne, åbner man Glasset ved at *afsprænge dets Bund* for at undgå Tilblanding af *B. subtilis*.

Dyrkningen kan også foretages i det Fig. 54 afbildede Apparat, hvor Sammenblandingen af de to Former helt undgås. Det indvendige Glas fyldes (ved Hjælp af en Pasteurs Pipette) med Agar-Gelatine, Rummet udenom med Bouillon, i hint sås den anaërobe, i dette den aërobe Form, hvorefter man tilsmelter ved *a*.

6. Dyrkning under Brint.

Brintudviklingsapparat. I Almindelighed benyttes hertil det *Kipp'ske Apparat* eller en af de mange lignende Modeller (R. Nr. 305—6, smlg. *Struers Prisliste* Nr. 421—26); men for Resten kan Enhver let — efter

S. M. Jørgensens Anvisning — sammensætte sig et meget hensigtsmæssigt Brintudviklingsapparat for et Par Kroners Penge: Et almindeligt, indsnævret Lampglas sættes ved en *ikke tæt* sluttende Korkprop (*a*) fast i et Cylinderglas, der indeholder en Blanding af 1 Vægtdeel Svovlsyre og 8 Vægtdele Vand, tilberedt ved forsigtigt og under Omrøren at hælde Syren i Vandet (ikke omvendt), samt et Par Dråber Platinchloridopløsning. Ved *b* er anbragt en gennemhullet og med tyndt Lærred overbundet Blyplade, hvorpå lægges ærtestore Stykker kemisk rent Zink. Proppen *c* må være

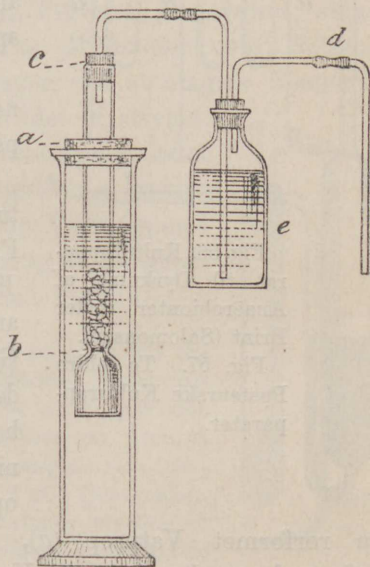


Fig. 55.

Brintudviklingsapparat (efter S. M. Jørgensen).

af Kautschuk og *slutte fuldstændigt tæt*. Så snart Zinken kommer i Berøring med Syren, udvikles Brint; men lukkes Kautschukforbindelsen *d* med en Klemmehane, vil Brinten trykke Syren

tilbage under *b*, og Udviklingen standser; åbnes Klemme-
hanen, begynder Udviklingen påny. Man lader Brinten på
Vejen til Kulturapparaterne boble gennem en alkalisk Op-
løsning af Pyrogallussyre for at absorbere tilblandede Spor af
Ilt (1 Del af en 25 pCt. vandig Opløsning af Pyrogallussyre
blandes i en *helfyldt* Flaske omhyggeligt med 10 Dele af en

Fig. 56.

Fig. 57.

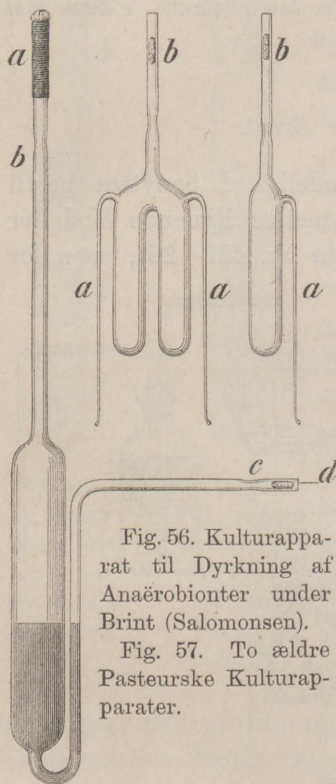


Fig. 56. Kulturappa-
rat til Dyrkning af
Anaërobionter under
Brint (Salomonsen).

Fig. 57. To ældre
Pasteurske Kulturap-
parater.

60 pCt. Kali-Opløsning). Man for-
sømme ikke, førend man forbinder
Dyrkningsapparat og Brintud-
viklingsapparat, at overbevise sig
om, at al atmosfærisk Luft er ud-
jaget af dette, så at kun *ren Brint*
strømmer ud gennem *d*.

Dyrkningen under Brint kan
foretages, efterat Iltten er udjaget
af Næringssubstrat og Dyrknings-
apparat ved

a) tilstrækkelig langvarig *Gjen-
nemledning* af en Brintstrøm og
påfølgende Tilsæltning.

a) Man kan f. Ex. benytte Kul-
turapparater som det nedenfor
Fig. 65 afbildede*); også det *Straus-
Wirtz'ske* Aëroskop (Fig. 49) kan
anvendes eller det af mig angivne
Gjennemlednings-Apparat (Fig. 56);
dets Beholder er henved 10 Ctm.
høj og henved 2 Ctm. vid. Så-
ningen finder Sted gennem det
opstigende Rør, der er lukket med

en rørformet Vatprop (*a*), Brinttilledningen gennem det
S-formede med en simpel Vatlås (*d*) forsynede Rør. Rørene
blive i Nærheden af Vatproppene (se Tegningen *b* og *c*) ind-

*) Brintgjennemledningen kommer særligt til Anvendelse, når man
ønsker at dyrke en Anaërobiont i *store Mængder Næringsvædske*,
f. Ex. for nærmere at studere dens Stofskifteprodukter; man be-
nytter da *en stor Flaske*, der forsynes med Kautschukprop og Glas-
rør som Reagensglasset Fig. 65.

snevrede på et kort Stykke, umiddelbart før Brintgjennemledningen begynder, og såsnart den er fuldendt, tilsmeltes Apparatet paa de 2 indsnevrede Steder. Foretages Dyrkningen i Næringsgelée, må hele Apparatet naturligvis være nedsænket i et tilstrækkeligt varmt Vandbad, sålænge Gjennemledningen står på. Når man gjør Rørene tilstrækkeligt lange, kan et sådant Apparat bruges flere Gange i Træk.

På den angivne Måde får man i de faste Næringssubstrater *Spredningskulturer*, hvilket jo forøvrigt ingen Ulemper medfører. Ønsker man at anlægge

β) *Stikkulturer* i G. eller A. under Brint, lader dette sig også let udføre: Man anbringer Reagensglasset med den smeltede Næringsgelée i et Klemme-Stativ, nedsænket i *varmt* Vand, og leder Brint gennem Geléen ved Hjælp af en bøjet Pasteurs Pipette (s. Fig. 66); når Gjennemledningen har varet tilstrækkeligt længe, trækker man Pipetten lidt ivejret, så at dens Spids bliver stående et Par Millimeter over Geléens Overflade, og påskynder Afkjølingen ved at omgive Reagensglasset med *koldt* Vand; når Indholdet er stivnet, foretager man — idet man vedblivende lader Brinten strømme hen *over* Næringsgeléen — hurtigt Såningen med Podenål, sætter atter Vatproppen i og lukker hermetisk ved Tilseltning af Reagensglasset eller ved Overhældning med Parafin.

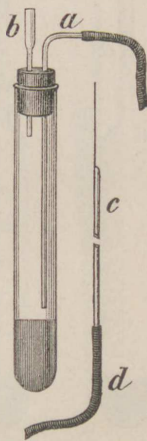


Fig. 58.

Anmærkningsvis skal her omtales en af Würtz anbefalet Methode til Anlæggelse af *Stikkulturer under Belysningsgas*, hvis Giftighed ingenlunde altid gjør den uanvendelig ved Anaërobdyrkningen. Würtz går frem på følgende Måde (s. Fig. 58): Fra et Reagensglas, som indeholder K. P. A. med en Tilsætning af 2 pCt. Druesukker, fjernes Vatproppen, og på dens Plads anbringes (sterilt!) en Kautschukprop med dobbelt Boring, i hvilken er anbragt de to Glasrør *a* og *b*; af disse står sidstnævnte i Forbindelse med Gasledningen; Agaren opvarmes til Kogning, og medens den stadigt holdes i Kog, åbner man for Gassen og tænder ved *a*, så at den udstømmende Gas strax forbrændes; efter fem Minutters Gjennemledning lukker man atter for Gassen og hælder hurtigt gennem *b* Vaseline eller steriliseret Olje i så stor Mængde, at den danner et to Centimeter højt Lag over Geléen; derpå lader man afkøle. Ved Tilsåningen hældes Glasset så stærkt, at den halve Agar-Overflade lægges blot, og Pode-

Anaërobdyrkning under Belysningsgas efter Würtz.

stikket udføres med en Platintråd, der er *indsmeltet i Væggen af et Glasrør* (s. Fig. 58), som ved en Slange er forbundet med Gasledningen; sålænge Såningen står på, lader man Gassen strømme gennem Røret.

Dyrkning under Brint kan endvidere foretages, uden at Brinten ledes *gjennem Næringssubstratet*, idet man

b) *afvejlende suger Luften ud af Kulturapparatet ved Hjælp af Vandluftpumpe og tillæder Brint.*

Som Dyrkningsapparater benyttes i så Fald bedst enten

a) *Roux's Kolber* eller

β) *Pasteur'ske Pipetter med Indsnevring.*

a) En *Roux's Kolbe* findes afbildet Fig. 59—60; efterat en lille Vatprop er anbragt i dens Munding, bliver den tørsteriliseret og fyldes med Næringsvædske efter de for Påfyldningen af „selvsugende Kolber“ Side 94 givne Anvisninger; derpå dampsteriliseres. Efterat den lille Vatprop et Øjeblik er fjernet med en steriliseret Pincet, foretages Såningen ved Hjælp af en lang Platin- eller Glasnål eller af et Hårrør, der er tyndt nok til at kunne passere Indsnevringen ved *c*. Efterat Såningen er fuldendt, skydes Vatproppen (*a*) ned til det indsnævrede Parti; ved Smeltning og Udtrækning i Gasflammen frembringes endnu en Indsnevring ved *b*, hvorpå Kolben ved Hjælp af en Kautschukslange anbringes på et T-Rør, hvis to Grene ere forsynede med Glashaner (Fig. 59) og henholdsvis stå i Forbindelse med et Brintudviklings-Apparat (Fig. 55) og en Vandluftpumpe (Fig. 10).

Man undlade ikke før Forsøgets Begyndelse

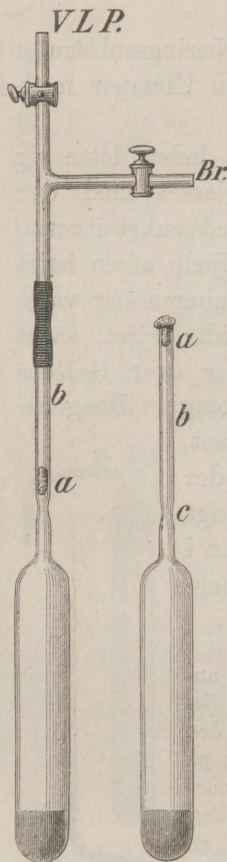


Fig. 59. Fig. 60.

Roux's Dyrkningskolbe (se Teksten).

at overbevise sig om, at de ved Kautschukslanger forbundne Glasrørsender ere rykkede saa tæt sammen som muligt, altså i direkte Berøring med hinanden, at Slangerne ere tætsluttende

og tykvæggede, at Brintapparatet er fyldt med *ren* Brint, at begge de to Glashaner ere vel indfedtede.

Ved at åbne for Vandet, sætter man nu Vandluftpumpen i Gang, og den holdes uafbrudt i Virksomhed indtil Forsøgets Slutning; derefter åbnes Hanen *VL P* nogle Minutter og lukkes atter; hvorpå Hanen *Br* åbnes, så at Kulturapparatet fyldes med Brint; når Brintstrømmens Standsning viser, at dette er sket, lukkes atter for Brinten, den til Vandluftpumpen førende Hane åbnes påny, og denne afvexlende Sugning og Brinttilledning gjentages fem—sex Gange. Når derefter begge Glashaner atter ere lukkede, åbner man Ventilflasken ved at fjerne Proppen *e* (Fig. 10, S. 16), lukker for Vandet og afsmelter langsomt og forsigtigt Kolben ved *b*; dette kan uden Vanskelighed gøres ved Hjælp af en Bunsenbrænder eller en i dens Sted på Gaslangenen indsat Pasteur-Pipette. — Når Kolben senere skal åbnes, sker det ved at indfile og overbrække Røret *ovenover* Vatproppen *a*.

β) En *Pasteur-Pipette med Indsnevring* findes afbildet Fig. 61. Enhver kan let ved Hjælp af en almindelig Bunsen-Brænder lave sig dette Kulturapparat, som, når det kun gjælder om at vedligeholde en anaërob Renkultur, og *Mængden* af den anvendte Næringsvædske er ligegyldig, er at foretrække for de større og kostbarere Roux'ske Kolber. Når Pipetterne ere forsynede med Vatprop og tørsteriliserede, åbnes de ved Afbrækning af Spidsen *f*; denne dyppes ned i Næringsvædsken, som påfyldes, idet man suger ved *a*; *f* tilsmeltes atter, hele Apparatet dampsteriliseres og er nu færdigt til at tages i Brug ganske på samme Måde som en Roux's Kolbe; altså: Proppen *a* fjernes, man sår med lang Nål eller Hårrør; Proppen sættes atter i og skydes ned til *d*; Apparatet indsnevres lidt ved *b* og anbringes på T Røret; efter Udpumpning og Brinttilledning af- og tilsmeltes ved *b*; når Dyrkningen

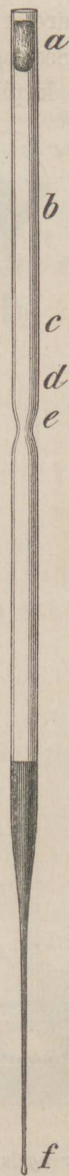


Fig. 61.

En Pasteur-Pipette med Indsnevring; til Anaërob-Dyrkning.

senere er fuldendt, indfiler og overbrækker man ved *c*. — Podning og Såning kan nu foretages ved efter omhyggelig Rensning af det kapillære Afsnits Udside (dyppe i stærk Salpetersyre, afskylle med sterilt Vand) at afklippe Spidsen *f* og puste ved *a*.

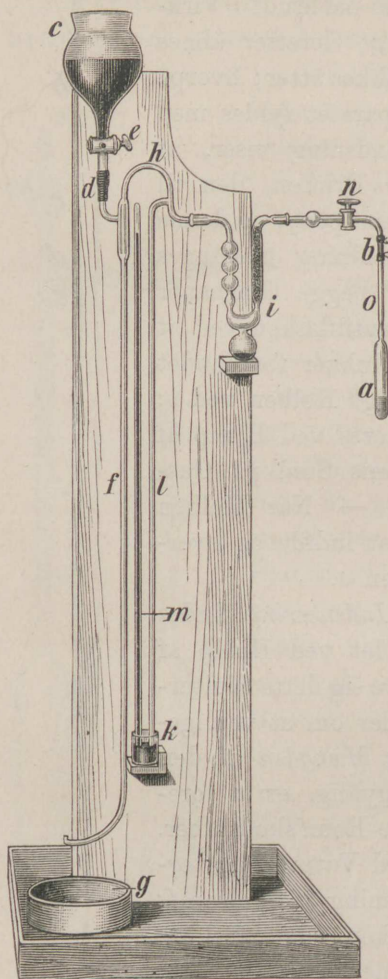


Fig. 62.

Sprengel's Kvægsølv-Luftpumpe, på hvilken en Roux's Kolbe er anbragt.

7. Dyrkning i lufttomt Rum.

Hertil kræves en *Kvægsølvluftpumpe*. Exempelvis beskrives her korteligt en med den *Sprengel'ske* (af *Hüfner* modificerede) Model foretagne Udpumpning af et Kulturapparat (Fig. 62).

Som sådant benyttes atter her enten Roux's Kolbe eller Pasteur-Pipetten*) (Fig. 61); de fyldes som ovenfor beskrevet, dog kun med en *forholdsvis ringe Mængde* Næringsvædske (smlg. Fig. 60 og 61) af Hensyn til den senere ved Udpumpningen bevirkede Boblen og Skummen. — Når Dyrkningsapparatet er tilsået og derpå ved Hjælp af en tykvægget Kautschukslange *b* er anbragt således, at dets øverste Ende når helt op til Hanen *n's* nedadkrummede Tilledningsrør, — når man har overbevist sig om, at Glashanerne *n* og *e* samt de to Slibninger, der forbinde det U-formede Rør *i* med Apparatet, ere omhyggeligt indfedtede og tætslutende, — når Beholderen *c* er fyldt med rensset Kvægsølv, — begynder man Udpumpningen, idet man langsomt og forsigtigt åbner Hanen *e* såmeget, at Kvægsølvet i små Portioner, med ikke for stor Hastighed løber gennem Faldrøret *f* ned i

*) Fig. 57, S. 112, findes afbildet et Par andre — ældre — Modeller, som benyttedes af *Pasteur* ved hans tidligere Undersøgelser. Såvel Næringsvædske som Udsæd indføres i Beholderne gennem det kapillært udtrukne Rør *a*, idet man suger ved *b*.

Skålen *g*; mellem de faldende Kvægsølvsejler rives nu Luften med fra Apparatets Indre gennem Røret *h*, og samtidigt stiger Kvægsølvet fra Beholderen *k* op i Røret *l* og angiver den opnåede Luftfortyndings Grad (Vanddampene hindres i at trænge med over i Røret *l* ved at ledes gennem *i*, der er fyldt med Glasperler, vædede med stærk Svovlsyre). Inden Kvægsølvbeholderen *c* er løbet tom, lukker man Hanen *e* og hælder Kvægsølvet fra Skålen *g* tilbage i *c*, hvorpå Hanen *e* atter åbnes, og Sugningen fortsættes. — Når Kvægsølvet i *l* når hen imod Barometerhøjde, som kan aflæses i Barometret *m*, begynder der i Næringsvædsken en Luftudvikling, som ved en ganske ubetydelig Opvarmning stiger til en livlig Kogning; førend Boblingen bliver for heftig, må man ved Flambering med en Bunsen-Brænder ophede Kulturapparatets øverste Parti stærkt, såat Boblerne kunne briste, inden de nå op i Højde med Vatproppen. Sugningen fortsættes, indtil Kvægsølvsejlerne *i* *l* og *m* stå i samme Højde, derpå lukkes Hanen *n*, og med en Bunsen-Brænder eller et som en Pasteur-Pipette udtrukket Glasrør bliver Kolben langsomt og forsigtigt af- og tilsmeltet ved *o*; Roux tilråder desuden for yderligere Sikkerheds Skyld (usynlige Revner i Glasset) at overlakke den tilsmeltede Ende. — Man åbner Kolben ved at indfile og overbrække Røret *ovenover* Vatproppen, der da tjener som Filter for den indstrømmende Luft.

En anden god Model af en Kvægsølvpumpe, der er langt prisbilligere end den Sprengelske og tilmed kræver meget mindre Kvægsølv, er den af *Prytz* angivne (s. *Ann. d. Physik u. Ch.*, Bd. XLII. 1891).

Til *Dyrkning af Anaërobionter på Kartofler i lufttomt Rum* benytter *Roux* det Fig. 63 afbildede Apparat. Når Kartoffelstykket er dampsteriliseret, og Fortætningsvandet har samlet sig på Bunden under det indsnævrede Parti *b*, tilsås Kartofflen som sædvanligt; Vatproppen skydes ned, der tilsmeltes ved *a*, og ved Hjælp af det lille horizontale Siderør anbringes Apparatet på Luftpumpen; her holdes Kartofflen *nogle Minutter* i det udpumpede Rum, for at al Luft kan få Tid til at undvige fra dens Indre, og når endelig Beholderen er lufttom, afsmeltes ved *c*.

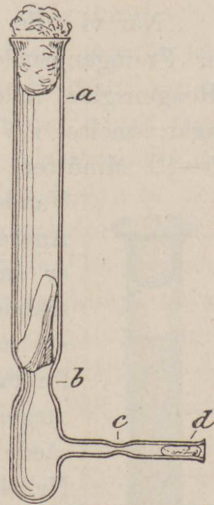


Fig. 63.

Kulturapparat til
Anaërobdyrkning på
Kartoffel (*Roux*).

II. Rendyrkning fra en Bakterie-Blanding.

De første Rendyrkninger af anaërobe Former lykkedes det *Pasteur* at foretage fra og i flydende Næringssubstrater ved Hjælp af „de fysiologiske Forskjelligheders Methode“ under

Kulsyrestrøm eller Luftpumpe; i de senere År har man navnlig søgt at gjøre Spredningsmetoderne frugtbringende også for Analysen af de anaërobholdige Bakterieblandinger. Hvorledes dette opnås, skulle vi først omtale.

A. Spredning i faste Næringssubstrater.

1. Spredning i meget høje Lag smeltelig Næringsgelée (Liborius).

Når vi ville foretage en sådan Spredning f. Ex. i Agar, er Fremgangsmåden følgende: Tre (eller endnu bedre fire) Reagensglas, indeholdende et 10—15 Ctm. højt Lag Næringsagar, smeltes i Vandbad (s. Fig. 39, S. 81) og forblive i dette 5—10 Minutter, efter at Smeltningen er fuldendt, medens

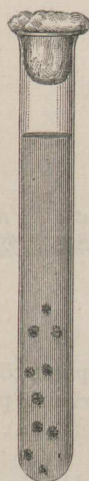


Fig. 64.
Sprednings-
kultur af
Anaëro-
bionter i højt
Lag efter
Liborius.

Vandet stadigt holdes i Kog; derpå lader man Agaren afkjøle i Vandbadet, og når Termometret er sunket til 40°—42°, foretages Såningen; Udsæden fordeles såvidt muligt ligeligt ved Hjælp af en steril Glasstang, med hvilken man forsigtigt foretager roterende samt op- og nedadgående Bevægelser i Gelatinen. Derpå sår man fra det til-
sæede Glas over i Glas Nr. 2, Nr. 3 og eventuelt Nr. 4, så at man får tre eller fire Fortyndinger (smlg. S. 76), fordeler i dem alle Udsæden så ligeligt som muligt med Glasstangen, der passende kan benyttes som Podeapparat, fra Glas til Glas; derefter påskynder man Agarens Stivning ved at stille Glassene i koldt Vand. Er *Fordelingen* lykkedes godt, og har de opslemmede Kims *Antal* været passende, så kan man få meget smukke Billeder: Aërobe Kolonier, aftagende i Mængde og Størrelse fra Overfladen og nedefter, medens omvendt de anaërobe Former kun spire ved Bunden og aldeles mangle i de øverste Lag; i hvert Fald giver Fordelingen af Kolonierne altid et godt

Holdepunkt for Bedømmelsen af deres Iltræng; naturligvis vanskeliggjøres Isoleringen af de *obligat* anaërobe Arter under disse Forhold meget, når der i Blandingen er *fakultativt* anaërobe

Arter tilstede, som kunne spire både nær Overfladen og Bunden. Er der *kun* Anaërobionter tilstede, fås det Fig. 64 gjengivne Billede: Kolonier i de dybeste Lag, ingen Væxt i de øverste.

Bakteriekolonierne ere selvfølgelig langt vanskeligere tilgængelige for Undersøgelse i Dybden af et sligt Reagensglas end i en Pladekultur, — derfor står man sig ved at forøge Fortyndingsgradernes Antal til *fire*. Ere Kolonierne *få* og *store*, og *smelte* de Næringssubstratet, kan man undertiden få en Prøve af dem op til Såning eller til mikroskopisk Undersøgelse ved blot at føre et fornedet åbent, foroven tilsmeltet Hårrør gennem Gelatinesøjlen ned i Kolonien og da først afbrække Hårrørets øverste Ende. Under andre Omstændigheder kan man blive nødt til at *slå* Reagensglasset *itu* og derefter på en steriliseret Glastallerken sønderkjære den frigjorte Gelatinesøjle i Skiver, således at de enkelte Kolonier blive let tilgængelige for Podenålen. Hvis Indholdet er *Agar*, kan man undertiden *puste det ud* af Reagensglasset, så at dette skånes: Man opvarmer dets Væg svagt, fører en Pasteurs Pipette langs Væggen, *mellem* denne og Agar'en *helt ned* til Glassets Bund, holder dette vandret, og ved kraftigt at puste gennem Pipetten lykkes det ofte at blæse hele Agarsøjlen ud af Glasset. — Også den *mikroskopiske* Undersøgelse af Koloniernes Udseende og Form ved middelstærk Forstørrelse lader sig i Almindelighed kun bekvemt udføre, når man udtager Glassets Indhold og skjærer det i tynde Skiver.

Ofte vanskeliggjøres Undersøgelsen og Isoleringen af de enkelte Kolonier desuden derved, at den stærke *Gasudvikling*, som ofte ledsager Anaërobionternes Væxt, bliver så voldsom, at den *sprænger* Geléesøjlen i flere uregelmæssige Stykker.

Spredning i høje Lag *Serum-Agar* foretages på ganske lignende Måde: Tre Reagensglas med Agarlag, der have omtrent $\frac{2}{3}$ af den ønskede Højde, smeltes og koges i Vandbad; man lader afkjøle, og når Temperaturen har nået ned til omtr. 55° , stilles et med steril *flydende* Serum fyldt, vatlukket Reagensglas ned i Vandbadet ved Siden af Agarglassene; er Temperaturen sunket til 40° — 42° , foretages Såning og Spredning på sædvanlig Måde, og tilsidst fordeles Serum'et på

de tre tilsæede Agarglas, idet man hastigt hælder omtrent en Tredjedel i hvert Agarglas og med sterile Glasstænger søger at få en ligelig Blanding; derpå lader man hurtigt stivne i koldt Vandbad.

Spredning i høje Lag *Serum-Gelatine* foretages mutatis mutandis på samme Måde, og er jo på Grund af Letsmeltemindre besværlig.

2. Spredning i Næringsgelée under Brintgjennemledning

kan simplest foretages enten

1) i *Reagensglas* (s. Fig. 65), som helst må være tykvæggede (stærke), vide, kraveløse, og på hvis Vægge der anlægges en „Rullekultur“ (*Fraenkel*), eller

2) i *flade firkantede Flasker* (Fig. 12 og 38).

Hvad enten man benytter den ene eller den anden af disse

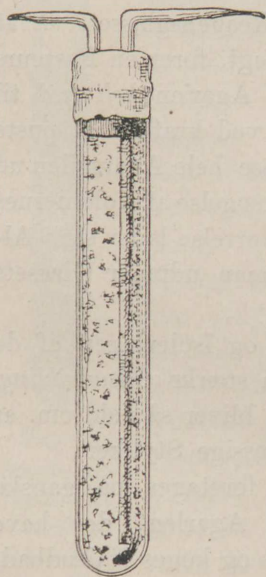


Fig. 65.

Rullekultur af Anaërobionter (*Fraenkel*).

Beholdere, er Fremgangsmåden følgende: De vatlukkes, steriliseres, fyldes, tilsås i tre Fortyndingsgrader, ganske efter de i Kap. VII c og e givne Regler; når dette er sket, fjernes Vatproppen, og i dens Sted anbringes hurtigst muligt, med vel steriliserede Fingre en tætsluttende Kautschukprop med dobbelt Boring; i denne er anbragt 2 retvinklet bøjede Glasrør, af hvilke det ene når helt ned til *Reagensglassets Bund*, medens det andet ender umiddelbart under Proppen; de 2 vandrette Afsnit af Rørene ere på et Stykke kapillært udtrukne og ved deres åbne Ender *forsynede med Vatprop*. Prop og Glasrør må være omhyggeligt steriliserede, førend Såningen finder Sted; det gøres *nøjagtigt som ovenfor under Chamberlands Filter S. 13 beskrevet* (altså Sterilisation af Proppen i 1 pro mille Sublimatopløsning og af Rørene ved 150°, samt endelig Dampsterilisation af de i Papir indsvøbte, *sammenføjede*

Rør og Prop^{*)}). Først umiddelbart før Brugen udpakkes Kautschukproppen, det lange Rør trækkes for en Sikkerheds Skyld gennem Flammen, og Proppen sættes fast i Flasken eller Reagensglasset, endelig overtrækkes hele Proppen med *Parafin* (s. Fig. 65). Det lange Glasrør sættes i Forbindelse med Brintudviklingsapparatet, medens Kulturapparatet holdes nedsænket i et Vandbad af 25°—42° Varme, alt efter den anvendte Næringsgelée's Art (G., A. G. eller A.); efterat en livlig Gjennemledning har fundet Sted i 5—10 Minutter, og man har overbevist sig om, at der strømmer ren Brint ud af Afledningsrøret, over-smeltes og lukkes nu de to Glasrør på de udtrukne Partier; dernæst lader man Gelatinen stivne, alt efter Omstændighederne på Reagensglassets Indside eller på en af Flaskens brede Vægge.

3. Spredning i geléefyldte Hårrør.

Hårrørs-Methoden lader sig selvfølgelig anvende til Spredning af anaërobe Arter og er særligt anbefalet til dette Brug af *Klebs* og *Vignal*. *Vignal* tilråder at forbinde den med Brintgjennemledning og Anvendelse af fast Næringssubstrat: En ringe Mængde Nærings-Agar eller -Gelatine bringes i Kog og lades afkjøle under stadig Brinttilledning gennem en vinkelbøjet Pasteurs Pipette, der føres ned mellem Vatprop og Væg (se Fig. 66), medens samtidigt Glasset anbringes i et Vandbad, som forhindrer dets gelatinerende Indhold fra at stivne. Tilsåningen foretages, medens Brintgjennemledningen står på; denne fortsættes derefter endnu nogle Minutter, og umiddelbart efter at den er standset, suges nu Gelatinen hurtigt op i c. 50 Ctm. lange og 1 Mm. vide

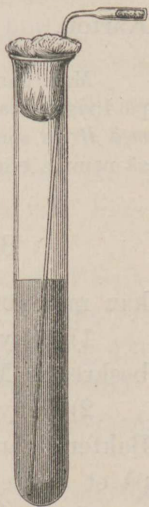


Fig. 66.

Brinttilledning til Gelatinen gennem en vinkelbøjet Pasteursk Pipette, før Anlæggelsen af anaërobe Hårrørskulturer.

^{*)} I en Autoklave kunne naturligvis Prop og Rør hurtigt steriliseres sammen.

Hårrør, af hvilke man iforvejen har udjaget den atmosfæriske Luft ved i Løbet af 5 Minutter at lede en Brintstrøm igjennem dem; for at kunne gjøre dette uden at udsætte sig for at forurene Hårrørets Indside, afsmelter man ikke Hårrøret fra det vide Stykke Glasrør, af hvilket det trækkes, men fylder dette med sterilt Vat og kan nu let ved Hjælp af en Kautschukslange anbringe det på Brintudviklings-Apparatet. — Når Hårrørene ere sugede fulde, tilsmeltes de ved begge Ender og kunne derefter hensigtsmæssigt opklæbes på sort Karton.

Man kan naturligvis også foretage Spredningen i en „Rullekultur“ på Indsiden af en *Roux's Kolbe*, der enten er pumpet *lufttom* eller *fylt med Brint* som S. 114 beskrevet, men disse Fremgangsmåder ere hverken så nemme eller så hensigtsmæssige som de ovenfor skildrede.

B. Spredning i flydende Næringssubstrater

kan man foretage, idet man enten

1) benytter *Hårrørsmethoden* nøjagtigt på den ovf. S. 121 beskrevne Måde eller

2) benytter *Fortyndingsmethoden*: Den stærkt fortyndede Bakterieblending fordeles i små Portioner (smlg. S. 82—83) på et større Antal til

a) Dyrkning under Brint eller

b) Dyrkning i lufttomt Rum

indrettede Kulturapparater, i hvilke Dyrkningen foretages efter de S. 114—117 givne Anvisninger.

KAPITEL IX.

Dyrkning af Mikrober under Mikroskopet.

Ønsker man ved en uafbrudt, gjennem Timer eller Dage fortsat Iagttagelse at følge en Mikrobs Udvikling Skridt for Skridt, at se Væxt, Deling, Sporedannelse, Sporespiring o. s. v., o. s. v. foregå under sine Øjne, må Dyrkningen foretages i et

„fugtigt Kammer“ under Iagttagelse af de sædvanlige Forsigtighedsregler, såsom forudgående omhyggelig Sterilisation af Kamrets enkelte Dele, hurtig Såning o. s. v. Kamrene må ved Tilsmeltning, Tillakning eller på lignende Måde være hermetisk lukkede for at forhindre Fordampning og Forurensning; de må derfor — når de ikke just skulle benyttes til Dyrkning af Anaërobionter — foruden en passende Mængde Næringssubstrat indeholde en tilstrækkelig Luftmængde. Denne Art Undersøgelser ere som oftest forbundne med nogen Vanskelighed, navnlig for Begynderen, der passende kan indøve dem på større Former, som *Gjærsvampe* og *Skimmelsvampe*, for derpå at gå over til at iagttage Sporedannelse og Sporespiring hos de store *Bacillusarter*.

Ved Brugen af de forskellige fugtige Kamre, af hvilke de vigtigste og hensigtsmæssigste Modeller nedenfor ville blive beskrevne, iagttager man følgende Regler:

a) *Dækglassene* renses på sædvanlig Måde først med Salt-syre, derpå med Spiritus, endelig med destilleret Vand; aftørres dernæst omhyggeligt; lægges i et lille Glastallerkenpar (Fig. 18), som indsvøbes i Papir, og det hele tørsteriliseres nu ved 150°: de kunne til yderligere Sikkerhed trækkes nogle Gange gennem Flammen, umiddelbart før de skulle tages i Brug.

b) Også de forskellige Objektglas og „Kamre“ tørsteriliseres, indsvøbte i Papir, i hvilket de forblive *indtil det Øjeblik*, de skulle benyttes.

c) Hensigtsmæssigt er det under Tilberedningen af de fugtige Kamre at benytte et større, steriliseret Stykke Papir som Underlag, og strax, når Objektglassene ere udpakkede, at anbringe dem under små *Glasklokker* og kun lade dem være utildækkede i den kortest mulige Tid. Dækglassene må selvfølgelig behandles med samme Omhu. Som Glasklokker kunne passende benyttes større, runde flade Glastallerkener (Fig. 17).

d) Man arbejder helst med flere Kamre samtidigt, da man må være forberedt på, at enkelte af dem forurenses under Præparationen, selv om man tilsår dem hurtigt og forsigtigt.

e) Man bør altid gå ud fra unge, livskraftige Kulturer, helst dyrkede i samme Substrat som det, der benyttes i det fugtige Kammer.

f) Man må sørge for, at Kimene ere *ligeligt* og i *passende Mængde* opslemmede i Præparatet; et Antal af 1 til 4 i hvert Synsfelt vil i Almindelighed være tilpas. Dette kræver naturligvis gjentagne *Forundersøgelser*. Hertil benytter man tre Reagensglas (a, b, c), som indeholde nogle få Gram af en passende, steril Næringsvædske. I det ene (a) opslemmer man en *rigelig Mængde* Kim og sørger for ved stærk Rysten at sprede og fordele dem *ligeligt*; en Dråbe heraf overføres med Platintråd i det andet Reagensglas (b), og denne nye Blandings Kimrigdom undersøges nu under Mikroskopet, idet man anbringer en Dråbe af den ganske paa *samme* Måde og i *samme* Slags fugtige Kammer som det, man agter at benytte. Viser Blandingen sig nu for kimrig, tilsættes lidt Vædske af det kimfri Glas (c); ere Kimene for sparsomt tilstede, forøger man deres Antal ved at tilsætte en Dråbe af Glasset a.

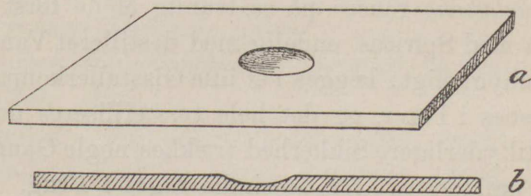


Fig. 67 a og b.

Hulslebet Objektglas til Undersøgelse i „hængende Dråbe“.

1) Et af de simpleste og hyppigst anvendte fugtige Kamre (i hvilket Koch først iagttog Miltbrandsbacillens Væxt og Sporedannelse udenfor Organismen, 1876) er *det hulslebne Objektglas*, o: en Glasplade, der har et almindeligt Objektglas' Størrelse og Omfang, og i hvis Midte der findes en cirkelrund Udhuling af c. 15 Mm. Diameter (s. Fig. 57 a, b); henover dette udhulede Parti lægges nu et Dækglas, der befæstes lufttæt med Vaseline, efter at man på dets nedadvendende Flade har udbredt en ganske lille Dråbe Næringsvædske, som indeholder den Mikrob, hvis Væxt og Udvikling man vil undersøge.

Foruden de ovenfor givne almindelige Regler mærke man sig ved Brugen af disse fugtige Kamre og ved Undersøgelsen

i „*hængende Dråbe*“ følgende: Dråben må udbredes i så tyndt et Lag som muligt, da den helst må kunne gjenneemmonstres i hele sin Dybde. — Ofte er det hensigtsmæssigt først at sætte en Dråbe steril Næringsvædske på Dækglasset og derefter at tilsætte Mikroben på et bestemt, let kjendeligt Punkt ved *Dråbens Rand*.

Man gjør bedst i, når Dråben er anbragt på Dækglasset, da at fixere dette på Objektglasset på følgende Måde: En lille Smule Vaseline smøres med en steril Glasstang rundt om det hulslebne Parti; *Objektglasset* fattes nu forsigtigt med Fingrene og *drejes hurtigt om*, så at dets øverste Flade kommer til at vende nedad, hvorpå det trykkes således mod Dækglasset, at dets Rande dækkes af Vaselenen, medens Dråben kommer til at ligge ud for det hulslebne Parti; man *drejer* atter *Objektglasset hurtigt om*, så at Dækglasset kommer til at vende *opad* og overbeviser sig om, at Vaselenen *overalt* omgiver det hulslebne Parti.

Naturligvis kan man også på Undersiden af Dækglasset i Stedet for en Dråbe flydende Næringssubstrat anbringe en ringe Mængde Næringsgelatine — altså en Kochs „Pladekultur“ en miniature.

Man gjenneemmonstrer nu først Præparatet med en svag Forstørrelse for at få et bedre Overblik over Kimene og finde et Sted, hvor de ere lejrede særligt gunstigt, fixerer derefter Kamret på Objektbordet og opsøger atter de udvalgte Kim med den stærkere Linse (eventuelt Oljeimmersion); som man ønsker at benytte til den uafbrudt fortsatte Iagttagelse. Når man med Mikroskopet skal opsøge og indstille på den hængende Dråbe, er det en overordentlig Lettelse, at de udenfor Dråben liggende Dele af Dækglasset altid strax *beslå sig* med Vand og derved få et grovt-chagrineret Udseende; man kan nemlig først opsøge denne ejendommelige Tegning og dernæst forskyde Præparatet, indtil den forsvinder; — man er da ved *Dråbens Rand*. Slige Præparater kunne Dage igjennem blive på Objektbordet uden at tage Skade, og Udviklingen af den enkelte Kim kan således følges Skridt for Skridt.

Ønsker man at påskynde Udviklingen, eller er Stuevarmen for lav, til at de undersøgte Mikrober kunne udvikle sig,

kan Kamret anbringes på et eller andet opvarmeligt Objektbord, f. Ex. *Max Schultzes*, *Ranviers*, *Israëls*, *Vignals* (W. Nr. 102, R. Nr. 602—7), eller man kan benytte den af *Panum* angivne Varmekasse for Mikroskoper (Nord. med. Arkiv, Bd. VI, Nr. 7, 1874), eller *Pfeiffers* opvarmelige fugtige Kamre (Protozoen als Krankheitserreger, Fig. 1). — Oftest kan man dog nøjes med at henlægge Kamrene i en Thermostat og med Mellemrum tage dem frem til mikroskopisk Undersøgelse, idet man hver Gang opsøger det samme Sted i Præparatet. Den simpleste „Indikator“, som man kan benytte til at markere et Punkt i Præparatet, således at man hurtigt kan finde det igjen under Mikroskopet, er den af *Hofmann* angivne: Man indridser på hver Side af Objektbordets Åbning et Kors, det ene stående (+), det andet liggende (×), og når det Punkt, der skal mærkes,

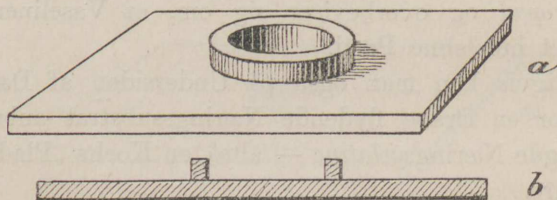


Fig. 68 a og b.

Böttchers fugtige Kammer.

befinder sig i Synsfeltets Centrum, aftegner man på Objektglasset med Blæk de to Kors, nøjagtigt over de i Objektbordet indridsede.

2) *Böttchers Kammer* (Fig. 68 a og b) består af en tyk Glasring, der er klæbet fast til et Objektglas med en Kit, der tåler den for Sterilisationen nødvendige Opvarmning til 150°. Man kan selv let foretage Fastkitningen af Ringen ved Hjælp af „Johan Jensens Glaslim“ (nøjagtig Brugsanvisning følger med Flaskerne); foruden denne anbefaler *Hansen* en Opløsning af Gelatine i Iseddike, hvortil der kort før Brugen sættes fint pulveriseret kromsurt Kali.

I Glassets Bund anbringes tæt op ad Glasringen lidt steriliseret Vand, og dennes øverste frie Rand bestryges med Vaseline til Befæstelse af Dækglasset.

Kamret benyttes ganske på samme Måde som det hulslebne Objektglas, enten til Undersøgelse i „*hængende Dråbe*“ eller til Iagttagelse af små „*Pladekulturer*“ i Næringsgelatine. Det er denne sidste Fremgangsmåde, som *Em. Chr. Hansen* benytter ved Rendyrkning af Gjær til Bryggeribrug med en enkelt Celle som Udgangspunkt. Han anvender hertil som Regel temmelig store Ringe af c. 25 Mm. indvendig Diameter samt dertil passende store, cirkelrunde Dækglass med en indridset, numereret Kvadratinddeling; på disse udbreder han i et tyndt Lag — under Iagttagelse af alle de ovenfor anbefalede Forsigtighedsregler — en Dråbe Næringsgelatine, hvori den Gjærkultur er opslemmet, fra hvilken Rendyrkningen skal foretages. Man opsøger dernæst en enligt. beliggende Gjærcelle — hvad der, når Kimene ligge spredte, ofte først lykkes efter en tålmodig Gjennemmønstring af Præparatet i en halv til en hel Time — og man mærker sig dens Beliggenhed ved Hjælp af Kvadratinddelingen. (Medd. fra Carlsberg Laboratoriet II, S. 152).

Der er visse Ulemper forbundne med Undersøgelsen i „*hængende Dråbe*“: Vædskeketgets Tykkelse er forholdsvis stor, Dråbens Underflade ikke plan; Kimene forskyde sig let. Disse Ulemper undgås tildels ved den nylig omtalte Brug af *Gelatine*, men denne kan ingenlunde helt erstatte de flydende Substrater (Indvirkning på Bevægelse, Væxtmåde, Væxthastighed). Også ved den nedenfor skildrede Undersøgelse i „*klæbende Hinde*“ (efter *Brefeld*) undgås alle de nævnte Vanskeligheder, men andre kommer i Stedet. Et simpelt Middel, ved hvilket man delvis kan råde Bod på den hængende Dråbes Ulemper, er dette:

3) at anbringe et Dækglasfragment på Dråbens Underflade, hvor det fixeres ved Hårrørskraften; herved får man en plan Bund. Det samme opnås ved

4) *Ranviers Kammer* (Fig. 69 a og b).

Midt på et Objektglas findes en ringformet Rille, der omslutter en cirkelrund Flade, som ligger c. $\frac{1}{10}$ Mm. lavere end den øvrige Del af Objektglasset; på dette lavere liggende centrale Parti lægges den Dråbe, der skal undersøges; Vaseline stryges udenom Rillens Rand, Dækglasset lægges på,

trykkes fast mod Objektglasset, og Dråben er nu hermetisk indesluttet mellem 2 plane Flader, medens Rillen fungerer som Luftrum.

5) Et meget dyrt og meget skjørt, men iøvrigt fortrinligt Kammer er den Modifikation af de Barys og Geisslers Model, som *Brefeld* benyttede f. Ex. til sine Undersøgelser over *B. subtilis*, ved hvilke det lykkedes ham at forfølge hele dens Udvikling fra Spore til Stav og atter fra Stav til Spore. Det er (Fig. 70 a og b) et 20 Ctm. langt Glasrør, der på Midten er blæst op til en lille, 2 Mm. høj, cylindrisk Glaskasse, hvis to plane Flader have Dækglastykkelse. Det anvendes på følgende Måde: Kamret renses omhyggeligt med Saltsyre, destilleret Vand, *Alkohol* og *Æther*, og i hver af Rørenes Ender anbringes en Vatprop; Tørring og Sterilisation ved 150°. Den Mikrob, der

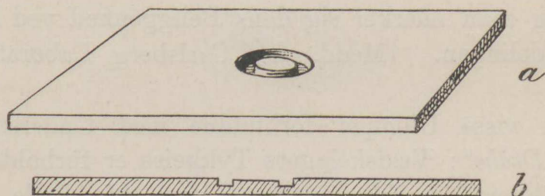


Fig. 69 a og b.

Ranviers fugtige Kammer.

skal undersøges, opslemmes ligeligt i en passende Næringsvædske, og ved Undersøgelse af nogle Præparater, i hvilke Vædsken er udbredt i et *overordentligt tyndt* Lag, overbeviser man sig om, at Organismerne ere tilstede i et passende Antal (1—4 eller så omtrent i hvert Synsfelt). Derpå fjernes den ene Vatprop; den således åbnede Ende flammerenses hurtigt og dyppes ned i den mikrobholdige Næringsvædske, som fra den endnu vatlukkede Ende suges op i Kamret; når dette er *helt* fyldt, lader man *atter* Vædsken *løbe ud*, aftørre den neddyppede Rørende med steriliseret Filtrerpapir, lukker begge Ender med Lak, og Kamret er færdigt. På Indsiden af den lille, tyndvæggede Glaskasse er der nemlig blevet hængende en ganske tynd, kimholdig Vædskehinde, — så tynd, at de enkelte Kim ikke forskyde sig i den; man opsøger nu et

passende Sted i Præparatet og fixerer Kamret på Objektbordet; under Søgningen, der bør foretages ved den *svageste* Forstørrelse, ved hvilken man overhovedet kan diagnosticere Kimene, vogte man sig vel for at støde Objektivet mod Kamrets tynde og skjøre Væg, hvilket så meget lettere kan ske, som Væggene ej ere absolut plane.

Fixationen af Kamret på Objektbordet sker lettest, når det først er anbragt på et tyndt, vel rensat Objektglas, til hvilket de rørformede Afsnit kunne befæstes ved Hjælp af Parafin. Dette Kammer kan også benyttes til Undersøgelse af Bakteriers Udvikling i *forskjellige Luftarter*.

Andre Modeller af fugtige Kamre kan man let selv *improvisere* af de i ethvert Laboratorium forhåndenværende Redskaber og Utensilier. Da det undertiden kan være af Betydning at arbejde med et *meget stort Antal fugtige Kamre på éngang*, skulle vi omtale nogle, der let kunne sammensættes *ex tempore*:

6) *Buchner* undersøgte Miltbrandsporer Spiring i et fugtigt Kammer, som det Fig. 71 afbildede: Af en Renkultur, der kun indeholder Miltbrandsporer, indtørres en ubetydelig Mængde på et Dækglas; på de fasttørrede Sporer sættes atter en lille Dråbe Næringsvædske. Dækglasset lægges som en Bro hen over et Par Dækglas-Brudstykker, det hele lukkes rundt omkring med en Kitmasse, og anbringes på et opvarmeligt Objektbord.

7) En Model, hvis Ophavsmand er mig ubekjendt, er følgende: Af temmelig tyndt Pap (Nr. 16) udskjæres Stykker af den Fig. 72 afbildede Form. De steriliseres omhyggeligt ved Kogning i Vand eller Vanddampe, bedst således, at nogle Stykker stables ovenpå

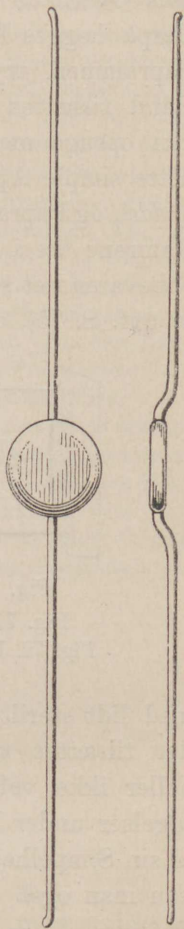


Fig. 70 a og b.
Fugtigt Kammer
til Undersøgelse i
klæbende Hinde
(efter Brefeld).

hverandre og lægges mellem et Par Objektglas, der ere surrede fast sammen. Et sådant Papstykke lægges, medens det endnu er fugtigt efter Sterilisationen, på et sterilt Objektglas, mod hvis Overflade det ved Hjælp af en Glasstang trykkes fast. Derpå lægges Dækglasset med den hængende Dråbe hen over Paprammen, trykkes forsigtigt fast mod denne, og ved dens Rand tilsættes nu dråbevis sterilt Vand, indtil Pappet ikke kan opsuge mere. Den i Pappet opsugede Vædske virker i dette simple Apparat både som *Fugtighedskilde* og som *Klæbemiddel*, og Paprammens Indtørring må derfor forhindres, sålænge Kamrene ere i Brug. De må altså mellem hver Undersøgelse opbevares i et større fugtigt Kammer (ligesom Pladekulturerne, se ovf. S. 75), og af og til må man påny „mætte“ Paprammen

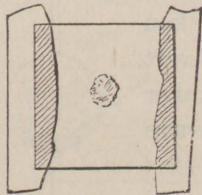


Fig. 71.

Fig. 71. Improviseret fugtigt Kammer (Buchner).

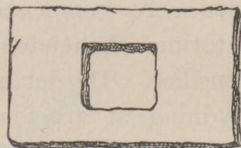


Fig. 72.

Fig. 72. Papstykke til et improviseret fugtigt Kammer.

med lidt sterilt Vand eller højst fortyndet Sublimatopløsning, der tilsættes ved dens udvendige Rand. Derfor er Kamret heller ikke vel skikket til *dagelange, uafbrudt fortsatte* Iagttagelser under Mikroskopet, men som Hjelpeapparat kan det i al sin Simpelhed ofte yde god Tjeneste. — Efter samme Skema kan man også af andet Materiale let lave sig fugtige Kamre.

Ved sine Undersøgelser over *de højere Svampes* Udviklingshistorie har *Brefeld* til Dyrkning af Svampene under Mikroskopets Kontrol simpelthen anvendt *Objektglas, på hvilke et flydende Næringssubstrat udbredtes i et tyndt Lag*. Til Undersøgelse af Bakterier egne disse Pladekulturer i flydende Substrat sig ikke; for *Gjærsvampenes* Vedkommende frembyde de ingen væsentlige Fordele fremfor de fugtige Kamre, men vel visse Ulemper; derimod ere de af allerstørste Betydning for Studiet af de højere Svampes Udviklingshistorie og de skulle derfor ganske korteligt omtales:

Som Næringsvædske benyttes de ovenfor (S. 28—29 under 5—8) omtalte Opløsninger, helst stærkt inddampede, så at de ej ere altfor tyndflydende; de udbredes i en langagtig Dråbe på det sterile Objektglas ved

Hjælp af en Glasstang; med Podenål tilsættes de Sporer, hvis Udvikling skal iagttages, og de omrøres i Dråben i et så lille Antal, at kun én eller to findes i Synsfeltet. At slige Kulturer ikke kunne bruges til en gennem Dage fortsat *uafbrudt* mikroskopisk Undersøgelse, er indlysende; under et langvarigt Ophold på Mikroskopets Bord vilde de ødelægges ved Fordampning og Forurensning; de må mellem hver Undersøgelse opbevares i større, fugtige Kamre, hvis Luft altid er mættet med Vanddampe (en almindelig flad Porcellænstallerken fyldt med Vand, dækket af en Osteklokke, *hvis Rand står nedsænket i Vandet*), og de lade sig neppe med Held anvende uden i Laboratorier, *hvis Luft med stor Omhu holdes så kinfri, navnlig så skimmelfri som vel muligt*; men hvor vidt man kan nå ad denne Vej, fremgår tilstrækkeligt af Brefelds Arbejder. Fordele fremfor lignende Objektglaskulturer på *fast*, gennemsigtigt Næringssubstrat ere blandt andre: Man kan omså Sporerne, *efter* at Spiringen er begyndt, man byder Skimmelsvampene *gunstigere Betingelser* for Væxt og Udvikling, og man kan, alt eftersom de forbruge deres Næringsmateriale, *tilføre dem nyt* Uger ja Måneder igjennem, idet man med en eller flere Dages Mellemrum tilsætter en frisk Dråbe Næringsvædske ved Præparatets Rand.

Smukke Billeder give også *Unnas* såkaldte „Minimalkulturer“: I et *meget tyndvægget* Reagensglas, i hvilket man har ladet en *ringe* Mængde Næringsagar stivne langs Væggen efterat Glasset er henlagt horizontalt, anlægges en Ridskultur af Skimmelsvampen langs Agarfladens *ene* Rand; der dannes da på den ene Side af Reagensglasset smukke Kulturer, som strække sig et Stykke opad den tomme, ganske gennemsigtige Glasvæg og kunne undersøges med så stærke Forstørrelser, som Reagensglassets Tykkelse tillader.

KAPITEL XII.

Indpodningsforsøg.

Vi komme nu til den Gruppe af Forsøg, mod hvilke på en vis Måde alle de foregående Kapitler stile hen — de Forsøg, som skulle levere Beviset for, at virkelig en stor Del af vore mest bekjendte Smitsoter fremkaldes af Bakterier, og som skulle muliggjøre et nøjere Studium af Vexelforholdet mellem disse Bakterier og den dyriske Organisme. Det må i den Henseende fremhæves, at det *afgjørende Bevis* for, at en bestemt given Infektionssygdom skyldes en bestemt Bakterierform, er leveret, *når en morfologisk, kemisk eller fysiologisk vel*

karakteriseret Bakterie ved Mikroskop og ved Dyrkning altid kan påvises i Organerne ved denne Sygdom, og kun ved den; når endvidere denne Bakterie efter i flere Generationer at være dyrket i ren Tilstand udenfor Organismen og derpå indpodet på et Individ af den Dyreart, fra hvilken den oprindeligt toges, hos dette fremkalder samme Sygdom og atter ved Mikroskop og Rensdyrkning kan eftervises i dets Væv.

Som Forsøgsdyr har man benyttet de mest forskellige Dyrearter — ligefra Hvaler til Dafnier; oftest anvendes de mindre Gnavere (Kaniner, Marsvin, Rotter, Mus) eller Fugle (Høns, Duer). Det træffer sig nu så heldigt, at Indpodningen — ikke af en enkelt, men af en hel Række vigtige Infektions-sygdomme — lader sig udføre på et af de lettest tilgængelige, billigste, mindste og frugtbareste Pattedyr: den hvide Mus. Denne er mer eller mindre modtagelig for Miltbrand, Hønssekolera, malignt Ødem, flere Former af Septikæmi, enkelte „pyæmiske“ Lidelser, Snive, Tetanus o. s. v., o. s. v*), og hvor det kun gjælder om at udføre de vigtigste Grundforsøg på Bakterie-Podningens Område, kan man derfor oftest nøjes med at anvende hvide (eller grå) Mus.

Musehold.

Stalde. Efter mange forskellige Forsøg kan jeg i høj Grad anbefale Brugen af de ovenfor S. 3 omtalte Kikskasser til Muse-Stalde. I Låget af en sådan Kasse hugges en *rigelig Mængde* omtrent 10 Øre store Huller f. Ex. 9 Rækker med 9 Huller i hver. (Ere Hullerne ikke tilstrækkeligt talrige eller store, kan Fordampningen fra Kassens Indre ikke gå livligt nok for sig, og den derved bevirkede Fugtighed kunne Musene ikke tåle). Den fyldes derpå næsten halvt med Savspåner, noget simpelt Vat lægges

*) Medens de hvide Mus o: albinotiske Husmus (*Mus musculus*) ere yderst lidet modtagelige for Snive (Löffler), ere såvel *Markmusen*, *Arvicola arvalis* (Löffler) som også *Skovmusen*, *Mus silvaticus* (Kitt) meget modtagelige for denne Sygdom. Omvendt er *Markmusen* uimodtagelig for Museseptikæmien, for hvilken den hvide Mus jo viser stor Modtagelighed (Koch). — Såvel *Markmus* som *Skovmus* kunne let holdes i Fangenskab, når de fodres med Havre og fugtigt Brød. *Skovmusen* er meget springsk, og dens Bid ret smertefulde. Det frarådes at holde flere Individer af disse to Musearter i samme Glas, når de ere podede, thi hvis en af dem dør, æde de efterlevende strax Liget.

ned deri, — og Stalden er færdig til at modtage Musebesætningen. Foderet består af i Vand opblødt Franskbød samt Havrekorn. Savspånerne bidrage i høj Grad til at formindske Stanken, og i Forbindelse med Vattet, Kornskallerne og Dyrenes Udtømmelser danne de en varm, blød, tør Masse, i hvilke Musene grave deres Gange og Reder, samt trives og yngle fortræffeligt. — 10—15 voxne Mus kunne leve bekvemt i en sådan Kasse; Unger i et endnu større Antal. Tømningen af Stalden samt Fornyse af Savspåner og Vat er kun nødvendig hver eller hver anden, tredje Måned, alt efter Besætningens Størrelse.

Isolationsglas. Til Isolation af de indpodede Mus benyttes bedst de Fig. 73 afbildede almindelige Glas-Syltekrukker af 2 Liters Rumfang. Disse Beholdere ere lette at desinficere efter Brugen, og Dyrene kunne i dem let iagttages; de fyldes indtil en Tredjedel af deres Højde med Savspåner; som Låg benyttes et cirkelrundt Stykke tyktrådet, grovmasket Jernvist, som er forsynet med en tre Ctm. bred, nedfaldende Blikrand, der ej behøver at slutte tæt til Glasset.

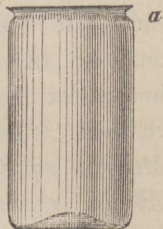


Fig. 73.

Når man til Stadighed benytter hvide Mus som Forsøgsdyr, står man sig selv at drive Museavl. At få denne i Gang er ikke altid let, da Musene som bekendt er et lidet fredeligt Folkefærd, og da navnlig Hanner, som ikke ere opvoxede sammen, ofte bekæmpe og mishandle hverandre, ligesom de også ere tilbøjelige til at dræbe og æde Ungerne. Man begynder da helst med nogle få Musepar, der holdes indbyrdes adskilte; når en Hun er drægtig og snart skal føde, fjernes den fra Hannen og anbringes i et af de nysnævnte „Isolationsglas“, hvor den da laver Rede til Ungerne og forbliver sammen med dem, indtil de blive behårede og seende; så bringes den først med sine Unger over i en af de ovenfor omtalte Musestalde, hvor man som Regel trygt kan indsatte to Hunner med deres tilhørende Kuld, når disse ere nogenlunde jævnaaldrende. Her lader man nu Ungerne voxe til, og Livet i Kolonien går da i Almindelighed så fredeligt hen, at man ikke behøver at isolere de drægtige Hunner, så længe der er Plads i Stalden til deres Reder og Unger.

Indpodningsstedet og -måden vælger man naturligvis alt efter den Opgave, man har stillet sig. Gjælder det blot om at fremkalde Infektion, så vil i mange Tilfælde Indførelsen af Smitstoffet gennem et Stiksår i Huden være tilstrækkelig; ikke sjældent ønsker man imidlertid at efterligne den „naturlige Infektion“ gennem Luftvejenes eller Fordøjelsesorganernes uskadte Slimhinder, i andre Tilfælde kan man for at opnå absolut sikkert Anslag eller af andre Grunde nødes til at indføre Virus på særligt udvalgte Steder, f. Ex. gennem et Trepanationssår under dura mater (Hundegalskab), på Duekroens

Slimhinde (Trøske), på Marsvinets Vaginal-Slimhinde (Difteri), kort sagt, de mest forskellige Organer og Organdele benyttes som „Atrier“ for Bakteriekulturene eller Smitstofferne. I det følgende vil kun de *vigtigste* Indpodningsmåder blive omtalte og beskrevne.

Narkose. Indpodningen er i de fleste Tilfælde så godt som smertefri; kun når den undtagelsesvis ledsages af et større operativt Indgreb (Trepanation ved Rabiespodning), bedøver man i Forvejen Dyret. — *Mus og Rotter* anbringes under en Glasklokke sammen med en med *Æther* befugtet Vattampon, indtil de efter et kort Agitationsstadium synker bedøvede om; de tages ud af Klokken, opbindes, og nu kan Narkosen let holdes vedlige, da de ere meget tolerante mod *Ætheren*. Det samme gjælder om *Duerne*. Anderledes med *Marsvin og Kaniner*, af hvilke især de sidste let dø under *Æther-* og navnlig under Kloroformnarkosen. Ved Øvelse lærer man dog at formindske Kloroformdødeligheden hos Kaninerne, og i Institut Pasteur f. Ex. gå kun 1 à 2 pCt. af Kaninerne til Grunde under Narkosen; den foretages på følgende Måde: Et Stykke Filtrérpapir lægges sammen som en Tragt og overhældes med en Theskefuld Kloroform; Papirstragten holdes nu som en Tut for Dyrets Snude; få Sekunder senere standser Åndedrætsbevægelserne; og når de kort efter *påny begynde*, er Bedøvelsen som Regel fuldstændig; *såsnart* Dyret er ufølsomt, standses med Kloroformeringen.

1) Kutan-Indpodning

udføres hos Musen bedst ved at *ridse* i dens ydre Øre med *en i Podestoffet dyppet Vaccinenål*, men den kan selvfølgelig foretages overalt på Legemets Overflade, efter at Hårene ere fjernede. Også *Indgnidning af Podestoffet i den skarificerede eller den uskadte Hud* kan komme til Anvendelse. *Favus-*kulturer f. Ex. indpodes på den med Sæbe, Vand og Alkohol (ikke Sublimat!) rensede Hud ved simpel Indgnidning, hvorefter Huden dækkes med sterilt Guttaperchapapir, der limes fast og først fjernes efter et Par Dages Forløb (*Unna*).

2) *Subkutan-Indpodning*

kan naturligvis foretages på de mest forskellige Dele af Dyrenes Legeme; dog er der hos de enkelte Arter visse loci electi, der oftest benyttes: Hos *Kaninen* Skinnebenet eller det ydre Øre, hos *Marsvinet* Lårets Yderflade, hos *Duen* en over Brystmuskulaturen beliggende nøgen Plet, der findes ved nedenfra opefter at *puste* Brystregionens Fjederbeklædning til Side; hos *Musen* foretages Podningen bedst lige ovenfor Haleroden under Ryghuden på følgende Måde: Dyret anbringes i en af de (Fig. 73) afbildede Glaskrukker. Man fatter dens Hale mellem venstre Hånds Tommel- og Pegefinger og trækker den indtil Roden frem over Glassets Rand, medens Kroppen hænger ned i Glasset; dettes Åbning dækkes med en lille Træplade, der med venstre Hånds 3die—5te Finger trykkes fast mod Glassets Rand, således at der just er Plads nok for Haleroden til at passere. Hårene nærmest Halen klippes bort, Huden renses med lidt Karbolvand, dernæst frembringes med en Vaccinenål eller en Sax et lille Hudsår og eventuelt en *Poche* under Huden, og Podestoffet føres nu på en eller anden Måde ind i denne *Poche*: Et fast Legeme med *Pincet*, ganske små Mængder Podestof med *Vaccinenål* eller *Platinpodenål*, lidt større Mængder flydende Podestof med *Hårrør* eller *Pasteurske Pipetter*; kun når man ønsker at indsprøjte en forholdsvis betydelig Masse Vædske i det subkutane Væv, må man benytte en steriliseret *Pravaz'ske Sprøjte*.

De almindelige Pravaz'ske Sprøjter ere ikke at anbefale; da deres Stempel er beklædt med Læder og deres Beslag befæstet med Lak, kunne de nemlig ej steriliseres ved høj Varme. Ikke destomindre kunne de anvendes: Man desinficerer Sprøjtens Indre ved i nogen Tid at lade den henligge fyldt med 10 pCt. Karbolvand, der atter fjernes fuldstændigt ved ofte gjentagne Udskylninger med varmt steriliseret Vand.

Langt at foretrække ere de Modeller af den *Pravaz'ske Sprøjte*, der ere konstruerede således, at de *både kunne tør- og dampsteriliseres*, idet deres Beslag er skruet fast i et *Gevind* i selve Glasrøret, og deres Stempel består af *Asbest-* eller *Hylde-marv* (*Straus & Collin*), som man let selv kan forny.

De *Koch'ske* stempelfri Ballonsprøjter (R. Nr. 760) forekomme mig derimod mindre hensigtsmæssige.

Fra flydende Bakteriekulturer og fra kraftige Overfladekulturer på fast Næringsbund kan Podematerialet let hentes op af Reagensglassene med Pipette eller Platinøsken. Når derimod den Bakterie, som skal indpodes, voxer i en *fin, tynd* Koloni langs Podestikket i et Reagensglas, og man ønsker at sikre sig en forholdsvis rigelig Mængde Indpodningsmateriale, så må man heller *udskjære hele Kolonien* og indpode den i fast eller smeltet Tilstand. Dette sker på en lidt forskellig Måde, alt eftersom den voxer i a) Gelatine b) Agar eller c) Serum.

a) *Gelatinen* dyppes i varmt Vand eller opvarmes over fri Flamme således, at dens yderste Lag smelter, og hele Gelatinecylindren løsnes og kan rystes ned mod Vatproppen; derpå fjernes denne forsigtigt, og Gelatinecylindren hældes ud på et steriliseret Uhrglas, hvor man med en steril, svagt varmet Kniv afskærer og fjerner alle de perifere ubevoxede Afsnit af Gelatinen, så at kun et lille prismatisk Stykke med den indlejrede Bakteriekoloni bliver tilbage på Uhrglasset.

b) *Agar-Agar*, der dels ikke adhærer til Glassets Vægge således som Gelatinen, dels ikke smelter ved så svag Opvarmning som denne, udtages på en noget anden Måde: Ofte kan man ved Hjælp af en Pasteurs Pipette *puste* hele Agar-Søjlen ud af Glasset som ovenfor S. 119 beskrevet; lykkes det ikke, fører man en *opvarmet Glasstang* (f. Ex. Håndtaget på en Platinpodenål) langs Reagensglassets Væg *gjennem* Agar-Agaren ned til Bunden således, at den ej kommer i Berøring med Bakteriekolonien. Så snart Glasstangen er afkølet, kan man ved Hjælp af trykkende og trækkende Bevægelser lede Agarcylindren ud på et steriliseret Uhrglas, hvor den behandles på samme Måde som Gelatinen.

c) *Serum* er langt vanskeligere at behandle, da det *både* adhærer stærkt til Glasset og ikke lader sig løsne ved Smeltning; man må derfor, så godt det lader sig gøre, udskjære Kolonien med en langskaffet, spids Kniv, medens den endnu ligger i Reagensglasset — eller eventuelt slå Glasset itu.

3) Indsprøjtning i Venerne

lader sig ej foretage på Mus på Grund af deres Lidenhed. Hos større Forsøgsdyr kan den i Almindelighed foretages, uden at man behøver at blotte Venen, ved simpelthen at stikke Injektionssprøjten's Spids *gjennem* Huden ind i Karrets Lumen. Hos Kaninen lader den intravenøse Indsprøjtning *gjennem* Huden sig f. Ex. særdeles let foretage på Øret og *Skinnebenet*, hos Høns og Duer i *Armvenen*. — Hos Marsvinet podes i den indvendige *Lårvene*, *efterat Huden er gennemskåret*; hos Hund og Får i den tværs over *Skinnebenet*, på Udsiden af Haseleddet forløbende *Vena saphena*.

a) *Indsprøjtning i en Ørevene.*

Kaninen rulles fast og omhyggeligt ind i et langt Håndklæde, således at Bagbenene ere stærkt strakte og kun Hovedet rager ud; Ørets Indside klippes og vadskes med Karbolvand. En Assistent fixerer Hovedet og komprimerer Ørets Basis, så at Venerne svulme; man fatter Øret mellem venstre Hånds Tommel- og Pegefinger, således at det spændes let ud over Pegefingerens Sideflade, og Kanylen stikkes nu med Aabningen opad, raskt gennem Huden lige ind i den underliggende Vene (Fig. 74). Assistenten slipper så Ørets Basis, Operatøren holder Kanylen roligt fastklemt i Venen mellem Pegefingeren og

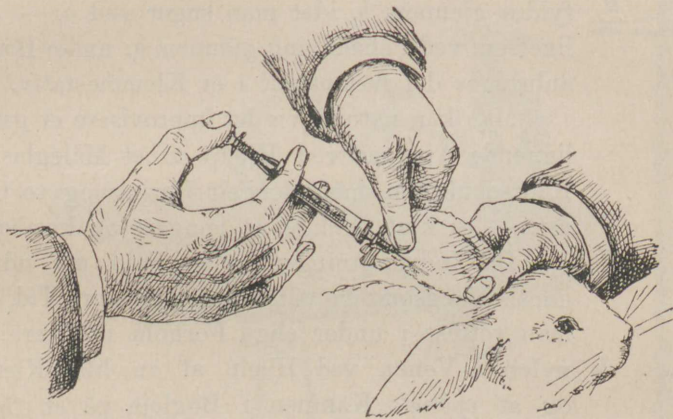


Fig. 74. Indsprøjtning i Kaninens Ørevene.

Tommelfingeren og sprøjter langsomt ind. Blødningen standses let ved at lægge en lille Klump Vat over Såret og påsætte en Klædesklemme, som man lader hænge på Øret et Par Minutter. Er Venens Lysning ikke ramt, ser man Vædsken spile det omgivende Bindevæv ud; at trække Kanylen lidt tilbage og søge at ramme Venen nytter da næsten aldrig; man bør strax vælge en anden Ørevene til Indsprøjtningsssted. I Almindelighed vælger man den langs bageste Rand forløbende Venegren (Ram. post. v. aur. post.), men Øret frembyder iøvrigt mange andre brugbare Angrebspunkter. Når man benytter Øret som Indpodningssted, har man endvidere den Fordel, at man kan sikre sig en *rent intravenøs* Podning uden

samtidig tilfældig subkutan Indpodning i Stiksåret; man behøver blot umiddelbart efter Indsprøjtningen at amputere Indsprøjtningsstedet med et raskt Klip.

Også *store Vædskemængder* kunne indføres i Dyrenes Vener på den beskrevne simple og smerteløse Måde, idet man ved en Kautschukslange forbinder den nåleformede Kanyle *enten*

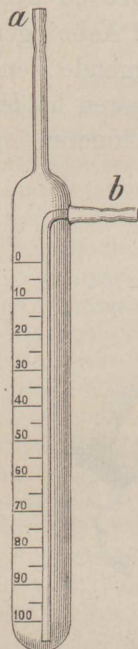


Fig. 75.

Beholder til Brug ved intravenøs Indsprøjtning af større Vædskemængder (Roux).

med en større Sprøjte *eller* med den af Roux angivne Fig. 75 afbildede Beholder. Den kanylebærende Kautschukslange befastes på *b*, medens der på *a* anbringes et Ballon-Blæse-Apparat; hele Apparatet kan let tørsteriliseres, efter at et Par Vatpropper ere anbragte ved *a* og *b*; det kan fyldes gennem *b*, idet man suger ved *a*, — eller ligefrem ved Påhældning gennem *a*; under Brugen anbringes det fastspændt i et Klemmestativ.

Man kan naturligvis let improvisere et ganske lignende Apparat ved Hjælp af et Måleglas, en Kautschukprop med dobbelt Boring og to Glasrør, — et kort og lige, et længere og knæbøjet.

Da Indsprøjtningen i så Fald må udføres ganske langsomt og altså tager længere Tid, gjør man rettest i under slige Forhold at fixere Kanylen i Venen ved Hjælp af en lille Klemme og at *opbinde* Kaninen i Bugleje på et *Operationsbord*, for at Kanylen ej skal glide ud af Venen, hvis Dyret pludseligt bevæger Hovedet.

Som „Kaninbord“ kan jeg fremfor det almindeligt benyttede Czermak'ske (R. Nr. 847) anbefale den *franske* Model, hvis Hovedende er afbildet Fig. 76: Det med talrige Huller forsynede Bræt, der står på fire lave Ben (*a*) og er udstyret med fire Klemmer (*b*), i hvilke Båndene, der lægges om Extremiteterne, kunne befastes, bærer nær sin ene Ende en kraftig Metalbøjle, i hvilken Kuglen *e* ved Hjælp af en Skrue kan anbringes i en hvilken som helst Stilling; Kuglen fortsætter sig i en Stang, der ender i en Bøjle *c*, som lægges over Dyrets Nakke, medens den forskydelige Ring *d* anbringes omkring Snuden og skrues fast på Stangen

i en passende Stilling. Da Kuglen *e* er frit bevægelig, kan Kaninen let fixeres såvel i Bug- og Ryg- som i Sideleje.

b) *Indsprøjtning i Venerne på Skinnebenet.*

Kaninen rulles fast og omhyggeligt ind i et langt Håndklæde, således at kun det ene Bagben rager ud af Rullen (det andet lader man Dyret trække op under sig). En Assistent sidder med det indrullede Dyr på Skjødets; hans ene Hånd extenderer det frie Bagben stærkt; med den anden Hånd omfatter og komprimerer han Låret lige over Knæleddet for at bringe Venerne til at svulme, medens hans tilsvarende Under-

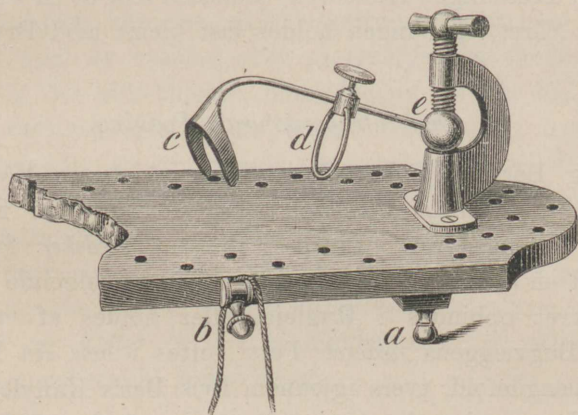


Fig. 76. Kaninbord.

arm hviler på Dyrets Krop. Man opsøger en af de subkutane Venegrene på Skinnebenet, afklipper Hårene over den, afvasker med 2 pCt. Karbolvand, og medens man yderligere fixerer Benet med venstre Hånd, stikkes Kanylen gennem Huden ind i Venen, i hvis Lysning den strax holdes fast ved Tryk med venstre Hånds Tommelfinger.

c) *Indsprøjtning i Fuglenes Armvene.*

Hos *Duen* — den til Infektionsforsøg almindeligst benyttede Fugl — foretages den intravenøse Indsprøjtning som følger: En Assistent, der sidder lige overfor Operatøren, holder

Duen i Rygleje, idet han med den ene Hånd omfatter dens Bagkrop, Ben og ene Vinge, medens Overkroppen hviler i hans anden Hånd, hvis Tommelfinger smøges omkring den frie Vinges øverste Rand hen på Forfladen af Overarmen, som på denne Måde fixeres. Operatøren fatter med venstre Hånd om Underarmen, medens han holder Vingen let extenderet i Albu- og Skulderled og afklipper (ikke udriver!) Fjerene på Alburegionens indvendige Flader, hvor en stor Venestamme ses løbende skråt hen over Underarmens øverste Parti; Huden renses med tyndt Karbolvand, Assistenten komprimerer Venen lidt nedenfor Skulderleddet, Kanylen stikkes gennem den tynde Hud- og Karvæg ind i Venens Lysning o. s. v. som ovenfor beskrevet; Blødningen (ret stærk) standses ved, at en Vatkump lægges på Såret, og Vingen holdes fast klemmt mod Brystet.

4. Den intraperitonæale Podning

har særlig Betydning derved, at man på denne Måde kan indføre *meget betydelige Mængder* af såvel faste som flydende Stoffer i Forsøgsdyret. Indsprøjtning af *Vædske* foretages bedst med en Straus's Sprøjte på en af de to følgende Måder:

a) Dyret opbindes i Rygleje, eller holdes af en Medhjælper; Bugvæggens *nederste* Parti løftes i *hele sin Tykkelse* op i en Længdefold, tvers igjennem hvis Basis Kanylen jages ind, således at den kommer ud på den anden Side; man slipper nu Folden, trækker Kanylen tilbage, så at Spidsen kommer til at ligge frit bevægelig indenfor Bugvæggen, og foretager Indsprøjtningen. På denne Måde undgår man bedst at beskadige Indvoldene, særligt Tarmene.

b) Simplere er følgende Fremgangsmåde, der navnlig benyttes på *Marsvin* og *små Kaniner*, men ved hvilken man lettere udsætter sig for at *ledere Tarmen*: Dyret holdes af en Assistent i en let extenderet Stilling, med Bugen opad, uden at Ryggen understøttes, Operatøren løfter nu en Hudfold i Dyrets regio hypochondriaca i Vejret og støder eller rettere *hugger* med et *kort Stød* Sprøjtespidsen gennem Bugvæggen, trækker atter Sprøjten lidt tilbage og injicerer med svagt Tryk, i Håb om, at Tarmen — således som det vistnok oftest

er Tilfælde — er veget ud for Kanylen og ikke er beskadiget eller gennemstukket. — Føles der Modstand mod Indsprøjtningen, er det Tegn på, at Kanylespidsen ej ligger frit i Peritonæalhulen.

c) Skulle *større afmålte Vædske-mængder* indsprøjtes i Underlivshulen, kan det naturligvis ske på samme Måde som ved den intravenøse Indsprøjtning; dog kan man ved den intraperitonæale Injektion nøjes med at anvende en almindelig inddelt Glaspipette, hvis ene Ende ved en Kautschukslange forbindes med Kanylen, medens den anden er lukket med Vatprop; Vædsken *pustes* da ind.

d) Indeholder Indpodningsmaterialet Tjavser eller Klumper (Tuberkelbacil-Hinder f. Ex.), som ej kunne passere de fine Sprøjtekanyler, kan man til Indsprøjtning benytte en Pasteursk Pipette, som er *brækket* over på Overgangen mellem det kapillære og det vide Afsnit; man lægger et lille Snitsår gennem Underlivshuden og de øverste Muskellag, hvorpå man med drejende og trykkende Bevægelser *borer* den skarpe Brudflade gennem de dybere Muskellag og peritonæum parietale, *puster* Indholdet ud og lukker Bugsåret med en Suture.

e) *Større faste Legemer* må naturligvis indføres gennem et efter Kunstens Regler udført Laparotomisår i linea alba.

Mus og *Rotter* er det hensigtsmæssigt at ætherisere før den intraperitonæale Indpodning.

5) Indpodning i forreste Øjenkammer.

Denne Indpodningsmethode fik navnlig Betydning for *Tuberkulose*læren, da det ved Indbringelsen af små tuberkuløse Masser i camera anterior lykkedes at fremkalde Iristuberkulose (Cohnheim & Salomonsen), og det således blev muligt direkte at iagttage Miliartuberkulosens Inkubationstid og dens Uafhængighed af en forudgående suppurativ Betændelse. I den seneste Tid benyttes den også til *Rabies*-Podninger.

Operationen foretages på følgende Måde: Kaninen anbringes i Bugleje, helst på et Kaninbord, hvor dens Hoved nøjagtigt kan fixeres. En Assistent fjerner dens Øjenlæge fra hinanden; bekvemmest er det, når han kan sidde *ligeoverfor*

Operatøren og omfatte Kaninens Hoved med begge Hænder. Undertiden er Blinkhinden så stor, at også den må holdes tilside. Med en Fixationspincet fatter man derpå en Fold af Konjunktiva, og med en Lindsekniv gøres et 2—3 Mm. langt Indsnit i Hornhinden nær dens Rand under Iagttagelse af de fra den oftalmologiske Operationslære bekjendte Forsigtighedsregler. Er Indpodningsmaterialet et *fast* Legeme, bliver det ført ind gennem Snitsåret ved Hjælp af en lille krum Pincet (helst med meget fine men glatte og ikke skjærende Brancher, der åbne sig parallelt), og ved forsigtige Strygninger med en Daviels Ske hen over Hornhinden søger man at skyde det inokulerede ned i Bunden af forreste Kammer; lykkes det ikke let, lader man det Indpodede ligge, hvor det ligger. *Flydende* Indpodningsmateriale indsprøjtes gennem en (helst) stump og krum Kanyle, som indføres gennem Snitsåret. Til *Cocainisering* af Øjet før Operationen benyttes enten Inddrypning af en 2 pCt. Opløsning, hvis Maximalvirkning nås efter 15 Minutters Forløb (Howe), — eller Indstrøning af lidt Cocaïn-Pulver.

Et andet for Iagttagelsen let tilgængeligt Operationsfelt, der ofte er benyttet til Indpodning, er *Hornhinden*, hvor Betingelserne ere særligt gunstige for Iagttagelsen af Mikrobernes Indvirkning på Bindevævs-cellerne. Man frembringer med en spids Nål en hel Del små Stik- og Ridssår i Cornealvævet — uden at åbne forreste Øjenkammer — og indgiver derpå lempeligt Bakterierne i Sårene. Naturligvis kan man også først dyppe Nålen i det virulente Materiale, men den førstnævnte Fremgangsmåde synes at give sikkrere Anslag.

6) *Indpodning i Subarachnoidalrummet,*

således som den først anvendtes ved Hundegalskabs-Indpodningerne i Pasteurs Laboratorium (*Pasteur & Roux*), foretages på følgende Måde hos *Kaniner* og *Marsvin*: I Egnen mellem Øjne og Øren gøres i Midtlinjen et Indsnit gennem Hud og Aponeurose; ved Hjælp af et Par små Sårhager holdes Sår-læberne fra hinanden. Trepankronen (omtrent 5—6 Mm. i Diameter) anbringes lidt udenfor Midtlinjen, bagved Orbita; såsnart den cirkelrunde Savfure er tilstrækkeligt dyb, trækkes Trepanaxens Spids tilbage, for at den ej skal beskadige dura mater. Man mærker som Regel tydeligt, når Knoglen er

gjennemsavet, men man kan for større Sikkerheds Skyld af og til under Operationens Forløb forsøge på at løfte Benskiven ud af Hjærneskallen. Når dura er blottet, gennemstikkes den med den Pravaz'ske Sprøjtes nåleformede, næsten *retvinklet bøjede Kanyle*, som man, for ej at lædere den underliggende Hjerne, samtidigt trækker lidt til sig, og nu indsprøjtes 2—3 Dråber af Rygmarvs-Opslemningen; Såret udskylles med 2 pCt. Karbolvand og lukkes med et Par Suturer. — Hos *Hunden*: Efter Indsnittet forskydes Huden lateralt, M. temporalis løsnes, og *Trepanationen foretages i fossa temporalis*, hvor Kraniet er tyndere, hvor man får ringere Blødning, og hvor ingen Dura-Tilheftninger findes. Indpodningen under dura mater har fremfor alle andre ved Rabiesforsøg benyttede Indpodningsmetoder den Fordel, at den giver såvel *absolut sikkert Anslag* som *kortest og konstant Inkubation*.

Efter de nyere Undersøgelser af *Roux* o. A. giver forøvrigt *den langt simple Indpodning i forreste Øjenkammer lige så sikkert Anslag* som den subdurale.

I denne Sammenhæng skal ganske korteligt omtales den Fremgangsmåde, som man i Institut Pasteur følger med Hensyn til Tilvejebringelsen, Opbevaringen, Tilberedningen og Omdannelsen af det virulente Rabiesmateriale. Ren Virus finder man *altid* i de af *Rabies døde Dyr*s *forlængede Marv* (og øvrige Centralnervesystem); Indpodningen foretages bedst ved Hjælp af en Pravaz'sk Sprøjte, efter forudgående Opslemning i steril Bouillon eller 0,7 pCt. Klornatriumsopløsning. Den forlængede Marvs Udtagelse og Opslemning må naturligvis foretages med størst mulig Renlighed for at undgå tilfældig Infektion. I Institut Pasteur tilberedes Podematerialet på følgende Måde: Et lille Stykke Hjernemasse udklippes i Egnen af 4de Ventrikels Bund, anbringes i et med Papir dækket, ved c. 150° steriliseret, c. 150 Ccm. rummende *Spidsglas*, i hvilket det med en Glasstang gnides ud til en blød Gelé; dernæst tilsættes portionsvis og under stadig Omrøring små Mængder steriliseret Bouillon, det Opslemmede tildækkes atter med Papiret og henstilles, indtil de grovere Partikler ere sunkne tilbunds; til Indsprøjtning benyttes de øverste, svagt plumrede Lag af Vædsken.

Den forlængede Marv beholder sin Virulens uforandret i Løbet af mindst en Måned, når den opbevares i ren, neutral *Glycerin (Roux)* på et kjøligt Sted; man mærke sig dette, når man nødes til at *sende Dele* af et Dyr's eller Menneskes Centralnervesystem til et fjerntliggende Laboratorium for Diagnosens Skyld.

Rabiesvaccinerne tilberedes efter *Pasteur & Roux* på følgende Måde: En Kanin af 2 Kilos Vægt og c. 45—50 Ctm. Længde fra Snude til

Halerod podes ved Trepanation med „virus fixe“; 6—7 Dage senere får den Rabies og dør på 10de Dag; inden Forrådnelsen er indtrådt, udtages nu Centralnervesystemet på følgende Måde: Kaninen lægges i Bugleje, Ryghuden spaltes i Midtlinjen i hele sin Længde fra Snude til Halerod og dissekeres til Side, Rygmusklers og Nakkemusklers Tilhæftning til Kranium og Rygsøjle løsnes, Torntappene afklippes med Krumsax; der-

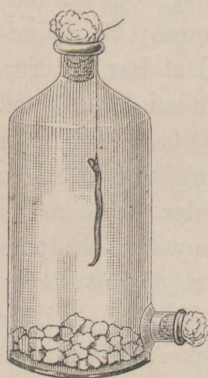


Fig. 77.

næst griber man ved Hjælp af en stærk Bentang (Faraboeufs f. Ex.) Kaninens Snude og holder den fast med venstre Hånd. Ved Hjælp af en *Listons Bensax* bider og brækker man nu theca cranii af; når dette er sket, går man videre og fjerner én for én alle Hvirvelbuerne, idet man — uden at lædere Rygmarven — bider dem over med Spidsen af den Listonske Sax på højre og venstre Side, så nær ved corpus som muligt og brækker dem af. Dette er lettere sagt end gjort; navnlig i Halsregionen kommer man let til at knuse Rygmarven, men med nogen Øvelse lærer man efterhånden at blotte Rygmarven i hele dens Længde uden at lædere den med det grove Instrument. Dernæst overskærer man Rygmarven ovenfor cauda equina, fatter Rygmarvhinden med en Pincet lige ovenfor Snittet og løfter den i en Udstrækning af 6—7 Centimeter ud af Hvirvelkanalen, idet man overskærer alle dens Tilhæftninger; det løsnede Stykke afskjæres, ombindes ved sin ene Ende med en steril Silketråd og ophænges, som Fig. 77 viser, i en Flaske af omtrent en Liters Rumfang; Flaskens 2 Åbninger ere lukkede med Vatprop, og den er tørsteriliseret ved 150°. Førend Rygmarvstykket hænges ned i Flasken, lægges der så meget kaustisk Natron i den, at Bunden dækkes, hvorpå den henstilles i Mørke ved 20—25° C. Af de således ophængte, i kortere eller længere Tid tørrede Rygmarvstykker tilberedes Vaccinerne som ovenfor beskrevet.

7) Fodrings-Infektion.

Man kan simpelthen *tilblande Smitstoffet omhyggeligt til en af Forsøgsdyrets Yndlingsspiser*, som da bydes det i ikke altfor stor Mængde; om fornødent, holdes Dyret først en halv eller hel Dag på Inanition. Når det gjælder *Mus* og andre små Dyr, er dette den eneste brugbare Fremgangsmåde. Også for større Pattedyrs (*Kaniners* og *Marsvins*) Vedkommende benytter man den *simple Fodring*, når store Mængder af virulente *faste* Stoffer skal indføres i Maven, og det er overhovedet den *bedste* Måde at fremkalde en „Fodringssmitte“ på, eftersom det jo just er

den Måde, på hvilken den *naturlige* Infektion gennem Føden som Regel finder Sted. Imidlertid lader den sig ikke altid anvende, og man nødes da til at bruge andre Midler. *Vædske* (Bakteriekulturer f. Ex.) kunne således hældes eller sprøjtes ind gennem Svælgsonde: *Kaninen* indrulles i et Håndklæde, således at kun Hovedet rager frit frem; en Assistent sidder med den på Skjødets; man får Dyret til at åbne Munden ved at øve et let Tryk på Hovedets Sideflader i Egnen af Kindtænderne og indfører nu en lille Træknevl af den Fig. 78 afbildede Form, således at Fortænderne komme til at hvile i de 2 Riller på Over- og Underfladen.

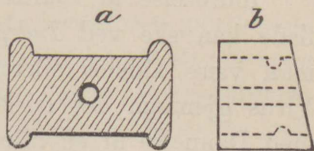


Fig. 78 a og b.

- a. Træknevl til Indførelse af Svælgsonde, set forfra.
b. Snit gennem samme.

Gennem Knevlens Åbning kan nu et Urinkatheder Nr. 17 let føres ned i Kaninens Ventrikel; vedhængende Foderrester tjene som Bevis for, at den har været på sit Bestemmelsessted. Hos *Marsvinet* må man anvende et tyndere Katheder (helst Knopkatheder), og Indførelsen må ske med særlig Forsigtighed, da Spiserøret let perforeres. For at undgå dette, kan man også, medens Marsvinet af en Assistent holdes sidende på Huk, hælde Vædsken i små Portioner ind gennem en Tragt, hvis lange Rør er ført ned i Dyrets Svælg (*Malm*).

Hos *Duer* og *Høns* kunne *faste Stoffer* nemt indføres i Maven: Man spiler Fuglens Næb op, fører Fodringsmaterialet ind i Mundhulen, så langt tilbage på Tungens Overflade som muligt, hvorpå Dyret strax synker det. Af Bakteriekulturer og andre bakterieholdige *Vædske* laver man ved Hjælp af lidt Mel *Piller*, der indføres ganske på samme Måde.

Indførelsen af infektiøse *Vædske* i Mave og Tarm ved Indstik gennem Bugvæggen med en Pravaz'sk Sprøjte er en usikker og upålidelig Fremgangsmåde. Vil man indføre Smitstoffet *umiddelbart i Tarmens Hulhed*, må man under antiseptiske Kauteler åbne Underlivet, opsøge en Tarmslynge, forsigtigt fixere den og nu gennemstikke dens Væg med Kanylen; således udføres f. Ex. Indsprøjtningen af Kolera-Spiril-Kulturer

i *duodenum* (*Nicati & Rietsch*), ved hvilken Operation man undgår Mavesaftens Indvirkning på de injicerede Mikrober.

8) *Indåndings-Infektion.*

Indførelse af Smittebakterier på den intakte Lungeoverflade kan ske ved *Indsprøjtning gennem et Trachealsår*. Vil man være aldeles sikker på, at der ikke *samtidigt* indføres Virus gennem det friske Snitsår, lader man først dette hele med Dannelse af en lille *Trachealfistel*. Hos store Forsøgsdyr har man (*Arloing, Cornevin & Thomas*) opnået det Samme ved gennem en vid *Metalkanyle* at indføre et Drainrør og gennem dette foretage Indsprøjtningen i små Portioner (for at undgå Hostestød).

Vil man så nøje som muligt efterligne den naturlige Infektion gennem Respirations-Slimhinden, må man fordele Bakterierne i Forsøgsdyrenes Indåndingsluft som et *yderst fint og egalt, ikke mekanisk irriterende Pulver*. Dette opnås bedst ved enten

1) at pulverisere Bakteriekulturen ved Hjælp af en *Spray*. Hermed ere dog visse Ulemper forbundne: Den Støvsy, Sprayen frembringer, indeholder ikke blot yderst fine, men også lidt større Dråber, så at Forsøgsdyrene befugtes stærkt (også deres Næseslimhinde). For at undgå denne Ulempe anbringer *Buchner* Sprayen inde i en tohalset Woulffs Flaske af tre Liters Rumfang; i denne få de grovere Dråber Lejlighed til at bundfælde sig, medens de fineste som en næppe synlig Sky på Grund af deres Lidenhed kunne føres videre ud af Flaskens ene Hals gennem et Rør til det afspærrede Rum, i hvilket Dyrene befinde sig. (Afbildning s. *Hueppe*. Meth. d. Bakt.-Forsch. 1891. Fig. 58).

Wüirtz anbefaler at anbringe Spray og Forsøgsdyr (Mus) inde i en Glasklokke, hvis slebne, indfedtede Rand slutter lufttæt til en Glasplade, og i hvis Hvælving der findes en Åbning, som lukkes med en dobbelt gjenneboret Kautschuk-prop; gennem denne går to korte Glasrør, af hvilke det ene sættes i Forbindelse med en Vandluftpumpe, det andet er ved Hjælp af en Kautschukslange med sin nedadvendende Ende

sat i Forbindelse med Sprayens Tilledningsrør; når man nu ved at åbne for Vandluftpumpen fortynder Luften i Klokken, står der en Støvsyge ud af Sprayen; Finhedsgraden af Vædske-dråberne kan man regulere ved at anbringe et mer eller mindre snevert Hul i den øverste Del af Sprayens Afledningsrør. Eller

2) man kan (*Buchner*) hælde den flydende Bakteriekultur ud over en større Mængde *Sporer af Lycoperdon giganteum*, tørre over Klorcalcium og ved Hjælp af en *Puster* hvirvle det tørre Støv op i det lukkede Rum, hvor Forsøgsdyrene ere anbragte. Ved sine Forsøg over Miltbrandsporerens Indtrængen gennem Lungerne anvendte Buchner 0,25 Gram Støv til et Rum på tre Liter og lod Indåndingen vare 10—15 Minutter. — Også andre Pulvere (Kul, Talk o. s. v.) kunne benyttes som Vehikel for Bakteriekulturene, men *Lycoperdon-Sporerne* udmærke sig fremfor dem alle ved deres Lidenhed, Egalitet, runde Form og ringe Vægtfylde. Hvis Bakterierne dræbes eller svækkes ved Tørring, lader denne Methode sig naturligvis ej anvende.

Dyrene må under slige Forsøg befinde sig i *utvungne* Stillinger, således at deres Åndedrætsbevægelser i ingen Henseende hæmmes eller forandres; bedst er det at lade dem bevæge sig frit. Mus kan man således anbringe i større Antal frit i en *tæt Blikkasse med nogle få vatlukkede Lufthuller*. Ønsker man at *fixere* Dyrene for at give deres Snude en bestemt Retning, kan man benytte *Metaltrådnæt*, der jo altid kan bøjes og formes, ganske som man ønsker det; en enkelt Mus kan man hensigtsmæssigt anbringe i et 3—4 Ctm. vidt *Glasrør* med en gjennemboret og spaltet Korkprop i den ene Ende; i Proppens Hul anbringes Musens Hale.

Når man anstiller Inhalationsforsøg med Bakterier, der ere *pathogene for Mennesket*, må man ej forglemme at iagttage passende Forsigtighedsregler (tætte Beholdere og Rør, vatlukkede Lufthuller på Dyrekasserne, lang Blæseslange på Sprayen, eventuelt arbejde i fri Luft o. s. v.).

KAPITEL XI.

Såning af Bakterier fra Dyr og Mennesker. — Opsamling og Tilberedning af ursterile Næringssubstrater.

Når man fra Blodet eller Organerne af Dyr, som ere døde af en Infektionssygdom, vil så og rendyrke den Mikroorganisme, som er Sygdommens Årsag, bør man foruden at følge de ovenfor i Kapitel I—III og Kapitel V givne Regler tillige mærke sig følgende: Dyrenes mere eller mindre smudsige Hår og Fjer indeholde selvfølgeligt en Fare for Forurensning af Kulturerne, man kan undgå denne ved at *flå* eller *plukke* Kadaverne, førend de åbnes; man kan også *væde* alle de behårede Dele med *Karbolvand* eller indsvøbe og bedække dem med i Karbolvand opblødt *Filtrerpapir*.

Som *Sektionsborde* benyttes bedst rektangulære (Kanin: 72×36 Ctm., Marsvin: 42×25 Ctm.) Bakker af Zinkblik, i hvis udad skrånende Rand, der 1 Ctm. fra Bunden findes udhugget en Række Huller til Fastbinding af Ligene (s. Fig. 79).

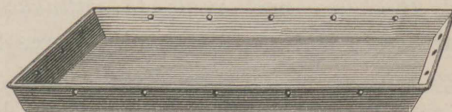


Fig. 79.

Sektionsbakke af Zinkblik.

Alle *Instrumenter*, der benyttes til Præparation af Liget, inden Udsæden er taget, må være omhyggeligt steriliserede efter de fra Kirurgien kjendte Regler; selvfølgeligt kan man dog her ikke gjøre så udstrakt en Brug af *Antiseptika* som ved kirurgiske Operationer; man foretrækker *Kogning*, *Tørsterilisation* og *Flammerensning*. Da Instrumenterne lide overordentlig meget ved *Flambering*, gjør man rettest i at have *flere Sæt* af de almindelige Obduktionsinstrumenter (Kniv, Sax, Pincet) i Beredskab, og da navnlig ét Sæt, som er beregnet på at kunne

ophedes stærkt i Flammen og at skulle bruges til de Snit og Klip, der kunne eller helst skulle gjøres med så hede Instrumenter, at Organerne *hvisle* under dem — samt et eller flere Sæt, der behandles skånsommere, før Operationen steriliseres ved 150° i en *Glasæske* (Fig. 17; eller Metalkasse eller indsvøbt i Papir), i hvilken de forblive indtil det Øjeblik, de skulle bruges. — Man bør endvidere være indrettet på at kunne desinficere sine Instrumenter under Obduktionen uden at behøve at ty til Ophedning i Flammen, og uden at man derved forgifter sit Podningsmateriale med Antiseptica. Bedst opnås dette på følgende Måde: I en lille *emaillet Kasserolle* holdes Vand under hele Obduktionen spilkogende; endvidere have en *Beholder med 3 pCt. Karbolvand* samt en Del små Pakker med *steriliserede Stykker Filtrepapir* og små steriliserede Tamponer af *hygroskopisk Vat*; man kan nu altid hurtigt sterilisere Instrumenterne ved Neddypning i Karbolvandet med påfølgende Afskylning i kogende Vand, og ønsker man desuden Instrumentet absolut tørt, kan dette opnås ved Hjælp af Vattamponerne og Filtrepapiret.

Ved den i det følgende givne Beskrivelse forudsættes det, at alle de anvendte Instrumenter ere grundigt steriliserede på en af de omtalte Måder.

Foruden alle de nævnte, i Sterilisationens Tjeneste stående Sager (Gasflamme, kogende Vand, Karbolsyre-Opløsning, Vat og Papir) må man endvidere have i Beredskab en *større Skål med desinficerende Opløsning* til Rensning af Hænder o. A., samt en lille, i et Træskæft anbragt Jernstang (Fig. 80), der kan benyttes som *ferrum candens*. — Endvidere *Glasvænke* (s. Fig. 23) til at lægge Instrumenterne på.

Man gør rettest i, førend man begynder Obduktionen, altid at indrette sig på ikke blot at kunne foretage Podninger i de almindelige Næringssubstrater (tynd og tyk *Platinpodenål*, *Hærrør*, *Pasteur-Pipetter*; *Dyrkningsapparater* med B., K. P. G., K. P. A. Serum; deraf nogle i højt Lag til *Anaërobionter*, *gummede Etiketter*) — men også på at kunne opsamle og opbevare Vædske, Organer og Organdele i *steril Tilstand* til senere



Fig. 80.

 Ferrum
candens.

Bearbejdelse (*tenformede Rør* s. Fig. 90—92, små steriliserede *Glasæsker* s. Fig. 18, eller sterile *Uhrglas*, *Glasplader* o. s. v.).

Det følger af sig selv, at man ligeledes holder alt i Beredskab til at *fixere* og *hærde* de Organdele, man senere ønsker at undersøge histologisk (Glaskrucker med absolut Alkohol og et Vatlag i Bunden o. s. v., smlg. S. 200) — samt at man er forsynet med en Samling *vel rensede Dækglas* for under selve Obduktionen at kunne tage Dækglaspræparater (smlg. S. 190); hensigtsmæssigt er det, når man tager mange Dækglaspræparater, at henlægge dem til Tørring på *et Stykke Skrivepapir* under en *Glasklokke*, og på Papirsunderlaget med *Blyant* skrive, hvorfra de stamme, for at undgå Forvexling ved den senere, endelige Etikettering.

Med Hensyn til *selve Såningen* er det værdt at mærke sig følgende almindelige Regler:

Når man vil foretage en Såning fra 1) den i *en Hulhed indeholdte Vædske*, er det hensigtsmæssigt først at *svide Væggens Udside*, førend man med en Kniv eller Såningsapparat trænger gennem Væggen, f. Ex.:

Vil man så fra en *pleuritisk Ansamling*, blotter man først på sædvanlig Måde Ribben og Interkostalmuskler, frembringer derpå ved Hjælp af den i Flammen *ophedede Jernstang* en overfladisk Brandskorpe i et af Interkostalrummene; *gennem* Brandskorpen åbnes nu Pleurahulen med en glødende Nål eller et stærkt ophedet smalt Knivsblad, og gennem dette lille gabende Sår indføres Podenål, Hårrør eller Pipette — alt eftersom man ønsker at udså mindre eller større Mængder af Pleuralvædsken.

På ganske lignende Måde tager man *Hjærteblod* fra et af Forkamrene; når dets Udside er kauteriseret med Jernstangen, kan man som oftest uden videre jage Hårrøret eller Pipetten ind gennem den tynde Væg uden forudgående Perforation med Kniven; denne er kun nødvendig, når en tynd og bøjelig Platinnål skal indføres.

Skal Udsæden tages 2) fra *solide Organers Substans*, benytter man en af de *tykkere* og mere stive Podenåle, som man da a) kan *bore ind* gennem et med glødende Jern kauteriseret Parti af Overfladen. Eller man kan, hvis Organets Konsistens

tillader det (f. Ex. Lever, Milt, Nyre), b) *sønderbrække* det med Fingrene eller Instrumenter, eventuelt efter at have steriliseret Overfladen med glødende Jern eller Neddypning i en anti-septisk Opløsning og påfølgende Afskylning i sterilt Vand; man får således en af alle Instrumenter *uberørt Brudflade*, gennem hvilken Podenålen kan bores ind. — c) Andre Organer nødes man til at *gennemklippe* med stærkt ophedet Sax for at få en kimfri Snitflade. — d) Undertiden (f. Ex. ved Mycosis aspergillina og mucorina af de indre Organer) er det hensigtsmæssigt med en Krumsax at *udklippe små Stykker af Organet* og lægge dem på eller i Næringssubstratet.

I visse Tilfælde (Såning fra tuberkuløse Knuder f. Ex.) kan det omvendt være af Vigtighed at få Podningsmaterialet *fint fordelt*, dels for at frigjøre Kimene, dels for at kunne udbrede dem over større Såningsflader; dette kan opnås ved at *klemme og knuse de udskårne Vævsmasser mellem et Par sterile Glasplader* (Koch) eller ved (således som vistnok Roux først har gjort) *at uddrive dem med fint Sand*. Hertil kan man benytte det Fig. 81 afbildede lille Apparat: En Glasstang *a*, af Tykkelse som de til Platinpodenålene anvendte, anbringes ved Hjælp af den lille Vatkrans *b* i et noget tykvægget, forneden tilsmeltet Glasrør *c*, i hvilket der findes en ringe Mængde ganske finkornet (helst udglødet) Sand *d*, det hele indsvøbes i Papir og tørsteriliseres ved 150°. Når det skal benyttes, udtages Glasstangen et Øjeblik, for at det lille Vævstykke og om fornødent nogle Dråber Bouillon eller Chlornatrium-Opløsning kan indføres i Glasrøret; og med Glasstangen udriver man da såvidt muligt det hele til en grødet Masse, fra hvilken så Såningen foretages.

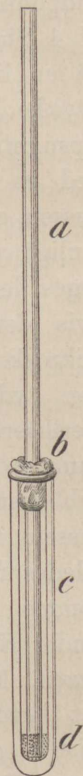


Fig. 81.
Apparat
til Udgnid-
ning af
Podema-
teriale
med Sand.

Da den *hvide Mus* er det Forsøgsdyr, som er forudsat benyttet ved Udførelsen af de fundamentale Podningsforsøg,

skal her gives en kort Redegjørelse for, hvorledes man bedst foretager Såninger fra dette Dyr's Hjerteblod:

Når den udvendige Undersøgelse af Dyret (særligt af Indpodningsstedet) er foretaget, bliver Kadaveret ved Hjælp af 4 Shawlsnåle, én gennem hvert af Lemmerne, udspændt på en lille Træplade, som passende kan dækkes først med et Stykke Voxpapir og dernæst med et Par Lag Fitrerpapir til Opsugning af Blod o. s. v. — Eventuelt fixeres også Hovedet ved en femte Nål gennem Snuden. — Huden over Brystkassen og Baglivet dissekeres løs i så stor Udstrækning som muligt og bortklippes derpå helt; ved samme Lejlighed undersøges de axillære og ingvinale *Lymfekirtler*, og man kan tillige, hvis der er Anledning dertil, *tage Blodprøver* til foreløbig mikroskopisk Undersøgelse fra vasa axillaria. Man fatter nu den tydeligt fremspringende processus ensiformis med en steriliseret Pincet; løfter den stærkt i Vejret, og med en lille flammerenset, spids Sax, hvis ene Branche stikkes ind under Ribbensranden, udklipper man et så stort Stykke af Brystkassens forreste Væg, at Hjertet med sit pericardium blottes; således får man intet at gøre med Tarmene, og Instrumenterne komme ikke i Berøring med denne farlige Infektionskilde. Under Klippingen *undgår man at berøre Hjertets Forflade med Saxen*. Med to små flammerensede Pincetter sønderrives derpå det tynde pericardium, og i det nu fuldstændigt blottede Hjerte gør man et lille Klip; som oftest pibler strax så meget Blod frem gennem Klipsåret, at man kan væde Platin-nålen dermed; i modsat Fald indføres den gennem Såret i Hjertets Hulhed, hvorpå Såningen foretages.

Derefter fortsættes Obduktionen efter de almindelige Regler, dog med særlig Forsigtighed og Renlighed for ikke at vanskeliggjøre eller umuliggjøre den pålidelige Rendyrkning fra *andre* Organer, i hvilke man senere måtte støde på sygelige Forandringer.

Når Obduktionen er fuldendt, og de nødvendige Præparater udtagne og opbevarede, indsvøbes Kadaveret i det underlagte Fitrerpapir og brændes på Skorstenen.

Alt efter det Organ, fra hvilket Rendyrkningen skal udføres, forandres naturligvis Fremgangsmåden ved Obduktionen

på en passende Måde, idet man følger den Regel *strax at gå lige løs på det Organ*, fra hvilket den *vigtigste* Rendyrkning skal foretages; er det f. Ex. af særlig Vigtighed at så fra *Miltpulpaen*, anbringes Musen i *Sideleje*, så at Milten ligger lige for, og man uden at tumle for meget med de andre Underlivsorganer kan blotte den o. s. v.

De her meddelte Anvisninger og Exempler ville kunne tjene som tilstrækkelig Vejledning ved Såning fra *Lig* samt ved Opsamling og Såning af Vædske og Væv fra *levende* Dyr og Mennesker, hvor jo imidlertid Hensynet til Patienten kan nødvendiggjøre mange Tillem্পninger og Forandringer i Operationsmåden: Ætsningen med den ophedede Stang må erstattes af en omhyggelig Rensning med desinficerende Vædske, Pasteurs Pipette må vige Pladsen for den steriliserede Pravaz'ske Sprøjte o. s. fr. Smlg. iøvrigt nedenfor S. 156—157.

Hvad der behøves til efter alle Kunstens Regler at foretage slige Såninger ved selve *Sygesengen eller Operationsbordet* og til dér at opsamle Sygdomsprodukterne i *fuldstændigt* ren Tilstand til videre Bearbejdelse i Laboratoriet, er ikke meget: De til Desinfektion benyttede Vædske (Æther, Sublimat- og Karbolvand), lidt sterilt, hygroskopisk Vat og steriliseret Filtrerpapir; Sax, Kniv og Pincet, indsvøbte i Papir og steriliserede ved 140°; steriliseret Straus' Sprøjte (s. S. 135), Spritlampe, Platinpodenål, Hårrør, Pasteurske Pippetter, ditto med kapillær Indsnævring (s. Fig. 90), små Reagensglas med *forskjellige* Næringssubstrater, deriblandt nogle til Anaërobyrkning o: med høje Lag Næringsgelée, Etiketter, Dækglas. Dette er så at sige *Alt*, når man skruer Fordringerne højt op. Nogle af disse Sager kunne på enhver Sygestue skaffes tilveje med kort Varsel, nogle af dem er der kun undtagelsesvis Brug for — Resten bør altid være tilstede på Hospitalsafdelingerne, hvis ikke værdifuldt Materiale skal gå tabt.

Opsamling af oprindeligt sterile Næringsvædske,

der egentlig hører hjemme under Kapitel III, omtales på dette Sted, fordi den foretages under Iagttagelse af nøjagtigt de samme Forsigtighedsregler som de, der må overholdes ved Såning og Rendyrkning af pathogene Bakterier fra Lig; kun Opsamlingsapparaterne ere forskjellige. Som oftest ønsker man at opsamle de sterile Vædske (Blod, Urin, Mælk o. s. v.) enten i en større Beholder, fra hvilken de kunne fordeles på mindre Kulturapparater, eller umiddelbart i mindre Kulturapparater.

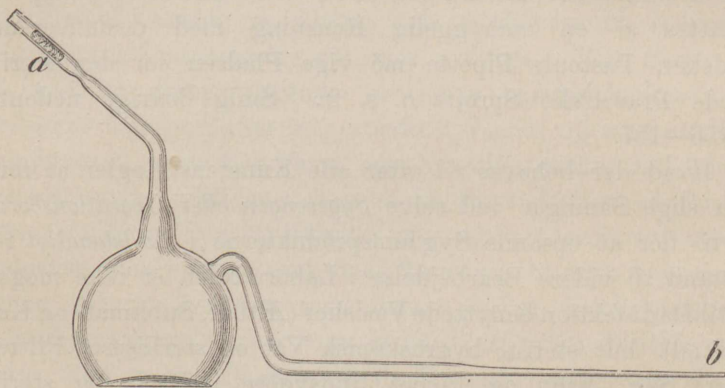


Fig. 82.

En „Pasteurs Sprøjteflaske“.

I første Tilfælde anvendes bedst den såkaldte „Pasteur'ske Sprøjteflaske“ (Fig. 82); som Billedet viser, er det egentlig kun en meget stor „Pasteurs Pipette“ med en ejendommeligt formet Beholder. Når den kapillære Spids *b* er tilsmeltet, og en Vatprop anbragt ved *a*, steriliseres Apparatet ved 150°; umiddelbart før Brugen brækkes Spidsen af, og hele det kapillære Afsnit flammerenses. Under Iagttagelse af de ovenfor S. 150 omtalte Forsigtighedsregler indføres nu Spidsen, og Beholderen suges fuld, hvorpå Åbningen atter tilsmeltes ved *b*. Den sterile Vædske overføres nu — helst så snart som muligt efter Opsamlingen — på mindre Kulturapparater; det sker, idet man, efter at Spidsen er brudt af, og Beholderen

drejet opad, puster ved *a*; de således påfyldte Reagensglas eller Chamberlandske Flasker henstilles, før de tages i Brug, flere Dage på Prøve ved 30—40°. På denne Måde kan man f. Ex. i ethvert Slagteri fra det nyligt dræbte Dyr med Lethed opsamle store Mængder *kimfri Urin*, når man efter Underlivets Åbning indfører Sprøjteflaskens Spids gennem Blærevæggen.

Undertiden kan det være hensigtsmæssigt *strax* at opsamle Vædsken i mindre Kulturapparater. Når man f. Ex. vil benytte *sterilt Blod* som Næringssubstrat og opsamle det fra Hjertet af et nyligt dræbt Dyr, vilde det naturligvis koagulere i den store Beholder, inden man fik det overført i de små. I slige Tilfælde kan man bruge *Pasteurske Pipetter*, der ikke som sædvanligt ere lukkede med en simpel, men derimod med en *rørformet Vatprop* (se Fig. 83), hvilken jo med langt ringere Fare for Infektion kan fjernes og påsættes, når Såningen senere skal foretages. Pipettens Spids åbnes, flammere-

rensens, indføres (se ovenf. S. 150) i Hjertet på et sundt, nyligt dræbt Dyr, suges fuld med Blod, tilsmeltes atter, henstilles til Iagttagelse i nogen Tid og kan derefter tages i Brug som Dyrkningsapparat.

På ganske lignende Måde kan man f. Ex. af større Dyrs Øjne opsamle Vandvædske, af *Fugleæg* opsamle frisk, kimfri Æggehvide o. s. fr.

Øjet afskylles med en desinficerende Opløsning, Hornhinden kauteriseres i nogen Udstrækning med glødende Jern (Fig. 80); Øjet omfattes med venstre Hånd, og idet man svagt og ligeligt klemmer det mellem Fingrene, øger man det intraokulære Tryk noget, så at humor aqueus, når Pipetten stødes gennem den spændte Hornhindes kauteriserede Overflade, stiger op i Røret, uden at man behøver at suge. — Ægget desinficeres, som S. 48 antydet, og Pipetterne indføres gennem det med glødende Jern forkullede og åbnede Parti af Skallen.

Fra *levende Dyr og Mennesker* går Opsamlingen af ursterile Vædsker ikke altid så let og sikkert for sig som i de beskrevne Tilfælde, imidlertid er den igenlunde umulig.

Fig. 83.
Pasteurs
Pipette
med rør-
formet
Vatlås.

Hvad *Blodet* angår, da er det allerede ovenfor S. 46 bemærket, at man har Udsigt til at få det kimfrit eller næsten kimfrit fra *større* Dyr ved en under antiseptiske Kauteler udført *Åreladning*, når man *lader det sprøjte umiddelbart ned i et sterilt Kar*; lader man det sprøjte ned i *flere Beholdere i mindre Portioner*, er der i hvert Fald stor Sandsynlighed for, at *nogle* af disse ville vise sig *absolut kimfri*.

Sikkrere er det under streng Antiseptik at *indlægge en Kanyle* og lede Blodet gennem sterilt Rør ned i Beholderen: Karret blottes, og to Ligaturtråde indføres under det; den ene Ligaturtråd — ved Venerne den nærmest Hjertet, ved Arterierne den fjernest fra Hjertet beliggende — knyttes omkring Karret i den ene Sårwinkel; i den modsatte Sårwinkel lukkes Karret derpå med en blød Klemmepincet; ved at trække i den knyttede Ligatur, løfter man det af Blod udspilede Karstykke lidt i Vejret, og klipper med en fin Sax en V-formet Åbning i Væggen; gennem denne indlægges den sterile Kanylen, som fastbindes i Karret ved den anden, endnu ej knyttede Ligaturtråd. — *Kanylen* må være befæstet til en Kautschukslange, der ved sin anden Ende bærer et 6—8 Ctm. langt Glasrør; det hele dampsteriliseres indsvøbt i Papir, som man lader forblive omkring Kautschuk- og Glasrør, indtil Kanylen er indlagt; når dette er sket, udpakkes hurtigt Slangen og Røret; dette sidste stikkes ned i en steril, vatlukket Glasflaske mellem Vatprop og Hals. Nu fjernes Klemmepincetten, og man lader Dyret forbløde sig.

I den seneste Tid har *Petruschky* taget større Mængder sterilt Blod fra Mennesker ved *Kopsætning*, udført med tørsteriliserede Kopper og Sneppert på den med Sæbe og Æther rensede Hud. Se herom Z. f. Hyg. XVII S. 64.

Ønsker man at få sterilt *defibrineret* Blod, anbringer man i Opsamlingsflasken, før den steriliseres, nogle store *Glasperler* og defibrinerer ved *Rystning*.

Hos *mindre Dyr*, som Kaniner, nødes man til for at få klækkelige Mængder Blod at indlæge Kanylen i en *større Arterie*, f. Ex. Carotis.

Operationstekniken ved Indlæggelse af Kanyler i Kaninens Carotis er følgende: Kaninen bedøves med Chloroform (s. S. 134). Huden på Halsens Forflade raseres og desinficeres ved Sæbebadskning og Sublimatvand, de

omliggende behårede Partier vædes med en svag desinficerende Opøsning; Huden i Egnen af Larynx løftes op i en Tværfold, som gennemskjæres således, at der i Medianlinien fås et tre Centimeter langt Sår, hvis øverste Ende ligger *nedenfor* cartilago thyreoidea, Huden forskydes til højre eller venstre; Fascien overrives med Pincetter, Sternocleidomastoideus trækkes tilside og løsnes fra Sternohyoideus ved Hjælp af en „Finder“ eller en Hulsonde; når man vedblivende med dette stumpe Instrument arbejder sig ned mellem Musklerne, ser man i Bunden af Såret det bekjendte af Carotis, Vagus, Depressor og Sympathicus dannede Bundt; Fascieskeden, der omhyller disse Organer, spaltes; Carotis, der præsenterer sig som en hvid, pulserende Stræng, isoleres ved Hjælp af Finderen, to Ligaturer føres ned under den o. s. v., som ovenfor beskrevet.

Mælk kan man efter en meget omhyggelig Rensning af Yverets og Vortens Overflade malke ned i et sterilt Reagensglas; man må dog være forberedt på, at en stor Del af de fyldte Glas blive inficerede.

Urin kan man undertiden erholde ursteril, når den tages med sterilt Katheder; man må da umiddelbart iforvejen have foretaget en meget energisk Desinfektion af Urethralmundingen og mange Gange i Træk have udsprøjtet Urethra med Borvand; men Fjernelsen og Tilintetgjørelsen af *alle* Kimene i Urinrøret er det ikke let at opnå på denne Måde.

Undertiden er der just særligt gunstig Lejlighed til at forskafe sig en stor Mængde steril Næringsvædske fra Levende: Ascitesvædske og andre *hydropiske Udsvedninger* kan man uden stor Vanskelighed opsamle i kimfri Tilstand; man benytter dertil den lille Southey'ske Troikar og opsamler Vædsken i en stor Glasflaske med dobbelt gjennemboret Kautschukprop, hvis ene Boring er lukket med Vat, medens der i den anden er anbragt et kort Glasrør, der ved en Kautschukslange er forbundet med Troikaren; denne er ligesom Flasken og Glasrøret iforvejen steriliseret ved 140°, medens Kautschukslange og -prop ere dampsteriliserede.

Reglerne for Tilberedning af *ursterile Infuser* ligge implicite i det Foregående: Oprindeligt kimfrit *Kjødvand* f. Ex. får man, når man under alle ovenfor beskrevne Forsigtighedsregler og med størst mulig Hurtighed udskjærer et Stykke Muskel af et nyligt dræbt Dyr og kaster det i steriliseret Vand.

Lettere er i Almindelighed Tilberedningen af *ursterile vegetabilske Infuser*, når man benytter større Plantedele som Rødder

og Knolde. Disses Overflade renses med Børste og Sublimatvand (smlg. S. 32—33); med en spids Kniv, der ophedes så stærkt i Flammen, at den hvisler ved hvert Snit, afskjæres hurtigt de perifere Dele, og af de således blottede centrale Afsnit udskjæres ligeledes hurtigt prismatiske Stykker, som kastes i sterilt Vand. Regler for hvert enkelt Tilfælde kunne ifølge Sagens Natur ej gives; ofte nødes man til at anvende en temmelig omstændelig forberedende Behandling af Substratet; et oplysende Exempel er i denne Henseende Tilberedningen af det ursterile Jequirityinfus, således som den er angivet af *Salomonsen* og *Christmas* (Hosp. Tid. 1884).

Man må altid være forberedt på, at et vist Antal af de oprindeligt kimfri Vædske og Infuser ere blevne tilfældigt forurensede under Tilberedningen; de må derfor aldrig tages i Brug, førend de i nogle Dage have henstået på Prøve i Thermostat ved c. 35° og have holdt sig fuldstændigt klare og uforandrede.

KAPITEL XII.

Desinfektionsforsøg.

Når man vil undersøge, om et Desinfektionsmiddel tilintetgjør dette eller hint Smitstof, er den naturligste Fremgangsmåde den, at udsætte *selve Smitstoffet* eller, hvis dette ej kjendes i ren Tilstand, Smitstoffet *med samt dets Bærer* for Midlets Indflydelse, og derefter indpode det på en passende Organisme.

Men de Vanskeligheder, der stille sig i Vejen for en sådan Prøvelse af Desinfektionsmidlernes Indvirkning på de forskellige Smitstoffer, ere iøjnefaldende: Ofte drejer det sig om Smitstoffer, for hvilke vore Forsøgsdyr slet ikke ere modtagelige, og selv når Indpodninger på Dyr lade sig udføre, ere slige Forsøg altfor omstændelige til under almindelige Forhold at kunne udføres efter en større Målestok. Derfor har man, længe førend man kunde rendyrke pathogene Bakterier — ledet af Ligheden mellem de infektiøse Sygdoms-

processer og Forrådnelses- eller Gjæringsprocessen — benyttet Forrådnelsesbakterier og andre Mikroorganismer som *Surrogater* for de egentlige Smitstoffer ved Undersøgelserne over de desinficerende Stoffers Virksomhed.

De senere Års Undersøgelser have naturligvis også medført store Omvæltninger på Desinfektionsforsøgenes Område: Ikke blot har Opdagelsen af talrige Smittebakterier i mange Tilfælde gjort det overflødigt for os at ty til Forrådnelsesbakterierne og drage Analogislutninger fra dem, men desuden har vor bedre Kjendskab til Bakteriernes Naturhistorie gjort det muligt for os at undgå en Mængde Fejl, som klæbe ved tidligere Undersøgelser og Resultater: Man véd nu til Dags, at en bevægelig Bakterie ikke har ophørt at leve, fordi dens Bevægelser standse, eller fordi dens gjæringsvækkende Virksomhed standser; man kjender de forskellige Bakterieformers overordentligt forskellige Modstandskraft, og véd altså, at man ikke fra tilfældige Bakterieblandingers Forhold uden videre kan drage Slutninger til *alle* Bakteriers og fra disse til *alle* Smitstoffers Forhold o. s. v. Som bekendt har særligt *Koch* og hans Elever (*Gaffky* og *Löffler*) fremhævet Nødvendigheden af ved slige Forsøg at anvende *Renkulturer* og at sondre mellem *sporeholdigt* og *sporefrit* Materiale. Men også ved Forsøgene fra denne forholdsvis nye Periode klæbede der talrige Fejl, som det først i de sidste Aar ved talrige Forskeres (*Heidenreich*, *Geppert*, *Behring* o. m. Fl.) ihærdige Arbejde er lykkedes at påvise og undgå.

Der vil nu i dette Kapitel søges givet

1) en Fremstilling af de almindelige Principer for den experimentelle Undersøgelse af et Desinfektionsmiddels Virkeevne og af den fælles Grundplan for alle slige Forsøg.

2) En Exemplifikation gennem en

a) Anvisning til Prøvelse af et kemisk Desinfektionsmiddel.

b) Anvisning til Prøvelse af en Desinfektionsovn.

Enhver vil da let kunne lægge sin Forsøgsplan for et hvilket som helst andet Desinfektionsmiddels Vedkommende ud fra disse almindelige Regler og særlige Exempler.

De Opgaver, der stilles Lægen på den experimentelle Desinfektionslæres Område, ere i Almindelighed følgende:

I. *Prøve et givet Desinfektionsmiddels Virkning på de forskellige Smitstoffer* — i den Hensigt at finde Desinfektionsmidler, der ere almindeligt anvendelige.

II. *Prøve en Række forskellige Desinfektionsmidlers Indvirkning på et givet Smitstof* — i den Hensigt at finde desinficerende *Specifica* for de enkelte Smitsoter.

III. *Prøve et givet Desinfektionsmiddels Brugbarhed ligeoverfor Smitstofferne under de ydre Forhold, under hvilke disse skulle rammes i „det virkelige Liv“* — med andre Ord prøve dets praktiske Anvendelighed.

I. Når man skal prøve et givet Desinfektionsmiddels Virkeevne, kan man passende begynde med

a) *en foreløbig orienterende Undersøgelse*, idet man

1) som Reagens benytter *Renkulturer* af vel kendte Mikrob-arter, — ikke Blandinger af ubekjendt Indhold.

2) Disse Renkulturer bør da omfatte Repræsentanter for de forskellige Grupper af Mikroorganismer, som spille en Rolle ved pathologiske og Gjæringsprocesser, altså *Skimmelsvampe*, *Gjærsvampe* og *Bakterier*.

3) Blandt de anvendte Bakterier må der atter findes Repræsentanter for de ikke sporedannende Former og for de mest resistente sporebærende *Baciller*. Når det ikke kommer an på nærmere at studere et bestemt Desinfektionsmiddels Indvirkning på de forskellige Mikroorganismer, og man kun vil vide, om det under de givne Forhold kan tilintetgjøre *alt organisk Liv*, altså tillige alle „*contagia animata*“, så kan man indskrænke sig til Brugen af *Bacillussporer alene*, navnlig af de i Jord forekommende Sporer (s. S. 164), da de ere de mest modstandskraftige af de hidindtil kjendte levende Væsner.

4) Hensigtsmæssigt er det som Reagenser at benytte Former, hvis *karakteristiske Udseende* gjør det let at gjenkjende dem ved den simple makroskopiske Undersøgelse; i den Henseende ere navnlig de *farvede* Former at anbefale, såsom den sorte *Aspergillus niger*, den *lyserøde* *Rosagjær*, den *blodfarvede* *Micrococcus prodigiosus* og andre mere eller mindre let kjendelige, pigmentdannende Former.

Men derpå må man

5) prøve hver enkelt pathogen Art for sig, en efter en, thi Erfaringen har lært, at de forskellige Arter ingenlunde påvirkes lige stærkt af de forskellige antiseptiske Gifte. Vel kjendte Exempler på sådanne specifikke Forskjelligheder ere Tyfusbacillens og nærstående Bacillusarters Modstandskraft mod Karbolsyren, — et Forhold, der efter *Chantemesse & Vidal* kan lette deres Eftervisning i Bakterieblandinger (smlg. S. 86). — På den anden Side kan man træffe Stoffer, der virke giftigt på ganske enkelte Bakteriearter, medens de ere uvirksomme ligeoverfor de øvrige; et Exempel herpå er *Jodoformen*, på hvis antibakterielle Virkning man trode blindt før *Rovsings & Heyns* bekjendte Forsøg. Men medens *Jodoformen* ikke virker dræbende på Hovedmassen af Bakterierne, og f. Ex. hverken udenfor eller indenfor den dyriske Organisme formår at tilintetgjøre *Microc. pyogenes aureus*, *Tuberkelbacillen* (*Rovsing*) og en Mængde andre pathogene Former, — virker den derimod overordentlig giftigt på *Koleraspirillen* (*Buchner*).

II. Ved Prøvelsen af et

Desinfektionsmiddels Indvirkning på en bestemt Mikrob

er Fremgangsmåden i sine groveste Træk følgende:

- 1) Mikroben udsættes for Desinfektionsmidlets Indvirkning.
- 2) Desinfektionsmidlet fjernes fuldstændigt fra Mikroben.
- 3) Mikroben sås (indpodes) under de for dens Udvikling gunstigst mulige Betingelser.
- 4) Samtidigt udsås (og indpodes) udesinficerede Kontrolprøver af Kulturen.

5) Såningens (Podningens) Resultater — særligt med Hensyn til *Væxt eller Ikke-Væxt* (*Anslag eller Ikke-Anslag*) iagttages.

Med Hensyn til dette Programs enkelte Punkter er nu følgende at bemærke:

ad 1. Renkulturerne kunne komme til Anvendelse i forskjellig Form og Tilberedning og da navnlig enten *opslemmede i en Vædske* eller *indtørrede på et fast Legeme*.

Fordelene ved den første Fremgangsmåde ere — som *Behring* med Rette fremhæver — navnlig tre: De kemiske Desinfektionsmidler nå hurtigt og sikkert ind til Mikroberne,

Tørringens Indflydelse udelukkes; Undersøgelse af Virkningen i *albuminholdige* Vædske muliggøres — og det er just i sådanne, at vi ofte skulle ramme og tilintetgjøre Smittemikroberne. — På den anden Side ere disse, når de ere indtørrede på et fast Legeme, lettere at *opbevare, transportere og anbringe*.

A. Opslemnings-Præparater.

Bakterierne kunne naturligvis benyttes opslemmede i selve den Vædske, i hvilken de ere dyrkede; dog er det langt bedre såvidt muligt at undgå Tilblanding af de på ubekjendt Måde forandrede Næringssubstrater og opslemme i Vand, $\frac{1}{2}$ pCt. Kogsalt-Opløsning, Bouillon, fortyndet Blodserum o. s. v. Hvilken Vædske man vælger, må nøjagtigt angives i Forsøgsprotokollerne, da Opslemningsvædskens Art kan have stor Indflydelse på Forsøgsresultatet.

Ved *Tilberedelsen* af Opslemningerne gjælder det i første Linie om at få en *ligelig Fordeling* af Mikroberne: *Ingen for det blotte Øje synlige Klumper eller Fnug må findes i dem*. Bedst opnås dette ved først grundigt at *gnide* de større Kulturpartikler *ud* i Vædsken med en steril Glasstang, så længe og kraftigt at *ryste* Blandingen og endelig (*Geppert*) at *filtrere gennem Glasuld*, eller gennem en meget *fin, udglødet Metalsigte*. Glasulden kan let anbringes i en lille Glastragt, der atter ved en Vatkrands fixeres i Munden af et Reagensglas; det hele tørsteriliseres, og Filtringen kan nu, når Tragten dækkes med lidt Papir, foregå uden Fare for Infektion. Det må bemærkes, at også Opløsningens *Tæthed* har Indflydelse på Desinfektionsresultatet; om fornødent, kan man jo ved Pladespredninger skaffe sig Oplysning om Kimenes Antal i Kubikcentimeteren.

B. Tørrings-Præparater

får man ved at væde eller imbibere faste Legemer med en på ovennævnte Måde tilberedt Bakterie-Opslemning.

Den tidligere ofte anvendte *Indgnidning* af Kulturerne bør undgås, da man på denne Måde får Lag af forskjellig og uberegnelig Tykkelse.

Som Vehikler kunne benyttes:

a. Filtrerpapir. Små Stykker ved 150° steriliseret Filtrerpapir dyppes i Bakterie-Opslemningen; når de ere fuldstændigt imbiberede, henlægges de hurtigt til Lufttørring i en flad, steriliseret Glastallerken, der i Stedet for at dækkes med Låg svøbes i et dobbelt Lag Filtrerpapir, der forhindrer Tilstøvning af Præparaterne samtidigt med, at det tillader en tilstrækkelig livlig Fordampning, så at Tørringen hurtigt kan blive fuldstændig. Papiret klippes dernæst i mindre, ligestore Stykker, der opbevares i sterile, vatlukkede Reagensglas, indtil de skulle bruges.

β. Silkestråd. Hvid, tynd Silkestråd klippes i 8—10 Mm. lange Stykker, som affedtes i Æther og steriliseres ved 150° i vatlukkede Reagensglas; de lægges i Bakterie-Opslemningen, rystes omkring i denne og tages efter et Kvarters Forløb op for at lægges — vel adskilte fra hverandre — til Tørring på en Glastallerken, dækkede mod Støv ved Filtrerpapir.

Ved Undersøgelsen af *kemiske* Desinfektionsmidler synes i den senere Tid de nævnte *porøse* Vehikler for Prøvebakterierne med rette at skulle fortrænges af et nyt:

δ. små Dækglas eller Dækglas-Stykker (Geppert, Spirig, Chamberland), der vel ej ere så lette at tilberede og håndtere som Papirsstrimlerne og Silkestrådene, men som på Grund af deres Uigjennemtrængelighed i høj Grad lette Tilvejebringelsen af *ensartede* Desinfektionsobjekter samt af en fuldstændig *Udvadskning*. Ganske små Dækglas eller ligestore Dækglasstykker renses og affedtes omhyggeligt (s. S. 190), lægges Side om Side på Bunden af et Glastallerkenpar og tørsteriliseres. Ved Hjælp af en Pasteurs Pipette anbringes på dem såvidt muligt ligestore Dråber af Bakterie-Opslemningen; om fornødent, udbredes de over hele Dækglasfladen ved Hjælp af en Platinøsken. Derpå henstilles til Lufttørring under Filtrerpapir.

To af de Bacillusformer, hvis Sporer i Almindelighed benyttes ved Prøvelsen af *Desinfektionsmidler*, ere Miltbrands- og Høbacillen (B. subtilis).

Miltbrandsbacillen. Vil man sikre sig en livlig Sporedannelse i Kulturer af B. anthracis, må man så dem på *Overfladen af en Næringsagar* (f. Ex. i et Reagensglas med skråtstillet K. P. A.) og lade dem stå en Uges Tid eller længere i Thermostat ved 30—37°; når man ved mikro-

skopisk Undersøgelse har overbevist sig om, at *fuldtudviklede, normalt formede* Sporer ere til Stede i *rigelig* Mængde, og at Trådene begynde at svinde bort, afskrabes med en Platinøsken Overfladekulturen så fuldstændigt som muligt og opslemmes efter de ovenfor givne Regler i sterilt Vand.

Høbaciller er man altid sikker på at få til at sætte Sporer i flydende Næringssubstrat f. Ex. Bouillon; man sår dem i en konisk Kogeflaske, der indeholder et to Ctm. højt Lag Bouillon og henstiller dem ved 30—37°; et å to Døgn senere har der dannet sig en stiv, sporeholdig Hinde på den plumrede Bouillons Overflade; efter nogen Tids Forløb er Vædsken „udtømt“ og klarer sig atter, medens Sporerne synke tilbunds som et hvidt Pulver; man afhælder nu den ovenstående Vædske og tilbereder af Sporebundfaldet en Opslemning efter de ovenfor givne Regler.

Ønsker man Sporer, der ere *endnu mere sejglivede* end de to nævnte Arters, kan man få dem fra

δ. *Havejord*; denne er — efter Kochs Råd — hyppigt bleven anvendt som bakteriologisk Reagens, skjøndt man i så Fald fraviger den Regel kun at bruge *Renkulturer*; heri ligger en af de mange og store Ulemper ved Havejordens Anvendelse. De forskellige Jordprøver indeholde forskellige Bacillus-former; man kan altså ikke fra de med én Prøve indvundne Resultater drage Slutninger til en anden; på den anden Side frembyder Jorden den Fordel, at den så let kan skaffes til Veje og overalt. — Den kan benyttes som

* *Jordpulver*: Almindelig Havejord lufttørres, bearbejdes noget i en Riveskål, sigtes gennem en fin Metalsi (s. S. 96) og opbevares i en vatlukket Krukke. Tilberedelsen af Jordpulveret må helst foretages *udenfor* Laboratoriet, hvis Luft ellers let inficeres for stærkt med de sejglivede Bacillussporer.

** *Jordvand (Chamberland)*: Havejord omrøres med en Stang i almindeligt Vand; efter nogen Henstand vil næsten al Jorden have bundfældet sig, hvorpå det ovenstående, mikrob-rige „Jordvand“ dekanteres og eventuelt filtreres gennem Glasuld.

Naturligvis kan man også skaffe sig

*** *Renkulturer af de mest sejglivede Jordbaciller* ved at opslemme en større Mængde Jord i neutral Bouillon, koge den i $\frac{1}{2}$ —1 Time, henstille nogle Dage ved 37°, indtil der er en livlig Forrådnelse i Gang, og derpå sprede i Agar. (Man kan dog ikke være sikker på, at disse Renkulturer ere fuldt så sejglivede som Modersporerne i Jorden).

«. *Skimmelsporer* præpareres bedst på følgende Måde: Svampen sås i en lille Glasæske (Fig. 18) på Ølurt; når den har bredet sig over hele Overfladen og har sat Sporer, kan hele Kulturen fjernes som en sammenhængende Masse; den lægges nu ovenpå et Stykke Fitrerpapir, i hvilket den løseligt indpakkes (for at Sporerne ikke skulle støve omkring), tørres og klippes umiddelbart før Brugen i små Stykker. Også Præparationen af Skimmelkulturerne må helst foretages *udenfor* Laboratoriet.

Det må erindres, at de omtalte Reagenser ikke holde sig uforandrede i ubegrændset Tid: Gamle, indtørrede Sporer ere mere resistente end friske; på den anden Side kunne Kulturernes Modstandskraft svækkes ved længere Opbevaring i tørret Tilstand.

Når vi nu have udsat Mikroben for Desinfektionsmidlet og undersøgt, om det overhovedet formår at dræbe den, så gjælder det om at *måle* Midlets *desinficerende Evne*, og for at opnå dette må vi *variere* dets *Styrkegrad* og *Desinfektionstiden*, idet vi da måle Desinfektionsevnen enten ved *den Tid*, som et Desinfektionsmiddel af en bestemt Styrkegrad behøver for at dræbe Mikroben, eller ved *den Styrkegrad*, i hvilken et Desinfektionsmiddel skal anvendes for i Løbet af en *vis* given Tid at dræbe Mikroben, medens samtidigt *alle andre Forsøgs-Betingelser* ere uforandrede.

Allerede ovenfor er det fremhævet, at *Opslemningsvædsken*s Natur og *Antallet* af de anvendte Kim kunne have betydelig Indflydelse på Forsøgsresultatet; en meget væsentlig Rolle spiller også den *Temperatur*, ved hvilken Desinfektionen foretages; at Hensyn også ma tages til *Raceforskjel* mellem de anvendte Mikrober og til disses *Forhistorie*, vil nedenfor blive omtalt, men desuden kunne en Mængde andre tilsyneladende måske uvæsentlige Biomstændigheder få Betydning, og man bør derfor ved slige sammenlignende Forsøg nøje agte på Betingelsernes Ensartethed.

ad 2. Den fuldstændige Fjernelse af Desinfektionsmidlet frembyder egentlig kun Vanskeligheder, når Talen er om *kemisk* Desinfektion, og da navnlig, når Prøvebakterierne anvendes *opslemmede* eller indtørrede på *porøse* Legemer, især på Trådstykker. Man havde vel strax Opmærksomheden henvendt på Nødvendigheden af en omhyggelig Udvadskning af disse Desinfektions-Objekter, og man mente at nå Målet

ved gentagne Gange at afskylle dem i sterilt Vand og trykke dem mellem sterilt Filtrérpapir, men det blev navnlig ved Gepperts Undersøgelser klart, hvor ufuldkommen en slig Udvaskning var, og til hvilke vildledende Resultater dette havde ført f. Ex. for Sublimatdesinfektionens Vedkommende. De Veje, man er gået for at råde Bod herpå, ere:

α. Anvendelsen af glatte og uigjennemtrængelige Vehikler for Prøvebakterierne: *Dækglas*.

β. Tilsætning af Stoffer, ved hvilke Desinfektionsmidlet overføres i en *ikke giftig* Forbindelse (*Geppert*) f. Ex. Tilsætning af Svovlammonium til Sublimat, af Ammoniak til Klorvand.

Dette lader sig jo imidlertid ikke altid gjøre, og i slige Tilfælde må man for *Dækglassenes* Vedkommende indskrænke sig til omhyggelig Afskylning, — for *Opslemningernes* Vedkommende

γ. anvende en i Forhold til den udsæede Dråbe *stor* Mængde Næringssubstrat, så at den ringe Mængde af Desinfektionsmidlet, der overføres sammen med Udsæden, bliver *enormt fortyndet*. Da imidlertid erfaringsmæssigt minimale Giftmængder undertiden virke udviklingshæmmende, må man ikke, selv når Fortyndingen er meget stærk, føle sig betrygget mod Indvirkning fra det tilblandede Desinfektionsmiddels Side, og man må for at være sikker i sin Sag ved

δ. *en lille særlig Række Kontrolforsøg* overbevise sig om de tilblandede Giftmængders Uskadelighed, idet man i nogle Kulturglas udsår *både* lidt af de i sterilt Vand opslemmede Kontrolbakterier og en eller flere Øskener af den *sterile* Desinfektionsblanding, der prøves; Væksten i disse Glas kan da sammenlignes med Væksten i den anden Række Kontrolkulturer (s. 4) S. 161, smlg. ad 4. S. 169), ved hvilke der *slet ingen* Tilblanding af Desinfektionsvædske har fundet Sted.

Den for nylig af *Schäfer* foreslåede

ε. delvise Fjernelse af Desinfektionsvædsken ved *Centrifugering* vil på Grund af sin Omstændelighed neppe få praktisk Betydning.

Ved *Podningsforsøg* spille de små Rester af Desinfektions-

midlet, der klæbe ved Bakterierne, ikke så stor en Rolle, da de resorberes af Vævene og således ej komme til at hindre Anslaget.

ad 3. For Betydningen af dette Punkt — at Mikrobernes Spireevne bør undersøges under de for Spiringen gunstigst mulige Betingelser — har man først lidt efter lidt fået Øjnene op. Man har ved tidligere Undersøgelser ikke sjældent fundet Desinfektionsevnen større, end den i Virkeligheden er, når man fra „ingen Væxt“ har ment at kunne slutte til „Død“. En af Grundene hertil har været den ovenfor omtalte: *Væxthæmmende Rester af Desinfektionsmidlet have klæbet ved Udsæden*. Men desuden må man regne med Muligheden af en ved Desinfektionsmidlet fremkaldt Sygdomstilstand hos Mikroben, der gjør det umuligt for den at udvikle sig uden under ganske særligt gunstige Betingelser, hvad Næringssubstrat og Varmegrad angår; en Miltbrandskultur, der har været behandlet med et Desinfektionsmiddel, kan måske ikke spire i K. P. Gelatine ved Stuetemperatur, men voxer livligt ud i Bouillon ved 37°. Altså: man må, når Spørgsmålet er om „Liv“ eller „Død“, såvidt muligt byde Mikroben Temperatur- og Nærings-Optimum.

ad 4. skal kun fremhæves, at man naturligvis bør lade Kontrolkulturerne gennemgå ganske samme Behandling som de andre — med Undtagelse af Udsættelsen for Desinfektionsmidlet; — de må altså behandles med en eventuel Udfældningsvædske, afskylles, tørres mellem Filtrepapir o. s. v.

ad 5. Det må vel mærkes, at Resultaterne af Såning og Podning ingenlunde altid dække hinanden: Man får undertiden Væxt fra Kulturer, som ikke give Anslag ved Tørring, og omvendt ser man undertiden Forsøgsdyrene dø efter Indpodning af Kulturer, der have mistet Evnen til at spire på vore Næringssubstrater. Iøvrigt henvises til det følgende Afsnit S. 174—176.

Det er tidligere omtalt, at man ikke må slutte fra et Desinfektionsmiddels Forhold ligeoverfor en Mikrob til dets Forhold ligeoverfor en anden, men man må gå endnu videre i sin Varsomhed; også forskellige Racer af samme Art kan

have meget forskjellig Modstandskraft ligeoverfor samme Desinfektionsmiddel, således som *Esmarch* først har vist det for Miltbrandssporer, der stamme fra forskjellige Kulturer, og endvidere kan — alt iøvrigt lige — Prøve-Mikrobens *Forhistorie* (hvori voxet — hvor gammel — indtørret eller ej o. s. v.) indvirke stærkt på dens Modstandskraft.

Når vi ved slige Forsøg have overbevist os om, at dette eller hint Desinfektionsmiddel virkelig hurtigt og sikkert dræber denne eller hin Smitte-Mikrob, så er dermed Midlets Brugbarhed i Praxis lige over for dette Smitstof ingenlunde givet. Førend vi kunne anbefale et Middel, må vi først og fremmest vide, om det foruden at tilintetgjøre Smitstofferne på vore Silkestråde, Papirstrimler og Dækglass tillige kan ramme dem under de Forhold, i hvilke de forekomme i Naturen, på Vægge og Møbler, i Klædningsstykker, i Exkrementer, i Expektorat o. s. v. Det kraftigste Desinfektionsmiddels Virksomhed kan her blive neutraliseret*) ved kemiske Omsætninger, der omdanne det til en uvirksom Forbindelse, eller ved de smittebærende Stoffers Uigjennemtrængelighed (derfor er f. Ex. Sublimatvand uanvendeligt til Desinfektion af Klosetter og ftisisk Opspyt). Hvorledes man skal gå frem for at få dette Spørgsmål besvaret, ligger implicate i det foregående. *Enten* udsætter man selve de smitteførende Exkrementer, Opspyt, Klædningsstykker for Desinfektionsmidlet og foretager derpå Indpodningsforsøg (f. Ex. indpoder det sublimat- eller karbol-behandlede tuberkuløse Expektorat på Marsvin; giver sunde Mennesker de ved Varme eller Kemikalier desinficerede Klædningsstykker at bære), eller man benytter de ovenfor nævnte Mikroorganismer som Reagenser, blander dem omhyggeligt med Exkrementerne eller Expektoratet, lægger dem i Klædningsstykkernes Lommer eller indenfor Foret, smører dem på Gulvbrædder eller Vægge, foretager så Desinfektionen og

*) På den anden Side kunne Smitstofferne naturligvis også i Naturen forekomme under Forhold, der ere *gunstigere* for deres Tilintetgørelse ved et givet Desinfektionsmiddel end Tilfældet er, når de i deres Renhed udsættes for dets Indvirkning.

prøver på sædvanlig Måde, om Mikroberne have mistet deres Spireevne.

Endelig står det tilbage at besvare en hel Række Spørgsmål, som ere af *klinisk, teknisk og anden Natur*, og som ligge helt udenfor dette Arbejdes Område: Spørgsmålene om Midlets *Farlighed* for Sundheden, om dets Indflydelse på de Brugs-gjenstande, der skulle desinficeres (om det gjør dem skjøre, affarver dem o. s. v.), om dets Indvirkning på Sanserne (Stank), dets Dyrhed o. s. v. — og *da først* ere Forudsætningerne givne for en Dom om Midlets Brugbarhed i Praxis.

De her angivne Regler må man holde sig for Øje under alle Desinfektionsforsøg, hvad enten man prøver de høje Varmegraders, Sollysets (*Duclaux*), Lydsvingningernes, Elektricitetens, Vædskers eller Gasarters kindræbende Virkning. Men Tekniken må selvfølgelig for hvert enkelt Tilfælde modificeres i sine Enkeltheder på en hensigtsmæssig Måde.

1. Undersøgelse af en Vædskes desinficerende Evne.

A. Med Benyttelse af opslemmede Renkulturer.

En Del f. Ex. *tre* steriliserede, vatlukkede Reagensglas (eller Småflasker) fyldes med *ligestore Mængder* af *forskjelligt stærke* Opløsninger af det Stof, hvis Desinfektionsevne skal prøves.

En lige så stor Mængde Vand fyldes på et fjerde Reagensglas.

Alle Glassene steriliseres og etiketteres.

Af den Bakteriekultur, der skal benyttes som Prøvemiddel, tilberedes en jevn Opslemning efter de S. 162 givne Regler. Opslemningsvædsken angives. Af den vel rystede Opslemning tilsættes ved Hjælp af *samme* sterile Pasteur-Pipette det *samme* Antal Dråber til hvert af de fire Reagensglas, i hvilke de fordeles omhyggeligt ved *Rystning*; Tilblandingstiden noteres på Etiketten.

Med passende Mellemrum (Tiden angives hver Gang nøjagtigt på Etiketten) sår man nu med *samme Platinøsken* det samme Antal Øskener fulde fra hvert af de vel rystede, fire Reagensglas over i Kulturapparater, som indeholde mindst 10—20 Ccm. *Bouillon* eller *Nærings-Agar* med stor, skråtstillet Overflade; henover denne kan man eventuelt ved Hjælp af Fortætningsvandet fordele de udsæede Kim; naturligvis kan man også i Agaren foretage regelrette Spredninger af de udsæede Kim.

Har man f. Ex. fra hvert af de fire Glas såt tre Gange til tre forskellige Tider, får man i Alt tre Kontrolforsøg og *ni* Desinfektionsforsøg,

af hvilke sidste man eventuelt kan få Oplysninger om Midlets Virkeevne; disse kunne da atter tjene til Vejledning ved Ordningen af en ny Forsøgsrække, der holdes indenfor mindre vide Grændser såvel hvad Indvirkningstid som Opløsningernes Styrkegrad angår o. s. fr.

Når man således har fået nøjagtige Oplysninger om, efter hvilken Tids Forløb en Opløsning af den og den Styrke har dræbt den anvendte Prøvebakterie i den givne Opslemningsvædske — så kan man ved en ny Række Kontrolforsøg med Tilsætning af nogle få Øskener Desinfektionsopløsning til Kultursubstraterne overbevise sig om, at de ved Hovedforsøgene samtidigt med Såningen overførte små Giftmængder*) have været uden Betydning for Resultatet. — De tilsåede Glas henstilles i Thermostat ved 37°, iagttages daglig i Løbet af en Ugestid og derefter endnu en halv Snes Dage med længere Mellemrum.

Endelig kan man ved Podningsforsøg på Dyr undersøge de med Desinfektionsmidlet behandlede Bakteriers Forhold ligeoverfor modtagelige Forsøgsdyr (om de i Kulturkolberne ikke spirende Kulturer heller ikke slå an på Dyrene; om de, der have overlevet Desinfektionen, have mistet deres Virulents o. s. fr.).

B. Med Benyttelse af indtørrede Renkulturer.

På en Del ganske små, tørsteriliserede Dækglass indtørres i tynde Lag en efter Kunstens Regler (S. 162) tilberedt Opslemning af f. Ex. Miltbrandssporer.

Forskjelligt stærke Opløsninger af Desinfektionsmidlet f. Ex. Sublimat fordeles i ligestore Mængder på vatlukkede Beholdere, der ere tilstrækkeligt vide og lave til at man let med en Pincet kan nå ned til Bunden i dem og tage Dæglassene op.

En lignende, vatlukket Beholder fyldes med almindeligt Vand. Alle Beholdere med samt deres Indhold steriliseres. Have vi tre forskjelligt stærke Sublimatopløsninger og anbringe vi i hver af disse såvel som i Vandet tre Dæglas, kunne vi anstille i Alt tre Kontrolforsøg og ni Desinfektionsforsøg. Hertil bruge vi 12 Bouillonglas og eventuelt 12 andre Kulturapparater f. Ex. små Glasæsker (Fig. 18) med K. P. Agar.

Endvidere en Sprøjteflaske med steril Svovlammoniumopløsning (1:3), med hvilken man kan overhælde Dæglassene, når de tages op af Sublimatet (også Kontrol-dæglassene!), dernæst 12 små Glasæsker med sterilt Vand, hvori man atter kan afskylle de forskjellige Dæglas, førend de, efter Svovlammonium-Behandlingen, udsås i Bouillon. Iøvrigt er Fremgangsmåden ganske som under A beskrevet.

Disse to Exempler kunne tjene som Vejledning ved denne Art Desinfektionsforsøg.

*) Hvis det i det givne Tilfælde lader sig gjøre, kan man før Fra-såningen fjerne eller neutralisere Giften ad kemisk Vej, men i saa Fald må man naturligvis have en særlig Beholder for hver Ud-såning, altså i dette Tilfælde 9 i Stedet for 3.

2. Prøvelse af en Desinfektionsovn.

Man benytter hertil:

a. Et Udvalg af sådanne Gjenstande, til hvis Desinfektion Ovnen er bestemt, som Regel altså *Seng- og Gangklæder*.

β. *Thermometre*. Som oftest kan man nøjes med nogle få *Maximums-thermometre*, som for ikke at tage Skade under Forsøgene anbringes i Metal- eller *Træhylstre*; de sidste må være forsynede med tætstillede Huller (se Fig. 85 øverst), for at de ej skulle hindre Varmens Indtrængen.

Vil man desuden skaffe sig Oplysning om, *når en vis Temperatur, f. Ex. 100° er nået* på et bestemt Punkt i Ovnen, anvender man et *elektrisk Kontaktthermometer* (se Fig. 84) *o:* et Thermometer, i hvis Rør der er indsmeltet to Stykker Platintråd; den ene Tråd (*p*₁) rager ind i Kuglens Kvægsølv, den anden (*p*) er således anbragt, at den berøres af Kviksølv søjlen i det Øjeblik, Kogepunktet nås; Thermometret kan ved Hjælp af Skruerne *s* og *s*₁ fastgøres til Ledningstråde, som føres ud gennem Ovnens Dør, og kan således indskydes i en elektrisk Ledning sammen med et Klokkeapparat, der giver Lyd, såsnart Strømmen sluttes.

Mindre nøjagtige ere de små *Pyrometre*, der give elektrisk Klokkesignal, når en i dem anbragt *Metallegering smelter* (R. Figuren S. 26).

*) Det må i denne Sammenhæng fremhæves, at man ikke gennem *Temperaturmåling alene* kan skaffe sig Oplysning om en Damp-Desinfektionsovns Virkeevne. Thermometret giver os nemlig ingen Oplysning om, hvorvidt der på det undersøgte Sted i Ovnen virkelig findes *mattede Vanddampe* af den nævnte Temperatur eller måske kun en *Blanding af Luft og Vanddamp* (smlg. S. 10 Brugen af Autoklave). Om det virkelig er lykkedes — således som man tilsiger — at presse *mattede Vanddampe* af høj Temperatur ind i Dybden af Desinfektionsobjekterne, kan kun med Sikkerhed og Nøjagtighed afgøres ved samtidig *thermometrisk og manometrisk* Undersøgelse og ved en Godtgjørelse af, at Thermometret viser den til det forhåndenværende Tryk svarende Temperatur, — altså f. Ex. ved et Overtryk af 0,2 Atmosfærer 104,2°, af 1 Atmosfære 119,6° o. s. fr. — Man har forresten i de senere År søgt at nå til omtrentlige, men brugbare Oplysninger om Forholdet mellem Dampenes Temperatur og Fugtighedsgrad under Desinfektionen ad anden Vej: *Duncker* har nemlig med dette Formål for Øje konstrueret en *Dampfugtighedsmåler*. Han tog sit Udgangspunkt i følgende Iagttagelse: De blivende *Formforandringer*, som et Stykke Tarmstræng undergår, når det påvirkes af *hede Vanddampe, indtræde altid tilnærmelsesvis ved samme Damptemperatur*, — og han benyttede Tarmstrængens Snoning til at slutte og åbne en elektrisk Strøm og derved give en Række Klokkesignaler. Dampfugtighedsmåleren anbringes nu sammen med et elektrisk Kontaktthermometer i Dybden af Desinfektionsobjektet, og af den Orden, i hvilken de

γ. *Bakterieprøver.* Hovedreagenserne ere: Sejglivede Bacillussporer (såsom Sporer af *Bacillus anthracis*, *B. subtilis* og visse „Jordbaciller“*), indtørrede på Silkestråde eller Filtrepapirsstrimler; disse anbringes atter i Filtrepapir, der er foldet ligesom Apothekernes *Pulver-Poser* og steriliseret ved 150°. Om Tilvejebringelsen af de sporeholdige Kulturer og Tilberedelsen af Silkestrådene se ovenf. S. 163—165. Poserne mærkes og nummereres med *Blyant*. Poser med de forskellige Sporeformer samles nu i små Filtrepapirspakker, som atter eventuelt kunne fastbindes til et Thermometer.



Fig. 84.
Elektrisk
Thermo-
meter.

Når alle Prøvemidler haves i Beredskab, foretages

δ. *Pakningen* af Ovnen. Indholdet lejr naturligtvis ganske således, som man ønsker at lægge det under den daglige Brug af Ovnen. Før og under Pakningen blive

ε. *Thermometre og Bakterieprøver fordelt i Ovnen.* De må lægges ikke blot mellem — altså *uden på* — Seng- og Gangklæderne, men også *inden i* dem, på Steder, hvor Smitstofferne godt kunne findes, men Varmen kun vanskeligt trænger ind. F. Ex.: Man opsprætter Madratser og Puder på et lille Stykke og borer Thermometre og Bakterier ind i deres Halm, Krølhår, Tang, Fjer o. s. v., hvorefter Hullet omhyggeligt lukkes ved Syning eller Sikkerhedsnåle, — man *ruller et eller flere* Uldtæpper tæt op om Thermometre og Bakterier o. s. fr.; bedst er det, når man skal anstille *sammenlignende* Forsøg med flere Ovnmodeller, da altid at anvende de samme, til dette Formål afskårne og afmålte Uldtæppe-Stykker, der på samme Måde og i samme Antal Vindinger oprulles om Thermometrene. Får man under slige Forhold Bakterierne dræbte, så er det a fortiori bevist, at man får samme gunstige Resultat med den *løse* Pakning, som man kan lade anvende under Ovnens daglige Drift. Man passe, at Reagenserne *ikke alle ophobes* i Nærheden af hverandre, men anbringes mere spredte i Ovnen.

Når Pakningen er til Ende, gør man rettest i at

ζ. tage et skematisk Rids af Ovnens Indhold (se Fig. 85) for senere deri at kunne indskrive de iagttagne Temperaturer og Væxtforhold (se ndf.); således får man et fortrinligt Overblik over Forsøgs-Gjenstandene.

forskjellige Klokkesignaler følge på hverandre, får man Oplysning om Forholdet mellem Varmegradens Stigen og Dampens Indtrængen. Angående Enkelthederne henvises til *Dunckers* Afhandling i *Deutsche Medicinal-Zeitung* 1892. Nr. 85—91.

*) Jordpulver (se ovf. S. 164), der tidligere benyttedes meget ved slige Forsøg, undgår man helst, da det er mindre handleligt; vil man benytte de i Jorden værende Sporer som Reagenser uden forudgående Rendyrkning, kan man *indtørre Jordvand* (se S. 164) på Silkestråd.

7. Når Desinfektionen er endt, noterer man så nøjagtigt som muligt Opfyrringstid, Kulforbrug o. a. l.; udpakker Gjenstandene, undersøger deres Udseende, Fugtighedsgrad, Skjørhedsgrad o. s. v. og aflæser Thermometrene. Bakterieprøverne indpakkes i Papir og kunne nu uden at forurenses transporteres til Laboratoriet, hvor

8. *Såningen foretages* efter de ovenfor givne Regler, bedst i vat-lukkede Reagensglas med Bouillon og K. P. A., som henstilles i Thermostat ved 35° C., hvor de iagttages i *længere Tid* — Miltbrands- og Høbaciller f. Ex. mindst en Uge — af Hensyn til en ved Varme-Indvirkningen muligvis fremkaldt forandret Væxthastighed. Man noterer ikke

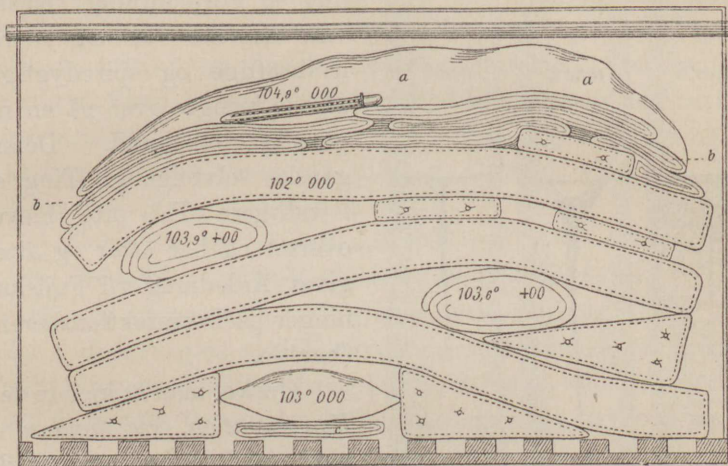


Fig. 85.

Rids af en pakket Desinfektionsovn med deri optegnede Forsøgsresultater.

blot, om der er *Væxt* eller *Ikke-Væxt*, men også, om der er nogen *Forsinkelse* af Udviklingen, og hvis man har foretaget *Spredningskulturer*, *Kimenes Antal*.

11. *Registreringen af Forsøgenes endelige Resultat* sker på den mest hensigtsmæssige Måde, når man indskriver de thermometriske og bakteriologiske Iagttagelser i det ovennævnte skematiske Rids af Ovnens Indhold. På Fig. 85 er + = Væxt, 0 = Ikke-Væxt, og Bakteriernes *Art* betegnes ved den *Plads*, på hvilken Mærkerne stå, idet de altid angives i samme Rækkefølge, nemlig Jord-, Hø- og Miltbrandsbaciller, altså f. Ex.: Inde i den øverste Madrats nåde Temperaturen 102° , og alle tre Bakteriearter blev dræbte, medens Jordbacillerne overlevede Desinfektionen inde i de sammenrullede Uldtæpper, hvor Varmen nåde op til mellem 103° og 104° o. s. v.

Som ovenfor fremhævet bør man vel vogte sig for at forvexle et Desinfektionsmiddels Ævne til at *hæmme eller umuliggjøre Bakteriernes Væxt* med dets Ævne til at *dræbe dem*. Fordi et Stof, når det tilsættes i en vis Mængde til en let rådende Vædske, forhindrer, at denne går i Forrådnelse, behøver den ingenlunde at have dræbt de Bakteriekim, der findes

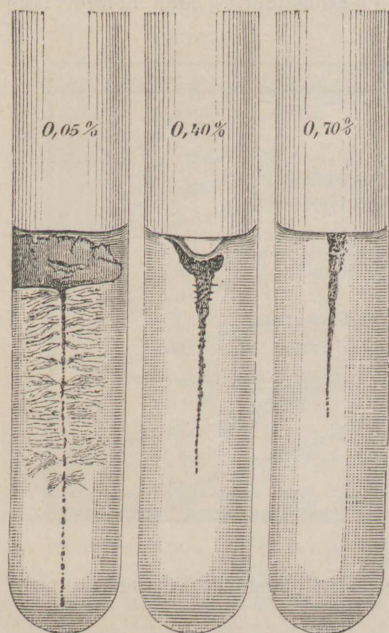


Fig. 86.

Tre, syv Dage gamle Kulturer af Miltbrandsbaciller; såede i Kjødvands-peptongelatine med Tilsætning af henholdsvis 0,05, 0,40 og 0,70 pCt. Karbolsyre.

i Vædsken; måske har den kun umuliggjort deres Udvikling og Forplantning; måske ville Kimene vise sig yderst livskraftige og spiredygtige, når de bringes over på en ny gunstig Jordbund. Denne ganske selvfølgelige Ting er i tidligere Tid ofte blevet overset og har atter og atter givet Anledning til Fejlslutninger på Desinfektionslærens Område.

Ønsker man at kjende den *Koncentration, ved hvilken et givet Stof begynder at virke kjendeligt hæmmende* på de forskellige Mikroorganismers Væxt — og den Koncentration, ved hvilken det *helt umuliggjør deres Væxt*, da er Fremgangsmåden følgende:

Et passende Antal Kulturglas fyldes med Nærings-substrater — faste og flydende

— der afgive en god Jordbund for de til Forsøgene benyttede Organismer; nogle af disse Glas lades urørte og bruges som Kontrolglas, til Resten sættes større eller mindre Mængder af det Stof, hvis Virkning skal undersøges, så at man får en *hel Skala af forskellige Koncentrationer*. Ved de indledende og orienterende Forsøg indretter man sig bedst således, at man fylder Reagensglassene med nøjagtigt lige store Mængder

Næringssubstrat, og derpå med en fint (i 0,05 Ctm.) inddelt Glaspipette tilsætter forskellige Mængder af en stærk Opløsning af Stoffet, hvis Konecentration er bekjendt; den procentiske Mængde af Stoffet i hvert Kulturglas kan da nemt beregnes.

I de således tilberedte Kulturglas udsås den Bakterief orm, på hvilken man ønsker at prøve Midlets Virkning. Udsæden til alle Glassene tages fra *samme* Kultur med *samme* Nål eller Pipette; også den Mængde, der udsås, og den Måde, på hvilken Såningen udføres, bør såvidt muligt være nøjagtigt den *samme* for alle Glassenes Vedkommende. Disse iagttages nu dagligt, og man noterer sig den laveste Koncentration, ved hvilken der ingen Væxt kommer omkring Podestikket, og den laveste Koncentration, ved hvilken Stoffets hæmmende Indvirkning på Bakteriernes Væxt giver sig tilkjende; denne viser sig først og fremmest på to Måder, dels ved

a) *Forsinkelse af Udviklingen*, dels ved

b) *Forandring af Bakteriekoloniernes ydre Habitus*.

Fig. 86 tjener til at illustrere dette Forhold. Det forestiller 3 Reagensglas med Kjødvandspeptongelatine, til hvilken der er tilsat forskellige Mængder Karbolsyre, således, at der i det ene findes 0,05, i det andet 0,40 og i det tredje 0,70 pCt. Karbolsyre: I alle tre Glas blev der samtidig såt den samme Bacillusform, og 8 Dage senere frembøde de det på Billedet gjengivne Udseende. I førstnævnte Glas var Kulturens Udseende nøjagtigt det samme som i det karbolsyrefri Kontrolglas: Øverst en stor, tæt, uregelmæssigt formet Bacillusfilt svømmende i et Lag smeltet Gelatine, i den dybere liggende, endnu stive Limmasse langs Podestikket en Række punktformede Kolonier, og fra nogle, navnlig de øverste af disse en fin, blød, bølgende Bacillusfilt, strålende ud til alle Sider. I den anden Kultur var i Løbet af samme Tid Bacillusfilten nærmest Overfladen ikke en Gang nået ud til Glassets Vægge; Smeltning fandtes kun på et lille Parti, hvor den viste sig som en halvkugleformet Indsænkning nærmest omkring Podestikket; af de fine Udløbere fra de dybere liggende Kolonier (der ikke nåde så langt ned mod Bunden som i første Glas) fandtes intet Spor. I tredje Glas ingen rigelig Overfladevæxt, ingen Smeltning, kun en tæt, *kort*, omvendt kegleformet Ba-

cilluskoloni langs Podestikket i den overalt stive Gelatine. — Ganske lignende Forskjelligheder finder man hos *Bacillus septichæmiæ muris* (Koch), alt efter som den voxer i karbolsyreholdig eller i almindelig Kjødvandspeptongelatine. De ejendommelige, skylignende, fine Filt komme aldrig frem i de stærkt karbolholdige Kulturglas; i disse voxer Bacillen som små, tætte, punktformede Kolonier.

Men tillige må man naturligvis være forberedt på ved nærmere Undersøgelse at finde de mest forskjelligartede Giftvirkninger på de således dyrkede Bakterier, både

c) *morfologiske Forandringer*, f. Ex. *B. prodigiosus*'s Formskifte i sure Kulturvædsker (*Wasserzug*) og *B. pyocyaneus*'s i Næringsvædsker tilsatte med Naphthol, Salicylsyre o. s. v. (*Charrin*) og

d) *fysiologisk Omdannelse* af Bakterierne, f. Ex. Svækkelse af Miltbrandsbacillens Virulens (*Toussaint*) og Tilintetgjørelse af dens sporedannende Evne (*Roux, Chamberland*) ved Dyrkning i karbolsyreholdig Bouillon.

KAPITEL XIII.

Mikroskopisk Undersøgelse og Farvning af Bakterier.

En Side af den mikroskopiske Bakterieundersøgelse er allerede ovenfor omtalt i Kapitel IX (Fugtige Kamre) og under Skildringen af de Kochske Pladekulturer, i hvilke jo ikke blot *Koloniernes* Ejendommeligheder (helrandet, udtunget, fryndsede — glatte, grynede, rynkede o. s. v.) lade sig iagttage ved svagere og middelstærk Forstørrelse, men som også uden videre Foranstaltninger lade sig betragte med *stærkere* Forstørrelse; ja der er endogså Intet til Hinder for at undersøge de overfladisk beliggende Kolonier med de stærkeste Immersionssystemer, når de først ere bedækkede med et Dækglas.

Ønsker man at undersøge de *enkelte Individer* nøjere, berører man blot Kolonien med en steril Podenål og opslemmer

de vedhængende Mikrober i en lille Dråbe (bakteriefri!) 0,7 pCt. Kogsaltopløsning, der på sædvanlig Måde udbredes i tyndt Lag under et Dækglass. Voxe Bakterierne i et *flydende* Nærings-substrat, lægges en lille Dråbe af Kulturen uden videre under Dækglasset; eventuelt fortyndes med 0,7 pCt. Kogsaltopløsning. Ikke blot ved at sprede Kimene, men også ved at forandre Lysbrydningsforholdene kan Tilsætning af en sådan indifferent Vædske undertiden lette Undersøgelsen.

Vil man undersøge slige Præparater i *længere Tid* eller med *Immersion*, bør man tilkutte med *Parafin*. Parafinrammen tegnes bedst ved Hjælp af et 4 Mm. vidt parafinfyldt Glasrør, der er udtrukket i en kort, åben Spids, af hvilken den smeltede Parafin kan flyde ud.

De levende *Bakteriers Bevægelser* lade sig ikke længe iagttage på slige tilkittede Præparater, da de standse af Mangel på Ilt; man kan vel forsinke deres Standsning ved at lade nogle større Luftblærer blive tilbage under Dækglasset eller (hvis Bakterierne ere opslemmede i Vand) ved før Tilkitningen at lægge en grøn trådformet Alge ind under Dækglasset (*Engelmann*). Bakterierne ville da, drevne af deres Iltrang, i Masse søge hen til Luftblæren eller til Algen, hvis Klorofyl uafbrudt frigjør Ilt, og fortsætte deres Bevægelse, indtil Ilten er opbrugt eller Algens Stofskifte standset.

Studiet af Bakteriebevægelsernes *Modus* kan lettes ved *svag* Farvning (s. S. 189).

For de *meget* livlige Formers Vedkommende kan man gjøre *Bevægelsen langsommere*, når man *komprimerer dem stærkt ved Tryk paa Dækglasset*. Man kan på denne Måde standse al Bevægelse på et begrændset Sted i Præparatet; venter man da lidt, begynder enkelte Individider hist og her atter at bevæge sig, men i Førstningen kun meget langsomt.

Bedst studerer man naturligvis Bakteriernes Bevægelser i *et fugtigt Kammer*; navnlig kan anbefales Ranvier's Kammer og den ovenfor S. 127 som Nr. 3 angivne Fremgangsmåde, da Ulemperne ved den hængende Dråbes Dybde derved undgås.

Man vogte sig for at forvexle „*Molekularbevægelsen*“, den ejendommelige *Dirren på Stedet*, som kan iagttages hos de ubevægelige Bakterier ligesåvel som hos livløse Smålegemer,

der ere opslemmede i en Vædske, med de *aktive Bevægelser*, der kun udføres af visse Bakterie-Arter, og under hvilke disse bevæge sig i en bestemt *Retning et Stykke hen over Synsfeltet*.

Et uundværligt Hjælpemiddel ved den mikroskopiske Undersøgelse af Bakterier er *Anvendelsen af Farvemidler*, navnlig af visse Anilinfarver. Ved Indførelsen af de nu brugelige Farvemethoder er ikke blot 1) Eftervisningen og Iagttagelsen af Bakterier i Vædske bleven i høj Grad *lettet*, men det er tillige blevet muligt 2) at opdage *Strukturejendommeligheder*, som unddrage sig Iagttagelsen på de ufarvede Former (f. Ex. Svingtrådene hos visse Bakterier, den ejendommelige Leddeling hos Miltbrandsbacillerne o. s. v.) samt 3) at afsløre *kemiske Forskjelligheder* mellem Bakteriearterne (Blåfarvning af *Clostridium butyricum* med Jod), som tildels ere af overordentlig stor Betydning for den kliniske Diagnose (Tuberkelbacil-Farvning). Farvningen har endvidere muliggjort Tilvejebringelsen af smukke 4) *Opbevaringspræparater* (Dauerpräparate) af frie Bakterier, og frem for alt er det ved Farvemethoderne blevet muligt at 5) eftervise Bakterier *i Væv*, at studere deres Fordeling i Organerne og deres Forhold til Værtens Celler. Den bakteriologiske Farvetekniks Udvikling til sit nuværende Højdepunkt skyldes hovedsageligt tre Mænd: *Weigert*, *Koch* og *Ehrlich*; blandt de andre Forskere, som på dette Område have indlagt sig Fortjenester må særligt fremhæves *Löffler* og *Gram*.

Som Indledning til de efterfølgende specielle Anvisninger forudskikkes her nogle *almindelige Bemærkninger* om Bakteriefarvning.

De Farvestoffer, der benyttes ved Bakterieundersøgelsen, høre næsten alle til *Anilinfarvernes* store Klasse og særligt til den Gruppe af Anilinfarver, som *Ehrlich* kalder de „*basiske*“. *Ehrlich* har nemlig først gjort opmærksom på, at Anilinfarverne falde i to store Hovedgrupper, der ere skarpt adskilte såvel i kemisk Henseende som i histologisk Farveevne; den ene Gruppe, som han kalder „*de sure Anilinfarver*“, indeholder For-

bindelser, i hvilke det farvende Princip er en Syre; et Exempel er det pikrinsure Ammon. „*De basiske Anilinfarver*“ omfatte derimod Stoffer, der — således som f. Ex. det eddikesure Rosanilin — opstå ved en farvende Bases Forbindelse med en ikke farvende Syre*); herhen høre Mythylenblåt, Fuchsin, Gentianaviolet, Vesuvin o. a. Det er denne sidste Gruppe, de „basiske“ Anilinfarver, — de samme som i Histologien benyttes som *Kjærnefarvningsmidler*, — der have vist sig særligt egnede til at farve Bakterierne såvel udenfor som indenfor de dyriske Væv; det er ved deres Hjælp blevet muligt at farve alle de hidindtil kjendte pathogene Bakteriearter *kraftigt, ægte* (varigt), *afstikkende* og *skånsomt* i Snit fra de angrebne Organer.

Det er naturligvis ikke altid muligt *på engang* at løse alle disse fire Opgaver *lige* tilfredsstillende, og navnlig bliver *Skånsomheden* ligeoverfor de undersøgte Organers Vævselementer ofte tilsidesat til Fordel for den *intense* Farvning af *alle* de tilstedeværende Bakterier, men det er dog f. Ex. lykkedes *Baumgarten* ved en temmelig sammensat Methode at fremstille på *samme* Præparat Tuberkelbacillerne og den Karyokinese, der er Følge af deres Indtrængen **).

*) I Overensstemmelse hermed betegner *Ehrlich* som „*neutrale*“ Farvestoffer dem, der ere dannede ved en Forbindelse af en farvende Base og en farvende Syre som f. Ex. det pikrinsure Rosanilin.

**) *Baumgartens* Fremgangsmåde er følgende: En tuberkuløs Kanin dræbes, *hurtigst muligt* udskæres små tuberkuløst forandrede Stykker af Organerne, der strax kastes i 0,2 pCt. Kromsyre-Opløsning; heri fixeres og hærdes de i 48 Timer (nødigt kortere af Hensyn til Kjærnedelingsfigurerne, ikke længere af Hensyn til Bacilfarvningen); — grundig Udvadskning (indtil 24 Timer fortsat) i strømmende Vand — 24 Timers Efterhærdning i *rigelig* absolut Alkohol; — de *muligst fine* Snit ligge længe (indtil 48 Timer) i *frisk* tilberedt Anilin-Methylviolet (Nr. 8) — udvadskes i 1 Salpetersyre til 5 Vand højst 30 Sekunder; — derefter fuldendes Affarvningen i 60 pCt. Alkohol (Nr. 18), — dernæst $\frac{1}{2}$ —1 Time i en Blanding af lige Dele koncentreret alkoholisk Fuchsin-Opløsning (Nr. 1) og destilleret Vand — derfra 5—10 Sekunder i en vandig Methylenblåt opløsning 1:1000, — endelig 5—10 Minutter (1—2 Gange fornyet) absolut Alkohol; — Indlejring i kloroformfri, med Bergamotolje fortyndet Kanadabalsam.

I Stedet for den omstændeligere Kjærnefarvning med Fuchsin + Methylenblåt kan ifølge *Baumgarten* også træde en halv Times Farvning i en koncentreret Opløsning af *Vesuvin* i 1 pCt. *Eddikesyre*.

Til at farve *kraftigt* og *ægte* benytter man de samme Midler som i den store Farveindustri, nemlig:

1) *langvarigt* Ophold i Farvevædsken.

2) *Opvarmning* af Farvevædsken *enten* i længere Tid i Thermostat til 40°—50° (*Löffler*) *eller* kortvarigere, men stærkere Opvarmning over fri Flamme.

3) Anvendelse af *Beizer* (Mordants) o: Stoffer, der vise en vis Tilbøjelighed til at gå i Forbindelse såvel med Farvemidlet som med Farvningsobjektet og således tjener som et Slags forbindende Mellemed mellem dem. På denne Måde benyttes *Kali*, *Karbolsyre*, *Anilinolje*, *Blæk*.

Muligheden for at opnå en *afstikkende* Farvning af Bakterierne er givet dels ved Farvestoffernes forskellige „*Elektion*“ (*Ehrlich*), d. v. s. deres forskellige Tilbøjelighed til at farve visse Vævselementer*), dels ved deres forskellige *Farvekraft* ligeoverfor Præparaternes forskellige Dele, d. v. s. den forskellige Stabilitet i Foreningen mellem Farvesubstrat og Farvestof. Dette sidste Forhold — at visse Dele af Præparatet fastholde Farvestoffet mere hårdnakket end andre — benytter man sig af ved Farvningen af Bakterierne i Snit, idet Fremgangsmåden i Almindelighed er den, at man først *overfarver hele* Præparatet og senere ved Udvadskning „*differenterer*“ det, d. v. s. affarver (eventuelt omfarver) visse Dele af Præparatet og lader de andre beholde Farven. Alt efter det Udvadskningsmiddel, man benytter, kan da Affarvningen drives

*) Efter *Ehrlich & Schwarze* meddeles her et Forsøg, der på en slående Måde oplyser den forskellige Elektionsevne hos tre „sure“ Anilinfarver, nemlig *Aurantia*, *Indulin* og *Eosin*. Når man efter de nedenfor givne Regler tilbereder et „Dækglaspræparat“ af Blod, altså udbreder det i tyndt Lag, tørrer og hærder ved Opvarmning til 120°, og dernæst prøver de nævnte Pigmenters farvende Virkning på Præparatet, viser det sig, at *hvert enkelt af dem formår at farve såvel de røde Blodlegemer som de hvide Blodlegemers Kjærner* og de ejendommelige *Korn*, der findes i en Del af de hvide Blodlegemer og af *Ehrlich* ere betegnede som *α-Granulationer*. Udsætter man imidlertid Blodpræparatet for en *Glycerinopløsning af alle tre Farvestoffer* (tilberedt ved at tilsætte *Eosin* og *Indulin* i Overskud til en Blanding af 1 vol. mættet *Glycerinopløsning af Aurantia* og 2 vol. ren *Glycerin*), så vil man få *Hæmoglobinet farvet gult* af *Aurantia*, *Kjærnerne grå eller sorte* af *Indulin* og *α-Kornene røde* af *Eosin*.

mer eller mindre vidt. Have vi f. Ex. et mikroskopisk Snit af et bakterieholdigt Organ, der har henligget i en stærk Opløsning af Gentianaviolet, og skylle vi dette Snit af i *Vand*, så ville vi ved den påfølgende mikroskopiske Undersøgelse finde såvel *Bakterier* som *Cellekærner* og *Protoplasma* dybt violet farvede („diffus Farvning“), skylle vi i fortyndet Eddikesyre (se S. 187 Nr. 11), få vi Protoplasmet affarvet, medens *Bakterier* og *Kærner* beholde Farven („Kærnefarvning“); skylle vi i kulsur Kali (se S. 187 Nr. 16 smlg. S 207), få vi også Farvestoffet trukket ud af Kærnerne, medens *Bakterierne* forblive farvede („isoleret Bakteriefarvning“). Ved endnu stærkere virkende Midler som 25pCt. Opløsning af Salpetersyre, Svovlsyre eller Saltsyre kan man dernæst affarve ikke blot Protoplasma og Kærner, men tillige Hovedmassen af Bakteriearterne, så at kun ganske enkelte Arter som *Tuberkelbaciller* og *Leprabaciller* holde sig farvede („Tuberkelfarvning“); men fortsættes Behandlingen med stærke Opløsninger af Mineralsyrer *tilstrækkeligt længe*, afgive også disse Former deres Farvestof, og det må i det Hele erindres, at *den Tid*, i hvilken Præparaterne udsættes for Udvadskningsmidlet, er af afgjørende Betydning for Resultatet, idet den Modstandskraft, som de forskellige farvede Elementer have ligeoverfor samme Affarvningsmiddel, oftest kun er forskellig i *Grad*. Det gjælder da om i hvert Tilfælde ikke at affarve for kort eller for længe; det er ikke let at give ganske nøjagtige Anvisninger med Hensyn til Affarvningstiden, og her er just et af de Punkter, på hvilket den langvarige Øvelse spiller en meget stor Rolle.

For yderligere at fremhæve Bakterierne ligeoverfor Vævs-elementerne og gøre disse sidstes Form og Lejeforhold tydeligere*) kan man anvende „Flerfarvning“, i Almindelighed *Dobbeltfarvning*, idet man enten udsætter *de delvis affarvede*

*) Behandling af *samme* Præparat med *to* Farver anvendes undertiden også med et andet Formål for Øje, nemlig for at gøre Farvningen mere modstandskraftig mod Udvadskningsmidlerne, enten dette nu sker ved Dannelsen af en ny Kombinationsfarve eller på anden Måde. Exempler herpå ere Violet-Jodmetoden (Gram) og Anvendelsen af Fuchsin og Methylenblåt ved den S. 179 Anm. beskrevne Farvemethode.

Præparater for en ny Farvevædske^{*)}) („Efterfarvning“, Ex. Nr. XVII) eller i *farvet* Tilstand behandler dem med en Farvevædske, som både affarver og efterfarver dem („Omfarvning“). Ved Dobbeltfarvning vælger man naturligvis Farver, der stå på en Gang skarpt og smukt mod hinanden (Fuchsin og Methylenblåt — Methylviolet og Vesuvin — Gentianaviolet og Karmin).

Et ganske *overordentligt* stort Antal Farvestoffer ere efterhånden på højst forskjellig Måde blevne benyttede i Bakteriefarvningens Tjeneste. I det Følgende vil *kun et begrændset* Antal Farvemidler og Farvemethoder blive omtalte, og man gjør i det Hele taget rettest i — i al Fald i Begyndelsen — at holde sig til et Par af de mest universelle og mest betydningsfulde Farvningsmethoder, indøve dem med særlig Omhu og lære at beherske dem fuldstændigt, før man går videre. Helt indskrænke sig til Brugen af et enkelt Farvestof kan man allerede af den Grund ikke, at, just de forskjellige Bakteriearters Forhold ligeoverfor forskjellige Farvemidler

^{*)} Undertiden kan man ved Anvendelsen af *et enkelt* Farvestof opnå *Dobbeltfarvning*. Når man f. Ex. med Methylenblåt farver et bakterieholdigt Snit af et Organ, som indeholder den ejendommelige Art kornede Bindevævsceller, der benævnes „Mastzellen“, ville Bakterierne farves *blå*, Kornene *violette*. Disse Korn, der af Ehrlich betegnes „ γ -Korn“, fortjene også af en anden Grund Opmærksomhed: Da de nemlig ligesom Bakterier og Cellekjermer farves i *basiske* Anilinfarver, og da de i Størrelse ligne Mikrokokker, så kunne de blive (og ere af uøvede lagttagere ofte blevne!) forvexlede med Mikrokokk-hobe. Som et særligt godt Objekt til sammenlignende Studium af Mikrokokker og γ -Korn kan jeg anbefale Mesenteriet af (ikke altfor fede) Mus, der ere døde af suppurativ Peritonitis efter Podning med pyogene Staphylokokker. Mesenteriet udbredes på et Dækglas, som skydes ind under det, medens det endnu er fasthæftet til Tarmen, ved hvis Vægt det da udspændes over Dækglasset; såsnart det er fasttørret på dette, skæres Alt bort, som rager ud over Glassets Rande; det Hele behandles nu nøjagtigt som et Dækglaspræparat (Lufttørring, Flamme hærdning o. s. v.), og farves i Methylenblåt; man vil da mellem de *blå* Kokker finde små Hobe af *ikke ganske lige store violette* Korn, grupperede *uregelmæssigt* omkring en *ufarvet Kjerne*; thi Mastcellernes Kjermer blive i Modsætning til andre Bindevævscellers Kjermer *ikke* farvede ved den anvendte basiske Anilinfarvning.

og -måder har *diagnostisk Betydning**), og desuden gives der ikke nogen enkelt Farve, der farver alle Bakterier *lige godt*. Længst synes man i så Henseende at komme med det af Ehrlich indførte *Methylenblåt*. Ved at anvende Methylenblåt opløst i Karbolvand på den S. 186 Nr. 6 beskrevne Måde er det lykkedes *Kühne* at farve alle de Bakteriearter, der ere komne til hans Undersøgelse, inde i Vævene; kun ligeoverfor et Par enkelte Former (Spedalskhed, Museseptikæmi) gav den ham ej fuldt tilfredsstillende Resultater, og i disse Tilfælde anvender han da *Fuchsin*; iøvrigt står *Karbolfuchsinet* (Nr. 7) neppe i Brugbarhed tilbage for *Karbol-Methylenblåt*. En sådan Fuchsin- eller Methylenblåt-„Universal metode“ gjør man derfor rettest i at indøve omhyggeligt, både i dens simplere (Nr. IX) og i dens mere omstændelige og fuldkommere (Nr. X) Form, og man vil altid først gribe til den, når man uden at ville opspore en bestemt, kjendt Mikrob skal undersøge et Vævs Bakterieholdighed, eller når man ønsker at eftervise sådanne Bakteriearter, der *ikke* lade sig farve efter den Gramske Jod-Violet metode eller den Ziehl-Neelsenske Tuberkel metode; sådanne ere af de vigtigere pathogene Former: *Tyfus bacillen*, *Bacillus coli communis*, *Koleraspirillen* og *Vibrio Metschnikowi*, *Recurrensspirillen*, den *Friedländerske Kapselstav*, *Hønskole-raens*, *Kaninseptikæmiens* og *Svinepestens* Mikrober, *Nekrose bacillen*, *Raslesygens* og det *maligne Ødems Baciller*, *Snive bacillen*, *Influenzabacillen*, *Gonokokken*. — Men overalt, hvor man i Stedet for denne „Universal metode“, ved hvilken både Bakterier og Vævselementer farves med samme Farvestof, kan anvende en af de to andre Metoder til „*isoleret Bakteriefarvning*“, eventuelt med påfølgende Konstrastfarvning af Vævet — dér vil man gribe til disse, der give aldeles pragtfulde Billeder: Man vil altså ved Farvningen af **tuberkuløse** og **leprøse** Væv vælge

*) F. Ex. *Leprabacillernes* ringe Tilbøjelighed til at lade sig farve i *Methylenblåt* kan benyttes som Diagnostikon ligeoverfor Tuberkelbacillerne, der iøvrigt i deres Farvningsforhold ligne dem meget (s. S. 209). I andre Tilfælde kan Forholdet til *Gentianaviolet-Jodfarvningen* efter Gram benyttes i Diagnosenes Tjeneste, f. Ex. ligeoverfor *Gonokokkerne*, der ikke farves efter Grams Methode (s. om Gonokokfarvning ndf. S. 196 Nr. III b).

den *Ziehl-Neelsenske Farvemethode* og benytte den *Gram'ske* til Snit, som indeholde de **pyogene Staphylo- og Streptokokker**, den **Fraenkelske Kapselcoccus**, **Difteribacillen**, **Miltbrandens**, **Svinerosens**, **Museseptikæmiens**, **Oksespringormens** (*farcin du boeuf*) **Mikrober**, **Actinomyces**, **Microc. tetragenus** o. s. v.

Når man behersker de tre her omtalte Hovedmetoder, vil man med Hensyn til *Snitfarvningen* være vel hjulpen. Også for *Dækglaspræparaternes* Vedkommende er det rettest i Begyndelsen at holde sig til nogle få Farvemetoder.

Antallet af de Stoffer, der komme til Anvendelse ved *de nedenfor beskrevne* og særligt anbefalede Farvningsmetoder, er ikke stort. Det er:

Vand	Fuchsin
Alkohol	Methylenblåt
Æther	Gentianaviolet
Glycerin	Vesuvin
	Karmin
Anilinolje	Jod
Karbolsyre	Pikrinsyre
Garvesyre	
Svovlsur Jernforilte	Nellikeolje
Kali	Cederolje
	Xylol
Kulsur Kali	
Jodkalium	Kanadabalsam
Chlornatrium	
Kulsur Lithion	Parafin
Svovlsyre	Schellak
Saltsyre	
Eddikesyre	

Af *alle* de nævnte Anilinfarver bør man have en Beholdning i *Pulverform*.

*) Forskjellige Anilinfarver, der bære samme Navn, kunne frembyde Forskjelligheder, som gøre dem meget ulige skikkede til histologisk Brug. Man agte derfor vel på de gode Præparaters Kilde og Fabriksmærke.

Fuchsin, Methylenblåt og Gentianaviolet kan man

(Nr. 1) endvidere hensigtsmæssigt have stående i *mættede alkoholiske Opløsninger* (25 Gmm. Farvestof til 100 Gmm. absolut Alkohol; der er da altid et rigeligt Overskud af Farvestof på Flaskens Bund).

Vesuvinet gjør man bedst i *kun* at magasinere som *Pulver*; ønsker man at opbevare det i Opløsning, tilbereder man en mættet Opløsning i lige Dele Vand og Glycerin.

Ved *Farvningen* benyttes Farvestofferne sjældnere som

(Nr. 2) A. *Rene vandige Opløsninger*; disse holde sig kun en kort Tid brugbare og tilberedes derfor *altid ex tempore* af bakteriefrit Vand; de *filtreres* før Brugen.

Det er ganske bekvemt at have lidt af de Farvepulvere, som man til Stadighed benytter i *ren* vandig Opløsning, stående i *et lille Papirfilter* i en Glastragt; man overhælder det da kun med en ringe Mængde Vand og opsamler det Gjennemfiltrerede; efter Filtreringen bliver Pulveret atter hurtigt tørt. For at undgå Tilstøvning må Tragten være dækket med en Papirhætte.

Når det ikke undtagelsesvis er nødvendigt at undgå ethvert Spor af Alkohol i Farvevædsken (f. Ex. ved Farvning af levende Bakterier; se S. 189), kan man i Stedet for disse *rene vandige Opløsninger* lige så godt benytte

(Nr. 3) B. *Vand, til hvilket der sættes en passende Mængde af de ovennævnte mættede alkoholiske Opløsninger*. Disse fortyndede alkoholiske Opløsninger ere holdbarere end de vandige, men bør dog helst fornyes et Par Gange om Måned. Bedst er det imidlertid *at tilberede dem ex tempore* ved Tilsætning af 5—6 Dråber Farveopløsning til et Uhrglas destilleret Vand.

C. *Opløsninger med Beizer*. Hovedbeizerne ere:

- a) 5 pCt. Karbolvand (Ziehl).
- b) (Nr. 4) „Anilinvand“ (Ehrlich) 3: koncentreret, vandig Anilinoljeopløsning, der tilberedes som følger: I et Måleglas hældes omtrent 5 Dele Anilinolje og 100 Dele destilleret Vand; Blandingen rystes omhyggeligt, henstår i 5 Minutter, filtreres gennem et *med destilleret Vand befugtet* Filter.
- c) 0,01 pCt. Kali-Opløsning (3: 1 Ctgr. Kalihydrat til 100 Ccm. Vand) (Koch, Löffler).

- d) (Nr. 5). Fuchsin-Blæk (Löffler), *friskt* tilberedt af 10 Ccm. Tannin- (kemisk ren!) Opløsning (20 + 80 Vand), 5 Ccm. af en i Kulden mættet Ferrosulfatopløsning og 1 Ccm. mættet alkoholisk Fuchsinopløsning.

De med Beizer tilberedte Farvevædsker, som vi i det Følgende få Anvendelse for, ere følgende:

(Nr. 6). *Karbol-Methylenblåt* (Kühne).

1,5 Methylenblåt overhældes i en Porcellainsskål med 10 absolut Alkohol og sammenrives, uden at man anvender for stærkt Tryk, med 5 pCt. Karbolvand, der tilsættes lidt efter lidt. Når alt er opløst, hældes det på Flaske.

(Nr. 7). *Karbol-Fuchsin* (Ziehle).

- a) *stærk* Karbol-Fuchsin: 1 Fuchsin, 10 Alkohol, 100 5 pCt. Karbolsyre.
b) *fortyndet* Karbol-Fuchsin: den stærke Karbol-Fuchsin fortyndet med 1—4 Dele Vand.

(Nr. 8). *Anilin-Gentianaviolet* (Ehrlich).

5 Ccm. mættet alkoholisk Opløsning af Gentianaviolet, 100 Ccm. Anilinvand.

Anilin-Gentianaviolet kan også — *ligesom Anilin-Methylviolet* — tilberedes ved at tilsætte Farvepulveret i Overskud til Anilinvandet.

(Nr. 9). *Kali-Methylenblåt* (Löffler).

30 Ccm. mættet alkoholisk Opløsning af Methylenblåt, 100 Ccm. 0,01 pCt. Kaliopløsning.

Hertil kommer

(Nr. 10). *Lithion-Karmin* (Orth).

2½ Gram pulveriseret Karmin opløses i 100 Cubikcentimeter vandig, i Kulden mættet Opløsning af kulsur Lithion, og for Konserveringens Skyld tilsættes 1 Gram Karbolsyre.

En stor Del af de ovenfor S. 184 nævnte Kemikalier komme til Anvendelse under *Differentieringsprocessen*, nogle som Affarvnings- og Udvadskningsmidler, andre som Midler til at forberede visse Vævselementer til Udvadskningen. Man anvender hertil

Vand, Alkohol, Glycerin, Nellikeolje, Anilinolje samt Opløsninger af Syrer og Salte i følgende Form:

(Nr. 11). Meget fortyndet Eddikesyre $\frac{1}{2}$ pCt.—1 pCt.

(Nr. 12). Meget fortyndet Saltsyre: 10 Dråber Saltsyre til 500 Gm. Vand.

(Nr. 13). a. 25 stærk Svovlsyre, 75 Vand,

b. 25 stærk Saltsyre, 75 Vand,

c. 25 stærk Salpetersyre, 75 Vand.

(Nr. 14). Pikrin-Saltsyre-Alkohol: 70 Cc. absolut Alkohol, 30 Cc. vandig mættet Pikrinsyreopløsning, $\frac{1}{2}$ Cc. Saltsyre (Pikrinsyreopløsning kan udelades og erstattes med Vand).

(Nr. 15). Lithionvand (Kühne): 6—8 Dråber konc. vandig Opløsning af kulsurt Lithion til 10 Gmm. Vand (til Neutralisation af et surt Udvadskningsmiddel).

(Nr. 16). Kulsur Kali-Opløsning (Koch): 1 D. mættet kulsur Kali-Opløsning + 1 D. Vand.

(Nr. 17). Jod-Jodkalium-Opløsning (Gram): Jod 1, Jodkalium 2, destill. Vand 300.

(Nr. 18). 60 Alkohol, 40 Vand (Koch).

Farvet Alkohol (Kühne) s. ndf. S. 204 Anm.

(Nr. 19). Methylenblåt-Anilinolje (Kühne). K. anbefaler at sammenrive en Knivspids Methylenblåt med 10 Gmm. rensed Anilinolje, hælde det hele på en Flaske og lade den uopløste Farve bundfælde sig. Nogle Dråber heraf tilsættes i et Uhrglas med Anilinolje, indtil den ønskede Koncentration er nået.

Måden, på hvilken disse Farvnings- og Affarvningsmidler benyttes, samt de ovenfor nævnte Stoffers Anvendelse til Hærdning; Afvanding, Klaring, Opbevaring og Indkitning af Præparaterne bliver nærmere omtalt under Beskrivelsen af de enkelte Metoder.

I det Følgende forudsættes den almindelige mikroskopiske Teknik og det almindelige mikroskopiske Instrumentarium bekendt; kun bemærkes: Farvningen kan foretages ved simpel Pådrykning af Farvevædsken på Præparatet (smlg. nedenf. S. 192 og 203) eller ved at henlægge dette i en Beholder med Farvevædske; hertil benytter man da enten små Glastallerkener (Fig. 18) eller de små udhulede Glasblokke, der gå i Handelen som Saltkar, eller endelig Uhrglas. Af Tallerkenerne må

nogle helst være forsynede med *sleben* Rand, så at de kunne lukkes hermetisk med en Glasplade, når de i længere Tid skulle henstå ved højere Temperatur. Uhrglassene, der ere noget ubekvemme, da de ej kunne stå sikkert, komme særligt til Anvendelse, når Snit og Dækglas skulle farves under Opvarmning *over fri Flamme*. I så Fald stilles de hensigtsmæssigst på det Fig. 87 afbildede Stativ, der kun består af et bøjet Blikbånd med tre Huller, som have noget mindre Diameter end Uhrglassene. Stativet benyttes tillige til Filtrering.

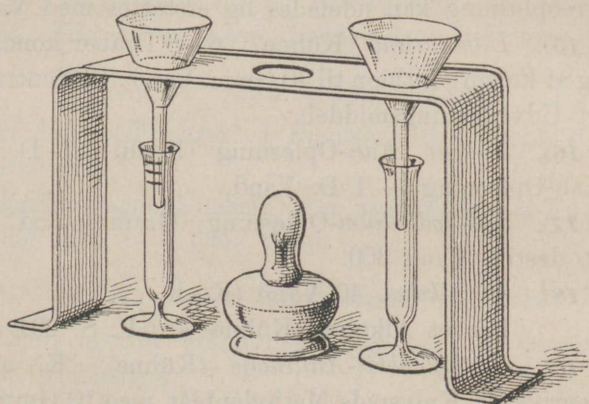


Fig. 87.

Blikstativ til Brug ved Farvning og Filtrering.

Fremgangsmåden ved Bakteriefarvningen vil nu blive nærmere fremstillet under følgende Rubrikker:

I. *Farvning af Bakterier i Vædsker.*

A. ved simpel Tilblanding af Farvemidlet.

B. efter foregående Indtørring på Dækglas („Dækglasspræparater“, Koch).

II. *Farvning af Bakterier i Snit.*

I. Farvning af Bakterier i Vædsker.

A. Ved simpel Tilblanding af Farvemidlet.

a. Man anbringer en lille Dråbe meget fortyndet, vandig (Nr. 2) Fuchsinopløsning eller meget fortyndet Karbofuchsin på

Objektglasset, opslemmer deri med Platinnål en ringe Mængde af Bakterierne og lægger Dækglass over. — Farveopløsningen må helst være så fortyndet, at den under Mikroskopet viser sig næsten farveløs. — Anvender man *rene vandige* og højest fortyndede Fuchsinopløsninger, kunne Bakterierne efter Farvningen forblive i Live og fortsætte deres Bevægelser (*Salomonsen*).

b. Anbringer man en Dråbe Bakteriekultur og en Dråbe (mere koncentreret) Farvevædske på Objektglasset i Nærheden af hinanden og bedækker dem med Dækglass, så at de flyde sammen, kan man i samme Præparat få en hel Skala af alle Farvingsgrader lige fra den helt ufarvede til den stærkt overfarvede Bakterie.

c. Et hurtigt, mikroskopisk Overblik over en større Mængde tætstillede Kolonier i en Pladekultur får man ved følgende Fremgangsmåde: Et velrenset Dækglass lægges ovenpå den kolonifyldte Pladekultur og trykkes i hele sin Udstrækning med en Glasstang eller Pincet fast mod Gelatinens Overflade. Brudstykker af de overfladisk beliggende Kolonier blive nu klæbende fast ved Dækglasset („Aftrykspræparater“), og når dette derefter fjernes fra Gelatinen og lægges hen over en på et Objektglas anbragt Dråbe Farvevædske (tynd vandig Fuchsin eller stærkt fortyndet Karbolfuchsin), får man Lejlighed til at se små Prøver af alle de Koloniers Indhold, som ere komne i Berøring med Dækglasset. Eventuelt kunne alle de beskrevne Præparater tilkittes med Parafin, som ovenfor beskrevet.

Weigert var den første, som (1876) anvendte en Anilinfarve (Methylviolet) til Farvning af Bakterier; samme Aar anbefalede *jeg* uden at kjende *Weigerts* Arbejde *Fuchsinet* som særligt fortrinligt Middel til Bakteriefarvning i Vædsker og fremhævede navnlig dets Betydning som diagnostisk Hjælpemiddel ved den mikroskopiske Analyse af råddent Blod. Ved Indførelsen af de basiske Anilinfarver var Eftervisningen og Undersøgelsen af Bakterier i Vædsker lettet ganske betydeligt; men et yderligere og afgørende teknisk Fremskridt skete i 1878, da *Koch* lærte os at farve Bakterierne efter *forudgående Indtørring i et ganske tyndt Lag på Dækglasset*; herved muliggjordes tillige den sammensatte mikrokemiske Behandling af de frie Bakterier, som nu spiller en så stor Rolle. Methodens store Fordele have bevirket, at den næsten udelukkende benyttes ved alle kliniske Blod-, Pus-, Urin- og Sputumundersøgelser. Til-

beredningen og Undersøgelsen af de farvede „Dækglaspræparater“ vil derfor blive særligt omstændeligt skildret og gennemgået Led for Led i det Følgende. Det er en Selvfølge, at Dækglasfarvningen ikke overflødiggør den under I A beskrevne Farvning ved simpel Tilsætning af Farvemidlet, ved hvilken Bakteriernes Form og Turgor fuldstændigt bevares, medens en *Skrumpning altid bliver Følgen af Indtørringen*.

B. Farvning efter forudgående Indtørring på Dækglas.

α) *Rensning af Dækglassene*. Nye Dækglas vadskes omhyggeligt i varmt Vand, tørres og behandles med absolut Alkohol for at fjerne alt Fedt. *Benyttede* Dækglas lægges først i en stærk Mineralsyre (Saltsyre, Svovlsyre), koges derefter i Soda-Opløsning og skylles gjentagende i rent Vand; derefter behandles de som nye.

β) *Udbredning af Vædsken i tyndt Lag* sker bedst derved, at man anbringer en ganske lille Dråbe på et Dækglas, bedækker den med et andet Dækglas, således at dettes *Hjørner* rage frem over Midten af det førstes *Sider*, og nu (meget forsigtigt!) skiller Glassene ad, idet man lader dem *glide* hen over hinanden; således får man *to* Dækglaspræparater. — Man kan også med det ene Dækglas' Rand *skrabe* Vædsken i et så tyndt Lag som muligt hen over det andet. Derefter henlægges Dækglassene med den indgnedne Side opad til

γ) *Tørring* under en Glasklokke. — Vil man *påskynde* Tørringen ved Opvarmning over en Flamme, må det kun ske ved en *ganske svag* Varmer, idet man holder Dækglasset *højt* oppe over Flammen. Lufttørringen må være *fuldstændig*, førend man skrider til næste Akt, nemlig:

δ) *Hærdningen*. Når et således tørret Dækglaspræparat af Blod, Pus, Sputum eller andre æggehvideholdige Vædsker uden videre Forberedelse farves på den nedenfor angivne Måde, iagttager man undertiden to uheldige Forhold: dels *løsner* det indtørrede Lag sig delvis fra Glasset, dels bevirker Tilstedeværelsen af *opløselige* Albuminstoffer forstyrrende *Udfældninger* i Præparatet. Dette undgås, når Albuminstofferne overføres i en uopløselig Form ved passende *Hærdningsmidler**). Man kan hertil benytte:

*) Den sidstnævnte Ulempe kan også undgås, når man til Farvningen benytter Anilinbrunt (Bismarckbrunt eller Vesuvium) i *Glycerinopløsning* (S. 185 L. 6) og udvadsker med ren Glycerin (Koch).

1^o *Absolut Alkohol* (Koch) eller en Blanding af *lige Dele absolut Alkohol og Æther*, i hvilket Dækglassene henlægges i nogen Tid. Denne Fremgangsmåde er *skånsommere* end den følgende; den Tid, der medgår til en tilfredsstillende Hærdning, er imidlertid noget forskjellig for de forskellige Præparater; dels af denne Grund, dels af Nemheds- og Hurtighedshensyn foretrækkes oftest

2^o den *Ehrlich'ske* Hærdning ved *Opvarmning til 120—130°* i 2 til 10 Minutter (ved en *længe f. Ex. timevis fortsat* Opvarmning til denne Temperatur, således som Ehrlich benyttede den ved sine Undersøgelser over Kornene i de hvide Blodlegemer, *miste Bakterierne deres Farvningsevne*). Opvarmningen kan foretages i Tørsterilisationsapparatet (Fig. 1); nemmere er det efter Kochs Forslag at *føre Dækglasset tre Gange gennem Flammen af en Bunsens Brænder med den indsmurte Side opad*: Man fatter Dækglasset i det ene Hjørne med Pincet, og idet man tre Gange i Træk i Luften lader det beskrive en *lodret Cirkel af omtrent en Fods Diameter*, fører man det hver Gang således hen over Flammen, at dennes Spids *et Øjeblik* kommer til at spille mod den nedadvendende, *ikke* indsmurte Flade; den passende Hurtighed (hvorpå det heldige Resultat beror) har man truffet, når der til de tre Passager medgår omtrent tre Sekunder. Når Hærdningen således er fuldendt, skrider man til*)

e) *Farvningen*. Af de forskellige Måder, på hvilke vi kunne bringe Farvevædske og Præparat i Berøring med hinanden, benytte vi i Almindelighed den

1^o at lade Dækglasset med den indsmurte Side**) nedad

*) Under alle de følgende Manipulationer må man stedse agte på, hvilken Side af Dækglasset der er den *indsmurte*, og hvilken der er den *fri*, thi når det indtørrede Lag er *meget tyndt*, kan det ofte være vanskeligt at se Forskjel; undertiden kan man få Sikkerhed i Sagen ved at kradse de to Dækglasflader med en spids Knappenål, ved hvis Hjælp man dels kan *føle* Ujævnheder, dels *se* Rids på den indsmurte Side.

**) De indsmurte og tørrede Dækglas kunne — med eller uden forudgående Flammehærdning — opbevares på ubestemt Tid til senere Farvning: De kunne simpelthen lægges ovenpå hverandre i en almindelig Dækglasæske, — de forskellige Sæt adskilte ved små Etiketter af Dækglasstørrelse.

svømme på *Farvevædsken*. Man fatter to af dets modstående Rande mellem højre Hånds Tommel- og Pegefinger, holder det nøjagtigt horisontalt over *Farvevædsken* og lader det fra en Højde af nogle Centimeter falde ned på dens Overflade. Den Tid, i hvilken man lader Præparatet være udsat for *Farvevædsken*, er alt efter Omstændighederne nogle få Minutter eller et helt Døgn (Ex. S. 209 Anm.); det *langvarige* Ophold i *Farvevædsken* ved almindelig Stuetemperatur kan ofte erstattes ved en *kortvarigere* Farvning ved *højere* Temperatur (Löffler, Koch; Ex. S. 196 Nr. IV a); Opvarmningen foretages bedst som følger: Et *Uhrglas* med *Farvevædske*, på hvilken *Dækglasset* svømmer, anbringes på Blikstativet; ved Hjælp af en Spritlampe med lille Flamme opvarmes *Vædsken*, „indtil der stige Dampe livligt op fra dens Overflade“; man fjerner da Lampen

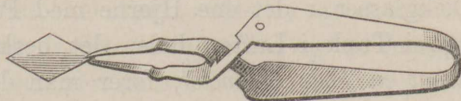


Fig. 88.

Cornet's Klemme-Pincet med Dækglas.

en kort Tid, opvarmer atter på lignende Måde og gjentager dette flere Gange i Løbet af fem Minutter (eller længere); undertiden kan det være hensigtsmæssigt at opvarme, *indtil Vædsken begynder at komme i Kog* (Ex. Nr. IV). Man kan iøvrigt også foretage Såningen således, at man med en Pipette

2° drypper *Farvevædsken* på selve *Dækglassets* indsmurte, opadvendte Flade i så rigelig Mængde, at *Vædsken* står med hvælvet Overflade uden at flyde udenfor Randen; det er hensigtsmæssigst at gjøre Brug af de *Cornet'ske Pincetter*, med hvilke man fatter *Dækglasset* i det ene Hjørne (se Fig. 88). Ønsker man at opvarme *Farvevædsken*, kan man let gjøre det, inden man drypper den på *Dækglasset*, altså koge den i et Reagensglas og så med en Pipette dryppe den næsten koghede *Vædske* på; dog kan man også fortræffeligt bringe *Vædsken* i Kog på selve *Dækglasset* (når Undersiden er tør!) ved at holde dette over Flammen.

Når Farvningen, eller rettere *Overfarvningen*, af Præparatet er fuldendt, fjerner man det meste af den overskydende Farvevædske, dels ved at lade den *løbe af*, dels ved at *suge den bort* med lidt Filtrerpapir, og skrider så — hvis ingen yderligere Behandling med flere Farvevædske skal foretages på dette Stadium — til

ε) *Udvadskningen* (den delvise Affarvning, „Differentieringen“); den foretages alt efter Omstændighederne (smlg. ovf. S. 181) i en eller flere af de S. 187 nævnte Vædske, hvis Overskud atter fjernes ved Afskylning i Vand (under Vandhanen eller under Sprøjteflasken eller ved at bevæge Dækglasset rundt i en større Skål med destilleret Vand). Udvadskningen er Farvningens vanskeligste Akt, fordi man ikke kan give præcise Regler for, *hvortil* den i ethvert Tilfælde bør vare; man må ofte prøve sig frem, før man træffer det Rette. Undertiden foretages, som det vil fremgå af de nedenfor anførte Exempler, på dette Stadium en *Efterfarvning* med påfølgende Udvadskning.

Når „Differentieringen“ er fuldendt, kan man *undersøge Præparatet i destilleret Vand eller Glycerin*; vil man opbevare det, må man*) derimod foretage den fuldstændige

η) *Tørring* af Præparatet for at muliggjøre den senere Indlejring i Kanadabalsam. Efterat Dækglassets frie Flade er aftørret omhyggeligt med en blød Lærredsklud, holdes det skråt med den ene Rand støttet mod et Stykke Filtrerpapir, så at så meget Vand som muligt kan løbe af og suges bort; større tilbageblivende Dråber suges forsigtigt op med Filtrerpapir, hvorpå det *henlægges til Lufttørring*. — Forat påskynde Tørringen kan man ligefrem trykke det af mellem flere Lag fint *Filtrerpapir* (Ehrlich), „*vifte*“ det frem og tilbage i Luften eller bearbejde det med et *Ballon-Blæseapparat*, i hvilket et i en

*) Det må dog bemærkes, at Præparater, der ere farvede med *Bismarckbrunt* eller *Vesuvium*, også kunne *opbevares* indkittede i Glycerin, medens dette Stof derimod udtrækker de andre Anilinfarver af Præparaterne. — Derimod egner en koncentreret Opløsning af *eddikesur Kali* (1 D. til 2 D.) sig ifølge *Koch* særdeles godt til Opbevaring af de med Violet eller Fuchsin farvede Bakterier — og det kan tilføjes — af *ufarvede* Bakterier. Til brunfarvede Præparater bør den derimod ej benyttes.

fin Spids udtrukket knæbøjet Glasrør er anbragt (Kühne); bedst lægges Dækglasset på et Stykke Filtrerpapir, der strax kan opsuge de ud over Randen henblæste Vædskeandråber; Glasrøret må holdes nøjagtigt lodret over Præparatet, da man ellers let blæser hele Dækglasset bort. Når Tørringen er fuldendt, bliver Præparatet

*) *indlejret i Kanadabalsam.* Den kanadiske Balsam kan bekvemmest opbevares i små *Farvetuber* med Tilsætning af *Xylol**), så at man får en *tyktflydende* Blanding. En Dråbe af denne anbringes midt på Objektglasset. Dækglasset lægges ovenpå Dråben, og vil nu ved sin Tyngde udbrede denne i et tyndt Lag. *En yderligere Præparation er unødvendig*; men da det varer meget længe, inden *Xylolbalsamen* bliver fuldstændigt fast og Dækglasset altså uforskydeligt, kan man

i) *indramme* Præparatet ved Hjælp af Asfaltlak eller en filtreret alkoholisk *Schellakopløsning*, hvilken man ved Tilsætning af lidt Methylenblåt kan give en smuk grøn Farve; den pensles i flere Lag hen over Dækglassets Rand.

Om den *mikroskopiske Undersøgelse* af de farvede Præparater se nedenfor under Snitfarvning.

Når man vil undersøge en på Dækglas *indtørret* bakterieholdig Vædske af *ubekjendt* Indhold, gjør man rettest i at begynde med den som Nr. I beskrevne Farvning med fortyndet *Karbol-Fuchsin* (eller *Karbol-Methylenblåt*); hvis Resultaterne i den ene eller den anden Retning ere utilfredsstillende, prøver man at *variare*

Hærtningsmetoden (Flamme, Alkohol o. s. v.),

Farvevædskenes Styrkegrad (f. Ex.: Medens man med den alm. *Karbol-Fuchsin* [Nr. 7 a] får dårlige Dækglaspræparater af *Koleraspirillen*, giver samme Opløsning fortyndet med 4 Dele Vand meget smukke Billeder [Petri]),

*) Også *Terpentin* kan benyttes som Fortyndningsmiddel, derimod *ikke Kloroform*, da den udtrækker de basiske Anilinfarver. — Af de *ætheriske Oljer*, der kunne benyttes som *Klaringsmidler*, er navnlig *Nellikeoljen* tilbøjelig til at udtrække Farven af Bakterierne, derfor foretrækker man *Cedrolje* eller *Bergamotolje*.

Farvningstiden (her må det erindres, at *langvarig* Farvning i *tynde* Opløsninger ofte give bedre Resultater end *kortvarig* Farvning i *stærke*),

Udvadskningstiden og

Udvadskningsvædsken (Vand, fortyndet Alkohol, absolut Alkohol, Tilsætning af en ubetydelig Mængde Eddike- eller Saltsyre til Vandet eller Alkoholen),

og søger på denne Måde at få klare og smukke Præparater.

Dernæst går man over til at anvende den *Gram'ske Jod-Violet-Methode*, og ved Sammenligning mellem Resultaterne af disse to Farvningsmåder vil man allerede kunne få værdifulde vejledende Oplysninger; Efterfarvningen af de jod-violet-farvede Præparater med Vesuvin (Nr. III b) kan yderligere lette Oversigten over Præparatets Indhold.

Derpå kan man efter Omstændighederne gå over til at prøve andre Farvemåder som Tuberkelfarvningsmetoden o. s. fr.

Dækglasfarvnings-Methoden.

(Nr. I a). *Karbol-Fuchsinfarvning.*

Tørring — Flammehærdning — *fortyndet Karbofuchsin* (Nr. 7 b) i 2 å 5 Minutter — Udvadskning med rigeligt Vand — Tørring — Kanadabalsam.

(Nr. I b). *Karbol-Methylenblåt* (Nr. 6) kan anvendes ganske på samme Måde som det fortyndede Karbofuchsin.

Kühne angiver en mere omstændelig Fremgangsmåde:

(Nr. II). *Kühnes Karbol-Methylenblåt-Farvning.*

Tørring — Flammehærdning — Karbolmethylenblåt (Nr. 6) i fem Minutter — Afskykning i Vand — Differentiering i meget fortyndet Saltsyre-Vand (Nr. 12) lidt kortere eller længere efter Lagets Tykkelse (ved tyndt Lag kun nogle Sekunder) — afskylles et Øjeblik i Lithionvand (Nr. 15) — skylles $\frac{1}{4}$ Minut under Vandstråle — lufttørres (eventuelt med Ballon-Blæseapparat) — opvarmes *ganske svagt* over en Flamme for at — klares i Xylol — lægges i Kanadabalsam.

(Nr. III a). *Grams' Jod-Violet-Methode.*

Tørring — Flammehærdning — Anilin-Gentianaviolet (Nr. 8) i 1—3 Minutter — Jod-Jodkaliums-Opløsning (Nr. 17) i 1—3

Minutter (eller længere!) — Udvadskning i absolut Alkohol indtil *fuldstændig* Affarvning — Tørring — Kanadabalsam.

På *klinisk* Område har den Gram'ske Farvningsmethode fået særlig Betydning for **Gonokok**-Diagnosen, som jo undertiden kan være forbunden med store Vanskeligheder, da der i Urethra forekommer Diplokokker, der slående ligne Gonokokken, men som Intet have med Urethriten at skaffe; alle disse Arter, *på en enkelt, sjældent forekommende, nær* (Steinschneider), farves efter Grams Methode, medens *Gonokokken affarves* (Roux); herpå er følgende Methode til Eftervisning af Gonokokker i tvivlsomme Tilfælde baseret:

(Nr III b). *Grams Farvning med Efterfarvning i Bismarckbrunt.*

Dækglaspræparaterne farves efter Grams Methode, dog således at Opholdet i Anilingentianaviolet forlænges til 15—25 Minutter, og Opholdet i Lugols Vædske også forlænges noget. Efter Affarvning i Alkohol tørres Præparatet og efterfarves med en *friskt tilberedt, vandig* Opløsning af Bismarckbrunt; man må ej lade denne indvirke for længe, da i så Fald også de jod-violet-farvede Kokker påvirkes af den brune Farve. — Efter Brunfarvningen afskylles i Vand — tørres — indlejres i Kanadabalsam. — De Diplokokker, der i et således behandlet Præparat ere jod-violet-farvede, ere *ikke* Gonokokker; de *brun*-farvede, *der ere lejrede gruppevis i Cellernes Indre*, ere Gonokokker. —

I alle *tvivlsomme* Tilfælde bør denne Methode anvendes. Iøvrigt får man meget smukke Gonokok-Billeder ved Farvning efter I a og b.

Til *Tuberkelbacilfarvning* anvender man nu til Dags i Stedet for den ældre *Koch-Ehrlich-Weigert'ske* Methode (Anilin-Methylviolet, 25 pCt. Saltpetersyre, Efterfarvning i Vesuvin) næsten udelukkende

(Nr. IV a). *Ziehl-Neelsens Farvemethode.*

Tørring — Flammehærdning — stærk Karbolfuchsin (Nr. 7 a) i 3—5 Minutter (eventuelt kortere Tid under Kogning) — Affarvning et Par Sekunder i 25 pCt. Svovlsyre (Nr. 13 a) — [Behandling med 60 pCt. Alkohol, indtil højst et ganske svagt

Rosaskjær er tilbage] — Udvadskning i en rigelig Mængde Vand for at fjerne de sidste Spor af Syren — Efterfarvning i en stærk *vandig* Methylenblåt-Opløsning i $\frac{1}{2}$ —1 Minut — Af-skylning i Vand — Tørring — Kanadabalsam.

En Modifikation af den Ziehl-Neelsen'ske Methode, som på Grund af den *Hastighed*, med hvilken den kan udføres, har fået Indpas på de fleste Hospitaler, er

(Nr. IV b). *Gabbets Methode.*

Dækglasset fattes med en Cornets Pincet, overhældes med stærk Karbolfuchsin, opvarmes et halvt Minut over Flammen; Fuchsinopløsningen afhældes, og man pådrypper en dybt mørkeblå Opløsning af Methylenblåt i 25 pCt. Svovlsyre, der i Løbet af nogle Sekunder *samtidigt* affarver og efterfarver Præparatet. — Afskylning i Vand — Undersøgelse i Vand.

Sporefarvning.

(Nr. V). *Ufarvede Sporer, farvede Stave.*

Når sporeholdige Baciller farves efter de ovenfor beskrevne Metoder, ville Sporerne forblive *ufarvede* og præsentere sig som *farveløse Pletter i stærkt farvede Stave*.

Denne Sporernes Utilbøjelighed til at optage Farvestofferne kan imidlertid på forskjellig Måde overvindes, og det blev samtidig af Buchner og Hueppe eftervist, at en *stærk og langvarig Opvarmning*, der jo (Ehrlich s. S. 191) berører Bakterierne deres Farvningsevne, just gjør Sporerne i Stand til at optage basiske Anilinfarver i de almindeligt benyttede Opløsninger:

(Nr. VI). *Farvede Sporer, ufarvede Stave.*

Når man *enten*

i Stedet for som ved Flammehærdningen at trække Dækglassene *tre Gange* gennem Flammen, *trækker dem ti Gange igjennem*; eller

opvarmer dem $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Time i Tørsterilisationskassen til 120° — 180°

og derpå farver med Fuchsin- eller Methylenblåt-Opløsning (Nr. I a og b), bliver Sporerne stærkt farvede; men Spore-

farvningen er *isoleret*; Stavene have som sagt mistet deres Farvningsevne.

Imidlertid er det også muligt at erholde

(Nr. VII). *Både Sporer og Stave farvede.*

Tørring og Flammehærdning som sædvanligt (*tre* Gange gennem Flammen) — to Minutter i Kloroform (for at fjerne Fedt) — Afskylning i Vand — 5 pCt. Kromsyreopløsning (*Møller*) i $\frac{1}{2}$ —2 Minutter — kogende eller næsten kogende Karbolfuchsin i et Minut — hurtig Affarvning i 5 pCt. Svovlsyre — Afskylning i Vand — Efterfarvning $\frac{1}{2}$ Minut i en mættet vandig Opløsning af Methylenblåt.

Der er forøvrigt indenfor Bacillernes Kreds *stor Forskjel* på den Vanskelighed, med hvilken de enkelte Arters Sporer lade sig farve.

Farvning af Svingtråde.

Hos visse *store* Bakterierformer, f. Ex. de først af *Warming* nærmere undersøgte „*Purpurbakterier*“, kunne Svingtrådene ses med gode Objektiver uden nogensomhelst Præparation.

Hos mindre Former kunne de kun gøres synlige ved *Farvning*. *Koch* var den første (1878), hvem det lykkedes at farve Svingtråde, hvortil han benyttede en mættet vandig Opløsning af Extractum campechianum og påfølgende Behandling med en svag Kromsyreopløsning; men det er særligt *Löffler*, der ved sin i 1889 offentliggjorte og senere (1890) forbedrede Ciliefarvningsmethode først har gjort det muligt at påvise Svingtrådes (og ofte meget *talrige* Svingtrådes) Tilstedeværelse hos alle nærmere undersøgte bevægelige Former. Hans Methode er i *Rouxs* Laboratorium bleven simplificeret af *Nicolle & Morax*.

(Nr. VIII). *Löfflers af Nicolle & Morax modificerede Methode til Farvning af Svingtråde.*

En ganske ringe Mængde (o: en Platinøsken) af en *ung* Overflade-Kultur på Nærings-Agar opslemmes i et Uhrglas med sterilt, *ikke* destilleret Vand, så at man får en ganske

ubetydeligt plumret Vædske. — De Dækglass, der skulle benyttes, må foruden på sædvanlig Måde at være rensede *tillige være flamberede* ved gjentagne Gange at trækkes gennem en Bunsen-Brænder. Man fatter Dækglasset ved dets ene Hjørne med en Cornets Pincet (Fig. 88) og udbreder ved Hjælp af en Pipette Bakterie-Opslemningen over hele Dækglassets Overflade; derpå hælder man dette og opsuger med Pipetten det Overskud af Vædsken, der samler sig ved nederste Hjørne. — Lufttørring — en stor Dråbe FuchsinBlæk (Nr. 5) anbringes på Dækglasset, og man opvarmer en halv Snes Sekunder ved en *ganske lille* (Veilleuse-)Flamme. — Når Dampene begynde at stige op fra Fuchsin-Blækket, hældes det af, og Præparatet udvaskes forsigtigt med Vand, idet man retter Strålen fra en Sprøjteflaske mod Dækglassets øverste Hjørne. — Denne Beizning og Afskylning gjentages 2 à 3 Gange; efter hver Afskylning må man sørge for at *aftørre* Undersiden af Dækglasset og Enden af Cornets Pincet, for at ikke Fuchsin-blækket skal løbe ned under Dækglasset og hen langs Pincetten. — Farvning med Karbol-Fuchsin (Nr. 7), medens man opvarmer en à to Gange i Løbet af et kvart Minut — påny Afskylning — Undersøgelse i Vand — og hvis Præparatet viser sig vellykket — Tørring — Kanadabalsam.

Undtagelsesvis lade Svingtråde sig farve ved langt simplere Midler. Jeg har således opnået en meget smuk Farvning af Koleraspirillernes Cilier ved til en Dråbe frisk Bouillon-Kultur at sætte en Dråbe vandig Fuchsin på den S. 189 I A b beskrevne Måde.

II. Farvning af Bakterier i Snit.

Når det kun drejer sig om at påvise Bakteriernes Tilstedeværelse i de forskellige Organer, kan man ofte lade sig nøje med Tilberedelsen af Dækglasspræparater, idet man *gnider lidt Vævssaft fra en frisk Snitflade* ud på samme Måde, som ovenfor beskrevet. En nøjagtigere Undersøgelse af Bakteriernes Mængde og Lejring i Vævene kan kun foretages på *Snit*.

Før Weigert angav Metoder til at farve Bakterier i Snit, havde man intet andet Middel til at eftervise dem end Behandlingen af Snittene med *Syrer* og *Alkalier*, mod hvilke Bakterierne vise stor Modstandskraft.

Når et friskt eller alkoholhærdet Snit behandles med stærk *Eddikesyre* eller fortyndet (2 pCt.) *Kali-* eller *Natron-*Opløsning, bliver det næsten fuldstændigt gjennemsigtigt; kun Bakterierne modstå både Syren og Alkalierne og træde, navnlig når de ligge samlede i store Hobe i eller udenfor Karrene, tydeligt frem; derfor bleve også slige *Micrococcushobe* set og beskrevne, længe førend man kjendte deres Natur (f. Ex. i *Nyrekarrene* af *Beckmann*). Senere kom Kalimethoden til at spille en vigtig Rolle ved *Pyæmi-*Undersøgelserne i Begyndelsen af Halvfjerdserne (f. Ex. *Hj. Heibergs*), og endnu i den nyeste Tid er den kommen til Anvendelse i enkelte Tilfælde. Den er således brugt til hurtigt at gjøre Hobe af *Typhusbaciller* synlige i Vævene, og *Baumgarten* havde allerede, før han kjendte Kochs Undersøgelser, set *Tuberkelbaciller* ved Hjælp af Kalimethoden. Men i det Hele taget har den efter Indførelsen af Snitfarvningen tabt sin Betydning.

Forudsætningen for at erholde smukke Snitfarvningspræparater er en god *Hærdning* af Vævene: Små Stykker af Organerne — nødtigt mere end en Cubikcentimeter i Omfang, helst mindre — lægges i en *rigelig* Mængde absolut Alkohol i en vel tilkittet eller tilproppet Beholder, på hvis Bund et Lag Vat er anbragt; herved holdes Vævstykkerne liggende i de øverste, mindst vægtfyldige og mindst vandholdige Lag af Alkoholen, hvor de efter et eller to Døgn's Forløb ville have opnået en passende Hærdning.

Kun når man samtidigt ønsker at studere finere Cellestruktur-Forhold (f. Ex. Mitoser), nødes man til at benytte en forudgående Behandling med en bedre *Fixationsvædske* end Alkohol og bagefter hærde i Alkohol af stigende Concentration; et Exempel herpå er den ovenfor S. 179 Anm. u. Texten beskrevne *Baumgarten'ske* *Tuberkelfarvning* efter forudgående Fixation i 0,2 pCt. Kromsyre; også efter Fixation med Sublimat og Flemmings Vædske kan man smukt fremstille på éngang Mitoser og *Tuberkelbaciller* (Borel); men iøvrigt kræver Spørgs-

målet om de forskellige Fixationsvædskeers Betydning for de forskellige Farvemethoder nærmere Undersøgelse.

Af de godt alkoholhærdede Væv kan der nu gøres Snit med Barberkniv eller Mikrotom, dog frembyder den forudgående *Indsmeltning i Parafin* en så overordentlig Lettelse af Tilvejebringelsen og Behandlingen af mikroskopiske Snit, at man om muligt altid vil foretage en sådan.

Indsmeltning i Parafin.

En simpel og hensigtsmæssig lille *Parafin-Ovn* er den Fig. 89 afbildede *Altmann'ske*: en 10 Ctm. høj,

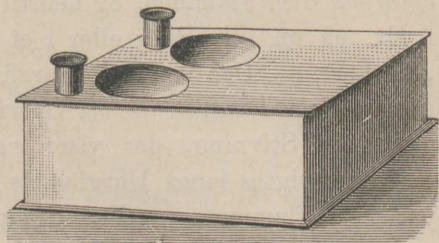


Fig. 89.

Altmanns Parafin-Ovn.

Blikkasse med to uhrglasformede Fordybninger i Loftet (6 Ctm. Diameter og 2 Ctm. Dybde) og bag disse to med korte opretstående Rør forsynede Åbninger, i hvilke et *Thermometer* og en *Regulator* kunne anbringes; Kassen fyldes med *Olje* og holdes opvarmet lidt over den anvendte Parafins Smeltepunkt (omkring 55°), så at denne holder sig flydende i de to Fordybninger, der under Brugen dækkes mod Støv og Varmespild ved et Par Glas eller Træplader.

Indsmeltningen foretages nu som følger: Fra den absolute Alkohol lægges det vel hærdede Stykke over i en lille tilproppet Krukke med

Xylol-Alkohol (3 Xylol, 1 Alkohol) i nogle Timer*); derfra i *Xylol* i nogle Timer*); herfra overføres det i

Xylol-Parafin, 3: Xylol, i hvilket der er opløst så megen Parafin, at Blandingen letteligen holdes smeltet, når den henstilles på *Parafinovnens Loft*. Efter nogle Timers*) Ophold heri lægges Stykket endelig i den rene smeltede

Parafin i Parafin-Ovnens Fordybning, og først når det efter nogle Timers*) Ophold i denne er blevet helt gennem-

*) Til Vejledning kan tjene: *Store* Organstykker (1 Cubikcentimeter og derover) må ligge 8—10 Timer i de forskellige Vædske, for at man

trængt af Parafin, skrider man til den egentlige Indsmeltning, der bedst foretages i *Uhrglas* *).

Parafin smeltes og holdes opvarmet en Del over sit Smeltepunkt i en Porcellæn-Skål. — Et vel rensset Uhrglas indgnides med en Dråbe Glycerin. — Uhrglasset gribes med en Pincet, *opvarmes* over Flammen, og henstilles således, at det *ikke rækker*, f. Ex. på en lille Ring eller i et af de ovenfor omtalte Glas-„Saltkar“. — Den smeltede Parafin hældes i Uhrglasset, indtil den står med *stærkt hvælvet* Overflade. — Man afventer begyndende Stivning, der viser sig ved, at Parafinen bliver uigjennemsigtig langs Uhrglassets Rand. — Pincet og Nål opvarmes i Flammen. — Ved Hjælp af disse to opvarmede Instrumenter anbringes et eller flere af de parafingjennemtrukne Vævsstykker i passende Stillinger i Uhrglasset. — Når Stivningen er såvidt fremskreden, at hele Parafin-Overfladen er dækket af en Skorpe, flyttes Uhrglasset med Varsomhed over i en Skål med *koldt* Vand, hvor man lader det *svømme* for at *påskynde* Stivningen af Parafinet (langsom Afkjøling giver *porøs* Parafin). — Når Stivningen næsten har nået Bunden, hvor det endnu flydende Parafin kan skimtes som en grålig Cirkelflade, *sænkes* hele Uhrglasset ned i koldt (helst rindende) Vand, hvor det bliver liggende nogle Minutter, indtil det er ganske hårdt. — Med Neglen, der lirkes ind under Parafinranden, lettes endelig hele Parafinstykket ud af Uhrglasset. — Stykket bliver nu „etiketteret“ idet man *med en Nål indridser* Betegnelserne på Parafinstykkets convexe Flade, og det kan derefter opbevares tørt, så længe det skal være. Når et af de indsmeltede Præparater skulle benyttes, deles Parafinstykket, idet man på passende Steder skjærer dybe Ridser i det og *brækker det over*; derpå fastsmeltes Stykket på Parafinbordet og afkøles i (rindende) Vand; endelig afskjæres Parafinet med skarp Kniv *tæt ind til* Præparatet.

kan være sikker på, at de blive fuldstændigt parafingjennemtrukne; *ganske små* (1 Cubikmillimeter) kunne nøjes med $\frac{1}{2}$ —1 Times eller endnu kortvarigere Ophold i hver af Vædskerne. Ved *middelstore* Objekter vil 3—5 Timers Henliggen i hver Vædske være passende.

*) Til store Objekter kan benyttes små Pap- eller Papiræsker eller de særligt dertil konstruerede Metalrammer (R. Nr. 637).

Før Farvningen udtrækkes atter Parafinen af Snittene med (Æther eller) Xylol, og når Opløsningsmidlet atter er fuldstændigt fjærnet ved Udvadskning i Alkôhol, kan Farvningen foretages *enten* således, at man med Spatel og Nål flytter Snittet fra Vædske til Vædske *eller* således, at man først udbreder det på Objektglasset, dernæst ved Hjælp af nogle Lag Filtrepapir *trykker det fast mod Glasset* og nu afvexlende drypper de forskjellige Vædsker på og atter hælder dem af så forsigtigt som muligt og suger Resten af dem bort med nogle Lag Filtrepapir, der yderligere tjener til stadigt påny at *trykke Snittet fast mod Glasset*, så at det ej skylles løst af Præparationsvædskerne. — Under Pådrypningen er det hensigtsmæssigst at lade Objektglasset ligge over Mundingen af et Vandglas eller en anden lignende Beholder, hvori Vædskerne kunne dryppe ned, hvis de skulde „løbe over“.

En kjendeligt stærkere Fastheften af Snittet til Objektglasset — uden Anvendelse af sædvanlige Klæbemidler som Æggehvite, Kollodium o. s. v. — kan man opnå på følgende Måde, der dog kun lader sig anvende når Parafinsnittene *ej ere for stærkt opkrøllede*:

Det *nogenlunde vel* udglattede Snit henlægges, indesluttet i Parafinen, på Overfladen af 35°—40° C. varmt Vand, der holdes på denne Temperatur f. Ex. i en stor emailletet Kumme; her ville de strax glatte sig *fuldkomment* ud. Snittet bliver nu opfanget på et velrenset og navnlig meget omhyggeligt *affedt* Objektglas, som skydes ind under det; med Filtrepapir opsuges det overskydende Vand og trykkes Præparatet så glat og fast som muligt mod Objektglasset; dette henlægges derpå til Tørring på Parafinovnnens Loft ved en Temperatur, der er *under* Parafinens Smeltepunkt; er Loftet for varmt, skaffer man let en lavere Temperatur til Veje ved at indskyde en alt efter Omstændighederne lavere eller højere *Stabel Glasplader* mellem Loft og Objektglas. Når Tørringen efter et Kvarters eller længere Tids Forløb er fuldstændig, opløses Parafinen ved Xylol, der atter udvadskes med absolut Alkohol (Sprøjteflaske); Snittet ligger nu godt fast; dog kan man selvfølgelig ikke behandle det så dristigt som et ved Albumen eller Skydebomuld fastklæbet Snit uden Fare for, at det skal løsne sig.

Fordele og Ulemper ved hver af de to Fremgangsmåder — *Badning i* og *Pådrykning af* Farvevædskerne — ere selvindlysende. I første Tilfælde lettere Indtrængen af Vædskerne og navnlig lettere Udvadskning, i sidste Tilfælde større Sandsynlighed for at bevare det tynde Snit helt og ubeskåret, Frihed for den ofte vanskelige Transport fra Vædske til Vædske, og for den sluttelige Udbredning på Objektglasset.

Selve Farvningen af Snittene foregår i alt Væsentligt som Dækglassfarvningen; dog må det bemærkes:

At Snittene oftest må udsættes i *længere Tid* for Farvevædskens Indvirkning end Dækglassene, — at de ikke så godt tåle stærk Opvarmning i Farvevædsken som disse, — at *Udvadskningen* (Differentieringen) kræver stærkere virkende Midler, — at Afvandingen (Fjernelsen af Vandet), som *altid må være fuldstændig før Snittenes Indlejring i Balsam*, ikke (eller kun rent undtagelsesvis, s. S. 233) sker ved Tørring som for Dækglassenes Vedkommende, men ved Hjælp af *Alkohol* eller *Anilin-olje* (Weigert^{*)}).

Ved den mikroskopiske Undersøgelse af Snit, som indeholde farvede Bakterier, benytter man en såkaldet *Kondensor* d. v. s. et Lindsesystem, der kan anbringes umiddelbart under Objektglasset i Mikroskopbordets Åbning, således at dets Brændpunkt falder sammen med den Gjenstand, der skal undersøges; af de forskellige benyttede Modeller er *Abbe's* den fuldkomneste, men den billigere *Dujardin'ske* og lignende Belysningssystemer, der let kunne indsættes på mindre Mikroskoper i Stedet for en Cylinderblending, ere fuldstændigt tilfredsstillende.

Det er *Koch*, som først har henledet Opmærksomheden på Betydningen af *Kondensoren* ved Bakteriernes Mikroskopi. Man

^{*)} For at disse Vædsker ikke foruden at fjerne *Vandet* tillige skal fjerne en Del af *Farven* fra Præparatet, har Kühne i den senere Tid anvendt den Fremgangsmåde at tilsætte det ved den foudgående Bakteriefarvning benyttede Farvestof til Alkoholen eller Anilinet (Nr. XIII).

opnår herved, hvad Koch kalder at „udslette Strukturbilledet“ og således fjerne dets forstyrrende og skjulende Indflydelse på „Farvebilledet“. Ved „Strukturbilledet“ forstår han det Billede af Linier og Skygger, der viser os Vævets Struktur, og som fremkommer ved Diffraction af Lysstrålerne under deres Passage gennem Præparatet, hvis enkelte Dele (Kjærner, Tråde o. s. v.) have en Lysbrydningsevne, der er forskellig fra det Substrat, i hvilket de ere indlejrede.

Ved „Farvebilledet“ forstår han Billedet af de *farvede Partier* i Præparatet; ere disse farvede Flader *meget små*, kunne Strukturbilledets Linier og Skygger fuldstændigt skjule dem, og det, man opnår ved Brugen af det Abbe'ske Belysningsapparat eller en lignende Kondensor, er nu just dette at få Præparatet belyst med en Lyskegle af så stor Åbningsvinkel, at Vævet præsenterer sig som en strukturløs Flade, på hvilken de farvede Partier, store og små, træde skarpt frem. Det er let at overbevise sig om de overordentlige Fordele, som man opnår ved Anvendelsen af en sådan Kondensor: Et Snit, der er fuldt af farvede Museseptikæmibaciller, kan synes bakteriefrit, når det undersøges ved almindelig Belysning med Hulspejl og Blænding, medens Kondensoren afslører en Masse Stave i dets Indre.

Hvad der her er sagt om Undersøgelsen af de farvede Bakterier i Snit, gjælder også om de farvede *Dækglaspræparater*, i hvilke Bakterierne jo ofte findes lejrede på og i Elementer, hvis „Strukturbilledet“ dække dem.

På den anden Side må det erindres, at Undersøgelsen af de *ufarvede Bakterier* altid bør foretages *uden* Kondensor med så snæver Blænding, som Belysningen tillader, eller, hvad der er det samme, med en så *stærkt sænket* Kondensor som muligt.

Snitfarvnings-Methoden.

Som alt ovenfor bemærket, var *Weigert* den første, der farvede Bakterier i Snit (1876); han benyttede en stærk vandig Opløsning af Methylviolet og udvadskede i fortyndet Eddikesyre; 1881 forbedrede han

Methoden, idet han som Farvemiddel anvendte en 1 pCt. Opløsning af Gentianaviolet B.R. og udvadskede i absolut Alkohol; — det nye Farvestof udmærkede sig fremfor det tidligere derved, at det ikke så let blev trukket ud af Bakterierne ved Alkohol og Nellikeolje.

Af de i Tidernes Løb uddannede Snitfarvningsmetoder meddeles her de vigtigste; det er i alt væsentligt de allerede ovenfor (S. 195—196) beskrevne, men de gjentages her med de for Snitfarvningen nødvendige Forandringer under fortløbende Numre.

De, der ønske at indøve flere Farvemethoder, kunne henvises til *Kühnes* fortrinlige lille Pjece: *Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im tierischen Gewebe.* Leipzig 1888.

(Nr. IX) *Karbol-Fuchsin-Farvning.*

Snittet lægges i 2—5 Minutter i fortyndet *Karbol-Fuchsin* (Nr. 7 b) eller i *Karbol-Methylenblåt* (Nr. 6) — afskylles i Vand og lægges derfra i *absolut Alkohol*, i hvilket det bevæges lidt rundt, indtil det har antaget en *lyserød* eller *lyseblå* Farve. Ved Behandlingen med absolut Alkohol tilsigter man *dels* at *udvadske* Farvestoffet af Snittene såvidt, at det kun tilbageholdes af *Bakterier* og *Kjerner*, *dels* at *afvande* det, således at det kan lægges over i en ætherisk Olje og *klares*, hvilket kun er muligt, når alt Vand er udtrukket af Snittet. Efter Alkoholbehandlingen suger man først det overskydende Alkohol bort med lidt *Filtrerpapir* og overfører så Snittet i — *Cederolje*, hvor det bliver, indtil det er *fuldstændigt gjenmemtrængt* af denne; det kan nu undersøges i Cederolje eller — hvis man ønsker at opbevare det — indlejres i *Kanadabalsam*.

Er man ej tilfreds med Farvningens Resultat, gjentager man den med de S. 194—195 antydede Variationer.

Mere omstændelig, men også mere fuldkommen er den særligt af *Kühne* uddannede

(Nr. X) *Karbol-Methylenblåt-Universalmethod,*

der iøvrigt lige såvel lader sig foretage med *Karbolfuchsin* (helst fortyndet).

Snittet lægges i *Karbolmethylenblåt* (Nr. 6) (eller fortyndet *Karbolfuchsin* Nr. 7 b) i Gjennemsnit en halv Time — afskylles i destilleret Vand — behandles med Saltsyre-Vand (Nr. 12), indtil det får en lyseblå Farve — afskylles i *Lithionvand* (Nr.

15) — lægges nogle Minutter i destilleret *Vand*. (Denne Differentiering i Saltsyrevand er det vanskeligste Punkt i Farvningen; tynde Snit behøver man kun lige at dyppe ned i Vædsken; i hvert Fald må man holde skarpt Udkig med *Af-farvningens Grad* under hele Differentieringen for *strax* at kunne neutralisere med Lithionvandet, når den rette Grad er nået). — Efter at have ligget nogle Minutter i Vandet, bliver det dyppet i *absolut* (eventuelt methylenblåtfarvet, s. S. 204 Anm.) *Alkohol* for foreløbigt at afvandes, inden det overføres i et Saltkar med *Methylenblåt-Anilin* (Nr. 19), hvor det i Løbet af få Minutter *afvandes fuldstændigt* uden samtidigt at *affarves* — det afskylles med *ren Anilinolje*, — hvorefter al Anilinolje omhyggeligt fjernes *) ved Behandling med *Xylol* (for Sikkerheds Skyld helst i to Skåle) — det således klarede Snit udbredes på Objektglasset (eller Dækglasset) — det overskydende Xylol fjernes ved Hjælp af Filtrepapir — Indlejring i Kanadabalsam.

(Nr. XI) *Löfflers Kali-Methylenblåt-Methode.*

Snittene lægges få Minutter i Löfflers *Kali-Methylenblåt* (Nr. 9) — differentieres nogle Sekunder i $1\frac{1}{2}$ pCt. Eddikesyre — absolut Alkohol — Cederolje — Kanadabalsam

Den første, der foretog en *isoleret* Bakteriefarvning i Snit var *Weigert*, som allerede 1871 farvede *Micrococcushobe* med *Karmin* og påfølgende Udvadskning i Saltsyre-Glycerin. 1878 kom så *Koch's* Methode til isoleret Bakteriefarvning: Han udvadskede de i en vandig Opløsning af Fuchsin, Methylviolet eller Methylenblåt farvede Snit med en halvt mættet Opløsning af kulsur Kali (Nr. 16) — derefter Alkohol — Xylol — Kanadabalsam.

Efterat derpå Farvningstekniken var blevet beriget med de *Koch-Ehrlichske* Methoder til isoleret Farvning af Tuberkelbacillen, angav *Gram* 1884 den fortrinlige Jod-Violet Methode:

*) I modsat Fald farves Kanadabalsamen med Tiden brun.

(Nr. XII a) Grams Methode.

Snittet lægges direkte fra den absolute Alkohol 3—5 Minutter i *Anilin-Gentianaviolet* (Nr. 8) — derpå 3—5 Minutter eller længere i *Jod-Jodkalium-Opløsning* (Nr. 17) — udvadskes i absolut Alkohol, indtil det er næsten fuldstændigt affarvet. — Når det overskydende Alkohol er fjernet ved Filtrepapir lægges Snittet i — *Nellikeolje* hvor Affarvningen fuldendes og Klaringen finder Sted — herfra indlejres det i Kanadabalsam.

I de således behandlede Præparater ses Mikroberne sortebå på ufarvet eller svagt gullig Grund, men man kan ved forudgående Behandling af Snittene med *Karmin* (og *Pikrin*) få en pragtfuld Dobbelt-(Tripel-)farvning med dyb Rødfarvning af Kjærnerne og bleg rød (gul) Protoplasmafarvning:

(Nr. XII b) Jod-Violet-Karmin-Pikrinfarvning.

Snittene lægges 5 Minutter i *Lithion-Karmin* (Nr. 10) — dyppes et Øjeblik i *Pikrin-Saltsyre-Alkohol* (Nr. 14) — udvadskes i absolut Alkohol, — det karminfarvede Snit lægges nu i *Anilingentianaviolet* (Nr. 8) i 3—5 Minutter — derpå ganske som ovenfor beskrevet i *Jodkalium*; — absolut Alkohol (hvor det altså atter får sin røde Farve) — *Nellikeolje*; — derpå udvadskes det omhyggeligt i *Xylol* og indlejres i Kanadabalsam.

En hyppigt benyttet Modification af Grams Methode er den såkaldte „Fibrinfarvningsmethode“, der foretages som følger:

(Nr. XII c). Weigerts Modifikation af Grams Methode.

De alkoholhærdede Snit farves længe i en mættet *Anilin-Gentianaviolet-Opløsning* (Nr. 8) — afskylles i en 0,7 pCt. Kogsaltopløsning — lægges på Objektglasset, hvor den følgende Præparation foretages; — den overskydende Vædske fjernes ved Hjælp af Filtrepapir, som lægges på og trykkes mod Snittet, — dernæst pådryppes *Jod-Jodkaliums-Opløsningen* (Nr. 17) — som atter suges bort med Filtrepapir — nu dryppes et Par Dråber *Anilinolje* på Snittet, for på engang at affarve og afvande; *Anilinoljen* farves strax mørk og må derfor efter nogen Tids Forløb fjernes og fornyes en eller to Gange; derefter ud-

vadskes al Anilinolje omhyggeligt med Xylol, og man indlejrer i Kanadabalsam.

(Nr. XIII). *Farvning af Tuberkelbaciller**) efter Ziehl-Neelsen.

Snittene lægges et Kvarterstid i stærk Karbolfuchsin (Nr. 7 a), bevæges nogle Secunder frem og tilbage i 25 pCt. Svovlsyre (Nr. 13 a), hvorved de fuldstændigt tabe den røde Farve, — afskylles i 60 pCt. Alkohol (hvor Rødfarvning atter indtræder), indtil de kun have en *ganske svag* Rosafarve — efterfarves 1 Minut i vandig Methylenblåt-Opløsning — afskylles i 60 pCt. Alkohol — afvandes i absolut Alkohol — Cederolje — Kanadabalsam.

*) Tuberkelbacillerne farves også efter den Kühneske Methylenblåt-Universalmethod og efter den Gramske Methode; men hvor det gjælder om en *Differentialdiagnose*, må Affarvningen foretages med stærke Mineralsyrer, som i Nr. IV a—b og XIII; thi det er *Modstandskraften mod Mineralsyrer*, der karakteriserer Tuberkelbacillerne ligeoverfor andre kjendte Bacillusarter med Undtagelse af *Leprabacillen*, hvis „Syrefasthed“ endogså er stærkere end Tuberkelbacillens; Leprabacillerne adskille sig derimod fra Tuberkelbacillerne ved *meget let at lade sig farve* allerede i rene vandige Opløsninger af Methylviolet og Fuchsin. — Også de såkaldte „*Smegmabaciller*“ vise en ret betydelig Modstandskraft mod Affarvning ved Mineralsyrer, men de affarves let ved en påfølgende Alkoholbehandling, hvad hverken Tuberkel- eller Leprabacillerne gjøre. „*Smegmabacillerne*“ ere rimeligvis kun forskellige Arter af Forrådnelsesbaciller, der ved at voxe i smegma præputii ere blevne således „beizede“ af Fedtstofferne, at de ere blevne vanskeligere at affarve. Herfor taler også, at det har vist sig muligt at forandre forskellige Bakteriers Farvelighedsforhold på lignende Måde ved at dyrke dem i *Smør-* eller *Lanolinholdige* Næringssubstrater (Bienstock). Også i en anden Henseende kunne Smegmabacillerne volde diagnostiske Vanskeligheder nemlig ligeoverfor de *Lustgartenske* „Syphilisbaciller“, hvis Forhold til Syphilis endnu er yderst problematisk, men som ere efterviste både i syphilitiske Nydannelser og Sårsekreter. Ligesom „Syphilisbacillerne“ kunne de nemlig, efter at være farvede på Dækglas i Anilin-Gentianaviolet (24 Timer), beholde Farven trods Behandling med 1,5 pCt. overmangansur Kali-Opløsning (10 Sekunder) og påfølgende Afskylning i Svovlsyrlingvand indtil fuldstændig Affarvning af Præparatet. Med Tuberkelbaciller kunne „Syphilisbaciller“ ej forveksles, da de meget let affarves af Mineralsyrer.

Ved *Farvning af Mikrober i Epidermisskjæl* kan man gå frem på følgende Måde (*Bizzozero*): Epidermisskjællene affedtes ved at lægges først nogle Timer i Alkohol, så en eller to Dage i Æther, så atter i Alkohol; derpå lægges de på et Dækglas i en Dråbe 50 pCt. Eddikesyre, og når de efter et Kvarters eller længere Tids Forløb ere udbulnede, udbredes de med Nål på Dækglasset; man fatter Dækglasset med en Pincet, og idet man bevæger det frem og tilbage *højt* over en Flamme, fjerner man Eddiken ved Fordampning; efter fuldstændig Lufttørring bliver Præparatet flammehærdet paa sædvanlig Måde, hvorpå det 10—30 Minutter behandles med tynd alkoholisk Fuchsin eller med vandig Opløsning af Vesuvin eller Gentianaviolet eller Methylenblåt. *Hueppe* anbefaler fremfor den langvarige Behandling med de nævnte Farvevædske 5 Minuters Farvning med Löfflers Kalimethylenblåt.

Se iøvrigt angående Farvning af Mikrober i *Hud Unnas* Afhandling i Monatshefte für praktische Dermatologie, XIII 1891.

Om Farvning af Bakterier i *Snit af hærdede Gelatinekulturer* se *Neisser* Centralbl. f. Bakteriologie, III, 506, 1888.

Slutteligen vedføjes her — hovedsagelig efter *O. Johanssens* Anvisninger — nogle Bemærkninger om Præparation af

Skimmelsvampe.

a. *Hurtigpræparation.* Skimmelpræparatet lægges nogle Minutter i fortyndet Alkohol (Sprit) — derefter i en tynd Ammoniakopløsning — Ammoniaken suges bort — Udvasdskning med Vand. — Tilsætning af Glycerin, i hvilket Underøgelsen sker.

b. *Opbevaringspræparater* tilberedes på lignende Måde *efter forudgående Farvning i Osmiumsyre*: Osmiumsyren opbevares som $\frac{1}{2}$ pCt. Opløsning i en med Alkohol og Æther vel rensat Dryppeflaske (med Stav i Proppen); heraf tilsættes 2 Dråber til 8 Dråber Vand (altså c. $\frac{1}{10}$ pCt.) i et Uhrglas, og i denne

svage Opløsning kan Svampen ligge en hel Dag; i stærke Opløsninger ($\frac{1}{2}$ pCt.) kun nogle Minutter. Derefter udvadskes, først med Alkohol, så med destilleret Vand; er Præparatet blevet for sort, affarves med svag Ammoniak-Opløsning, udvadskes atter med Vand, opbevares i Glycerin.

De osmiumbehandlede Præparater kunne også, førend de lægges i Glycerin, yderligere farves i *Safranin* (helst i en meget svag Opløsning, i hvilken de ligge i længere Tid).

c. *Kulturpræparation*. Præparation af hele Kulturer foretages på Objektglasset. Man benytter hertil helst Kulturer fra flydende Næringssubstrat (s. ovf. *Brefelds* Objektglaskulturer S. 130) og sådanne, som ej ere for vidt fremskredne. Over den på Objektglasset liggende Kultur anbringes meget forsigtigt (navnlig ved opretstående Former) et Dækglas; man lader det hele henstå således, indtil det er let indtørret, så at Dækglasset ej flyder; hertil medgår oftest kun nogle Minutter, og man kan nu enten tilsætte Osmiumsyre $\frac{1}{10}$ pCt. (s. ovf.) med Kontra-Udsugning, — efter en passende Tid udvadske omhyggeligt med Vand, ligeledes ved gjentagen Kontra-Udsugning, — og sluttelig (med eller uden forudgående Safraninfarvning) tilsætte Glycerin, hvorefter Præparatet er færdigt til Opbevaring; — eller man kan tilsætte fortyndet Alkohol ved Kontra-Udsugning — derpå Ammoniak o. s. v. som ovf. under a.

d. *Snitfarvning*. Til Eftervisning af Skimmelsvampe i Organerne kan man benytte den S. 200 omtalte *Kali-* (eller *Natron-*) *Methode*, der jo imidlertid intet Billede giver af Vævets Tilstand.

Af Farvningsmetoderne anbefaler *Ribbert* særligt den af *Weigert* modificerede Gramske Farvning (Nr. XII c); også Karbol-Methylenblåt (-Fuchsin) (Nr. IX—X) og *Löfflers* Kali-Methylenblåt) (Nr. XI) give gode Resultater.

e. *Actinomyces*. Når det kun gjælder om at sikre Diagnosen af *Actinomyces*kornene i Pus eller Snit, er det tilstrækkeligt at anbringe Pusset eller Snittet i Glycerin, der er blandet med såmeget *Natron-* (eller *Kali-*) Opløsning eller med så megen *Eddikesyre*, at alle Pussets og Vævenes Celler klares fuldstændigt. — *Jensen* anbefaler at udrøre Pusset i Glycerin, der er farvet ganske svagt rosenrødt ved lidt *Eosin*; på denne

Måde farves Køllerne smukt røde. — Såvel i Dækglaspræparater som i Snit giver den *Gramske Methode* med *langvarigt* (en halv Times) Ophold i Farvevædsken smukke Resultater, — men ingen Farvning af Endekolberne, der jo forøvrigt ofte slet ikke ere udviklede i *Actinomyces*kornene.

KAPITEL XIV.

Indsamling og Opbevaring af Renkulturer. — Bakteriologisk-klinisk Diagnose.

Saprophyter.

Da de almindeligt forekommende *saprophytiske Bakterier* ere ulige lettere at skaffe til Veje end de forskellige *pathogene Arter*, og da de lige så godt som disse af *Begyndere* kunne anvendes til *Indøvelse* af de vigtigste *Undersøgelsesmetoder*, gives her nogle kortfattede *Anvisninger* på, hvorledes man let og hurtigt kan anlægge en *Samling Renkulturer* af *Saprophyter*, der omfatte de vigtigste *morfologiske Bakterietyper* og enkelte i *fysiologisk Henseende* særligt interessante *Former* samt et *Par* hyppigt forekommende *Skimmelsvampe*.

Man kan passende begynde med at

(1). henstille nogle *Tallerken-Aëroskoper* (S. 93) med K. P. G. på forskellige *Steder*, dels i *fri Luft*, dels i *Værelser*; efter nogen *Tids Forløb* vil man da se dem bevoxede såvel med *Skimmel* og *Gjær* som med talrige *Bakteriekolonier*, der allerede for det blotte *Øje* frembyde udprægede *Forskjelligheder* i *Farve* og *Væxtmåde*, og blandt hvilke man som *Regel* finder både *Baciller*, *Mikrokokker*, *Sarciner*. De fleste af disse *Kolonier* ere *Renkulturer*, fra hvilke man uden videre kan anlægge nye i de forskellige *Næringssubstrater*; vil man være sikker i sin *Sag*, kan man først foretage en *Pladespredning* i *Gelatine*.

(2). Også nogle på sædvanlig Måde udførte *Pladespredninger* af *Overfladevand* i K. P. G. eller nogle

(3). *Dryssekulturer af Jord* (S. 89)

give altid en rig Høst af de almindelige „Vandbakterier“ *) (f. Ex. *Cladothrix* med sit brunlige Pigment i Omfanget, de grønligt fluorescerende Baciller o. m. fl.) og „Jordbakterier“ (f. Ex. *B. mycoides* med de rodagtigt forgrenede Kolonier o. a.).

Behandler man Overfladevand på den S. 86 1) beskrevne Måde (Tilsætning af 1 pCt. Pepton, 1 pCt. Kogsalt, Henstilling ved 37°) vil man undertiden 6—12 Timer senere ved mikroskopisk Undersøgelse finde dets *Overflade* opfyldt af talrige

(4). *Spiriller*, henhørende til en eller flere af de mange Arter, der i den seneste Tid ere komne til at spille så stor en Rolle på Grund af deres Lighed med Koleraspirillen; man spreder fra *Overfladen* i Gelatine og skaffer sig således Renkulturer.

Repræsentanter for „*Gjæringsbakterierne*“ erholdes let ved at lade de organiske Vædske, der ere tilbøjelige til at gå i Gjæring, henstå i Luften: Man lader altså usteriliseret (5) *Mælk* stå og blive sur, usteriliseret (6) *Urin* stå og blive alkalisk o. s. v., og når Gjæringen er i fuld Gang, foretager man Gelatine-Spredninger fra Vædsken; en Del af de således indvundne Kolonier udsår man atter i *steril* Urin for at se, hvilke af dem der ere i Stand til at fremkalde den omspurgte Gjæring, og hvilke ikke. Undertiden kan det være fordelagtigt ved Spredningen at benytte Gelatiner tilberedte med selve den undersøgte Vædske, f. Ex. *Uringelatine* o. s. v. — Man må ved slige Forsøg altid huske på, at der ikke, som man tidligere trode, findes én Mælkesyrebakterie, én Smørsyrebakterie o. s. v., men at flere — ofte mange — forskellige Arter kunne fremkalde hver enkelt af de almindelige Gjæringer; man må altså være forberedt på til forskellige Tider og på forskellige Steder at finde forskellige Gjæringsvækkere ved samme *Hovedgjæring*; derfor lykkes det heller ikke altid og overalt lige let at indvinde en *bestemt* eftersøgt Gjæringsbakterie; når man f. Ex. efter Pasteurs Råd henstiller en

*) En god Øvelse er det at bestemme „Vandbakterier“ ved Hjælp af *Zimmermann*: Die Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer, Chemnitz 1890—94, eller *Lustig*: Diagnostik der Bakterien des Wassers. 1893. — En fortræffelig, kortfattet Anvisning til Bakterie-Diagnostik for Begyndere findes i Slutningen af *Woodheads's Bacteria and their products*. London 1891.

(7) *Blanding af Rødvín (1 Del), Vand (2 Dele) og Eddike (1 Del)* for at få en Hinde af Bact. aceti dannet på Overfladen, kan Forsøget ofte slå fejl.

En enkelt Gjæring — *Smørsyregjæringen* — skal særligt omtales, fordi den almindelige Smørsyrebakterie — *Clostridium butyricum* — i flere Henseender frembyder Interesse, både som udpræget Anaërob, som Repræsentant for Slægten *Clostridium*, endvidere på Grund af det *amylum*-lignende Stof, den danner i sit Indre, samt endelig paa Grund af sin *cellulosefordeøjende* Evne og sin *Symbiose* med Planteæderne. Da der altid i den på Kartofler hæftende *Jord* findes *Clostridium butyricum*-Sporer, kan man let få den i Blandingskultur, f. Ex. på følgende Måde: (8). Af en Kartoffel udskjæres en Del prismatiske, med den urensede Skal beklædte Stykker, som lægges i en stor (200—250 Gmm.) Medicinflaske; denne fyldes derefter helt op til Mundingen med Vand, sættes i en Skål og henstilles ved 37°. Dagen efter er en livlig Gjæring i Gang, en Skumprop fylder Mundingen, og under den stærke Gas-Udvikling er en Del af Vædsken slynget ud af Flasken, hvis Indhold lugter stærkt af Smørsyre; opslemmer man nu lidt af Indholdet i en Dråbe Lugols Vædske (Nr. 17), finder man en Mængde helt eller delvis blåfarvede Clostridier i alle Udviklings-Stadier. At dyrke dem rent fra en sådan Blanding er altid forbundet med nogen Vanskelighed på Grund af deres anaërobe Væxt; man kan f. Ex. gå følgende Vej: Det på *Clostridium*-Sporer rige Bundfald opslemmes i sterilt Vand og opvarmes i en Timestid til 70°; fra den således „pasteuriserede“ (S. 10) Opslemning sår man over i sterilt Kartoffel-Vand under Vaseline-Prop (S. 108—109) eller under Brint (S. 111—112); når der atter her er kommet livlig Smørsyre-Gjæring, spreder man i højt Agarlag i 4—5 Fortyndinger, henstiller ved 37°, afventer Dannelsen af Kolonier og afsøger derpå (s. S. 119) de dybest liggende af disse, af hvilke i hvert Fald nogle, om ikke alle, ville være dannede af Smørsyrebaciller.

(9). „*Pigmentbakterier*“ vil man, som alt ovenfor antydet, næsten altid finde i sine Tallerken-Aëroskoper og Vand-Analyser.

(10). *Fosforescerende Bakterier* skaffer man sig lettest fra Saltvandsfisk: Nogle Sild eller endnu bedre en *Kuller* henlægges på et kjøligt Sted og undersøges med kortere Mellemrum

i Løbet af de første Par Dage på Fosforescens i *fuldstændigt Mørke*. Man vil da se Fisken „lyse“ — undertiden i stor Udstrækning, Dage igjennem, undertiden kun på enkelte Punkter og i ganske kort Tid, idet de fosforescerende Mikrober hurtigt overgros af andre, ikke lysende Forrådnelsesbakterier. Fra et lysende Sted foretager man nu Spredninger i tre Fortyndinger i en K. P. Gelatine, til hvilken der i Stedet for $\frac{1}{2}$ pCt. er sat 3 pCt. Kogsalt. Frasåningen foretages bedst i *Mørke*, så at man dels kan opsøge de *kraftigst lysende* Partier af Fisken, dels kan overbevise sig om, at man virkelig har *fosforescerende Materie på Nålen*. Saltgelatine-Spredningerne henstilles på et *kjøligt* Sted og undersøges efter en å to Dages Forløb i *Mørke*. Selv om man ikke strax finder lysende Kolonier på Pladen, må man ej opgive Håbet, da Øjet efter den pludselige Overgang fra Lys til Mørke ofte først opdager dem *efter nogle Minutters Ophold* i det mørke Værelse. Fra en forholdsvis frit liggende Koloni foretager man nye Spredninger i Saltgelatine, indtil sikre Renkulturer ere nåede. Den lysende Bakterie, man således indvinder fra Fisk i vore Farvande, er som Regel B. Pflügeri, der ikke smelter Gelatinen og giver et grønt Lys.

Repræsentanter for de (11) sporebærende Baciller — de *mest sejglivede* af alle kjendte organiske Væsener — er det naturligvis let at skaffe til Veje. Exempler findes omtalte ovenfor S. 54 og 164. — Det kan tilrådes at gå frem på følgende Måde: Bouillon eller en anden let alkalisk, brugelig Næringsvædske hældes på Medicinflasker (100—200 Gmm.), og til hver af dem sættes en Theskefuld Havejord; Flaskerne lukkes med Vatprop og anbringes i Kochs Damp-Sterilisationsapparat, hvor de opvarmes til 100° i forskjellig lang Tid; man kan f. Ex. udtage en efter 5, en efter 15, en efter 30—45—60 Minutters Forløb. De henstilles ved 37° , og efter et Par Dages Forløb ville de da rimeligvis alle være Sædet for stinkende Forrådnelse, og man vil ved mikroskopisk Undersøgelse finde dem opfyldte af sporebærende Stave, af hvilke måske nogle danne Hinder på Overfladen, andre ere anaërobe Bundformer, og blandt hvilke man ofte vil kunne træffe Arter, hvis Sporer frembyde store Forskjelligheder i Størrelse, Form (runde, ovale) og Lejring (sidestillede, endestillede [„Trommestikformer“]). Ren-

kulturer får man da let ved at sprede i Næringsagar — såvel i flade som i høje Lag (aërobe og anaërobe Arter).

Skimmelsvampe og Gjærsvampe indfinde sig, som alt ovenfor bemærket, i store Masser sammen med Bakterierne på de med K. P. G. fyldte Tallerken-Aëroskopers Overflade, når de udsættes for Luften; men når man *særligt tager Sigte på* at indsamle Skimmel- og Gjærsvampe, bør man fylde sine Tallerken-Aëroskoper ikke med K. P. G. men med Ølurt-Agar eller endnu bedre med en Blanding af *Ølurt-Agar* og *Svedske-Agar*, altså med et *syrligt* Næringssubstrat, der byder Gjær- og Skimmelsvampe gunstigere Ernæringsbetingelser end Bakterierne. Her vil man da kunne gjøre sikker Regning på at finde ikke blot den uundgåelige

Penicillium glaucum, men også en eller flere Arter af Slægterne *Aspergillus* og

Mucor. Skulde mod Forventning ingen Mucoriner indfinde sig, behøver man blot at lægge lidt *Hestegjødning* hen i en Skål under en Glasklokke; efter nogle Dages Forløb vil man da altid se lange Mucor-Grene skyde frem fra Exkrementernes Overflade; når Sporehusene ere fuldt udviklede, kan man let med steril Pincet „afplukke“ et Sporehus og så det på Franskbrød eller Ølurt Agar, hvorfra man atter, hvis første Kultur ej er ren, let kan anlægge sikre Renkulturer.

Oidium lactis finder man som en hvidlig Filt på Overfladen af enhver Tallerken Tykmælk; når man fra denne Filt med Platinnål anlægger en Ridskultur på Overfladen af Ølurt-Agar, får man en kraftig Kultur, fra hvilken man, hvis den ej er ren, ved nye Ridskulturer eller om fornødent ved Pladespredning let kan få rene Oidium-Kolonier.

De forskellige Skimmelsvampes *Sporespiring* og hele *Udvikling fra Spore til Spore* kan man nu iagttage i fugtige Kamre (se S. 123) samt i Objektglaskulturer på flydende Næringssubstrat (S. 130—131) og i Reagensglas-„Minimalkulturer“ (S. 131).

Gjærsvampe. En Art af den *sporedannende* Slægt *Saccharomyces* kan let fås på ethvert Bryggeri; man rendyrker ved Spredning i Ølurt-Gelatine (eller Maltextrakt-Gelatine); studerer Knopskydningen og Kolonidannelsen i Ølurt i fugtigt Kammer (S. 123); sår i flydende og faste Næringssubstrater (s. S. 28—29

og S. 42 øverst); af unge og kraftige Kulturer i Ølurt udsår man rigelige Mængder på *Gipsblokke* (S. 49) for at studere Sporedannelsen.

Kolonier af de forskellige *Torula*-former (ikke-sporedannende) finder man altid på sine med Ølurt-Svedske-Agar fyldte Tallerken-Aëroskoper (s. S. 216).

Hovedinteressen knytter sig for Medicineren til

de pathogene Arter,

Smitte-Bakterierne. Inden vi går over til at skildre, hvorledes de vigtigste iblandt disse skulle indsamles og dyrkes, må nogle almindelige Bemærkninger forudskikkes.

Når det i det Følgende gennemgående tilrådes, hvor det er muligt, at lade Udgangsmaterialet *passere et Forsøgsdyr*, førend man anlægger sine Renkulturer, så må det vel mærkes, at dette jo i mange Tilfælde ingenlunde er *nødvendigt*; man kan meget vel umiddelbart fra tilsendt Blod og Organer af et Miltbrandskadaver eller et Rødsygekadaver, umiddelbart fra en Nekrose-Lever o. s. v. anlægge Spredningskulturer og derfra Renkulturer; men en forudgående Podning på Mus f. Ex. giver dels strax en Oplysning om Materialets Virulens, dels Udsigt til et fuldstændigt rent Såningsmateriale.

Endvidere må man ved slige Arbejder altid — for at undgå for mange Skuffelser — erindre følgende: Hvad der ovenfor er sagt om „Gjæringsbakterierne“ gjælder *mutatis mutandis* om Smittebakterierne: Det samme anatomisk-kliniske Sygdomsbillede såsom f. Ex. „Septikæmi“ og „malignt Ødem“ kan fremkaldes af *forskjellige Bakterierarter*, og man må være forberedt på, når man ved Indpodning af rådne Vædske, af Jord- eller Luft-Bakterier søger at skaffe sig en bestemt pathogen Mikrob, da at indhøste en anden, der fremkalder lignende Symptomer som den søgte. — Endvidere: I mange Tilfælde kunne Kulturer af samme Art optræde med ret betydelige *Raceforskjelligheder*, der give sig tilkjende både i Retning af Virulens, Levedygtighed, Kræsenhed, Form o. s. v. — en Omstændighed, der ofte kan virke vildledende. Gode Exempler herpå frembyder den *Fraenkel'ske Pneumokok* og *Streptococcus pyogenes*; dog er det med Hensyn til denne sidste som med så mange andre Bakterier vanskeligt at

afgjøre, om man har med *Arts-* eller *Race*forskjelligheder at gjøre. — Endelig: Visse Bakterier, som det er overordentlig let at dyrke fra Kulturkolbe til Kulturkolbe, når de først have vænnet sig til den saprofytiske Tilværelse, slå kun vanskeligt an på vore Næringssubstrater, når de overføres på dem direkte fra den syge Organisme; mest iøjnefaldende er dette for Tuberkelbacillens Vedkommende (s. ndf.)

Mange pathogene Mikrober føre som bekjendt en saprofytisk Tilværelse og ere så udbredte i „Circumfusa“, at man lettere kan skaffe sig dem fra rådrende Masser end fra syge Dyr og Mennesker (Ex.: *B. oedematis maligni*, *B. tetani*, s. ndf.), ja mange af de bakterielle Lidelser, der have spillet en stor Rolle under den nye Infektionspathologis Udvikling, kjendes kun som „Laboratorie-Sygdomme“ — tilfældigt fremkaldte hos Forsøgsdyrene ved en Indpødning af rådden Vædske (Ex.: *B. septichæmiæ cuniculi*, *B. septichæmiæ muris*, *Micr. tetragenus* o. s. v.). I det Følgende vil der hovedsageligt blive meddelt Vink angående Anlæggelse af Renkulturer fra *syge Mennesker* og *Husdyr*.

Staphylococcus pyogenes aureus finder man i de allerfleste *Furunkler*: En Dråbe *Furunkelpus* spredes i tre Fortyndinger i K. P. G., og man vil da efter nogle Dages Forløb i Gelatinen se de *gullige*, langsomt smeltende Kolonier, som ved at omsås på K. P. Agar oftest voxe med en smukkere og dybere gul Farve.

Streptococcus pyogenes vil man i *Furunkler* oftest søge forgjæves, men i *Phlegmoner* og navnlig i *pycæmiske Foci* vil man hyppigt finde den, når man spreder en Dråbe Pus i K. P. Agar eller sår i Bouillon og henstiller ved 37°; i Bouillon voxer den livligt og danner lange Kjæder, i K. P. A. danner den kun meget *små* Kolonier. — Fra *Rosenpatienter* (*Str. erysipelatis* er vistnok identisk med *Str. pyogenes*) er det ofte vanskeligt at indvinde den; hensigtsmæssigst er det — efter forudgående Desinfektion af Overhuden — med en steril Krumsax at udklippe et lille Stykke af det syge Hudpartis *ophøjede Rand*, kaste det i Bouillon og henstille ved 37°. Man kan da et Døgn senere finde en rigelig, fnugget Væxt af Streptokokker, som, hvis de skulde være blandede med andre

Former, rendyrkes ved Spredning i Agar. Deres Virulens prøves bedst ved *sukktan* Indsprøjtning på Kaninens ydre Øre, hvor de fremkalde Betændelse af meget forskjellig Grad, undertiden kun hurtigt forbigående, ubetydelig Rødme og Hede med neppe kjendelig Svulst, undertiden enorm Svulst med Blæredannelse, Nekrose og dødeligt Udfald. (Om Midlerne til at bevare dens Virulens s. ndf. S. 240).

Pathogene **Streptokokker** kan man endvidere næsten altid påregne at finde i rigelig Mængde i de *ikke-difteriske* membranøse Anginaer, der ere saa hyppige f. Ex. hos Scarlatinapatienter. Man sår fra Membranen på den skråtstillede Overflade af Serum (smlg. ndf. B. diphtheriæ) og henstiler ved 37°; 24 Timer senere ser Overfladen som oftest ved første Øjekast steril ud, men når man ser nøjere til — om fornødent med Loupe — opdager man en Mængde ganske overordentlig små Kolonier, der ved mikroskopisk Undersøgelse vise sig at være Streptokokker; disse sås nu i Bouillon (37°), hvorfra man om fornødent senere kan sprede i Agar. Ofte vise de således indvundne Kulturer kun en meget ringe eller slet ingen Virulens ligeoverfor vore almindelige Forsøgsdyr.

Af andre pyogene Bakterier, som man tilfældigt kan træffe i Renkulturer ved suppurative Lidelser, men som man dog har Udsigt til langt hurtigere at finde, når man søger dem ad andre Veje, kan nævnes: *Diplococcus* (*Pneumococcus*) *Fraenkelii*, *Bact. coli commune* og *Bac. typhosus*.

Diplococcus (Pneumococcus) Fraenkelii (*Streptoc. lanceolatus Pasteuri*). Et lille Stykke pneumonisk Lungevæv i rød Hepatisation eller den af et sådant Stykke Lunge udpressede Vævssaft — eventuelt fortyndet med steril Kogsalt-Opløsning — indpodes subkutant på en Mus; denne vil da som oftest efter en eller nogle få Dages Forløb dø med Kapsel-Diplokokker i Blod og Miltpulpa, hvor de let kunne eftervises såvel i ufarvede som i Gram-farvede Præparater (ufarvet Kapsel, hist og her lancetformede Led). Fra Blodet anlægges Stikkulturer i Serum (37°) og sås i Bouillon (37°), hvilken man et Døgn senere finder let plumret af Diplokokker og korte Strepto-Diplococcus-Kjæder med plumpe Led og ganske utydelige Kapsler. Også K. P. A. kan benyttes som Næringssubstrat. — Diagnosen

sikkres ved fortsatte Indpodninger fra Kulturerne på Mus. Da Kulturerne oftest meget hurtigt tabe deres Virulens, gjør man rettest i, hvis man ønsker at holde dem vedlige, om muligt vedblivende at pode fra Mus til Mus. — Kan man ej skaffe hepatiseret Lungevæv til Podningsmateriale, kan man benytte *rubiginøst Opspyt*, som udgnides i en Porcellæns-Morter med $\frac{1}{2}$ pCt. Kogsaltopløsning, indtil det bliver saa tyndflydende, at det bekvemt kan indsprøjtes på Musen med en Pravaz- (Straus) Sprøjte. — Kan man heller ikke få *rubiginøst Expektorat*, kan man prøve på at fremkalde Diplokok-Septikæmien hos Mus ved Indsprøjtning af *Spyt* fra forskellige *sunde* Mennesker; nogle af disse gå erfaringsmæssigt altid med den Fraenkelske Diplokok i Munden.

Bacterium coli commune er altid let at erholde, da den hører til den *sunde* menneskelige Tarmkanals konstante Beboere: Normale menneskelige Fæces spredes i flere Fortyndinger i K. P. Gelatine; de store, flade, let perlemoderglindsende, uregelmæssigt konturerede Kolonier på Overfladen ville vise sig at være dannede af *B. coli commune*, fra disse kan man direkte eller efter endnu en Spredning i Gelatine anlægge Renkulturer. Man mærke sig, at de i Dybden af Gelatinen liggende, små, runde, brungule Kolonier også kunne være (og i Exkrement-Spredninger oftest ere) Kolonier af *Coli commune*, der voxer på denne Måde i de fjernere fra Overfladen liggende Dele af Gelatinen. Af sygelige Tilstande, som denne Bacil undertiden fremkalder, må særligt nævnes visse Former af Cystitis.

Bacillus typhi er det på Grund af dens store Lighed med *B. coli commune* vanskeligt at rendyrke fra Tarmindehold eller Exkrementer. Hensigtsmæssigst er det fra et friskt Tyfusligns hyperplastiske Miltpulpa at foretage Flaskespredninger (tre Fortyndinger) i K. P. G., henstille ved 20° og afvente Udviklingen af Kolonier, der ligne *B. coli commune* (de overfladisk beliggende Tyfuskolonier ere i Almindelighed lidt *tyndere*, med et lidt mere blåligt Skjær); når man ved Såning fra en af dem har fået en Renkultur, gjælder det om *ved en Række sammenlignende Undersøgelser at forvisse sig om*, at det virkelig er *B. typhi* og ikke den meget lignende *B. coli*

eller en anden „pseudotyføs“ Bacil, man har for sig. Mange Forskjelligheder mellem dem ere saa ringe, at de ere uden synderlig praktisk Betydning for Diagnosen: Tyfusbacillerne have noget livligere Bevægelser, brede sig mindre på Overfladen af en Stikkultur i Gelatine, vise større Modstandskraft mod visse Giftstoffer. — De Prøver, som man altid i Tvivlsmaal skal anstille, ere: *Kartoffelprøven*, *Mælkesukker-Prøven* og *Indolprøven*; hertil kommer *Svinghårs-Undersøgelsen*.

a) *Kartoffelprøven*. *Gaffky*, hvem vi skyldte den første grundige Undersøgelse af Tyfusbacillen, mente i sin Tid at have fundet et ubedrageligt Kjendetegn på denne Art i dens *Væxt på Kartoffler*: Udsået i en ubetydelig Mængde (ved punktuelt Berøring med Podenål-Spidsen) i Centrum af en kogt Kartoffels sure Snitflade vil Tyfusbacillen ved 37° hurtigt brede sig over hele Fladen uden at denne viser anden *Forandring* end et lidt fugtigt Udseende; kun *mikroskopisk* lader dens livlige Væxt sig altså påvise, når man i et Par Centimeters Afstand fra Centrum kradser lidt af Overfladen og opslemmer det i stærkt fortyndet Karbol-fuchsin eller i Vand (hvor Stavenes *Bevægelighed* undersøges!). — I Modsætning hertil danner *B. coli comm.* et tæt, gulliggråt eller gulbrunt fernisagtigt Overtræk på Kartoffelen. — Det har nu vel vist sig, dels at andre, tyfuslignende Baciller (der imidlertid på *anden* Måde adskille sig fra *B. typhi*) også kunne voxer usynligt på sur Kartoffelflade, — dels at utvivlsomme Tyfusbaciller også undertiden kunne danne et omend ganske tyndt, lidt brunligt Overtræk på Kartoffler. Da imidlertid omvendt *B. coli* aldrig voxer usynligt på Kartoffel, bør Prøven altid i Tvivlstilfælde anstilles.

b) *Mælkesyreprøven*: *B. coli* forgjærer Mælkesukker til Mælkesyre, *B. typhi* ikke. Prøven foretages under to Former.

a) I et Par Reagensglas med steril Mælk sås *B. coli*, i et Par andre *B. typhi*; efter en Dags Henstand ved 37° vil Coli-Kulturens Mælk være koaguleret, Tyfus-Kulturens ikke. (Man må erindre, at Mælk er meget vanskelig at sterilisere; den må for Sikkerheds Skyld koges to eller tre Gange med et Døgns Mellemrum i Kochs Dampsterilisator og henstå et Par Dage på Prøve ved 37°, før den benyttes).

β) Til et Reagensglas med smeltet K. P. G. eller K. P. A. sættes med Pasteur-Pipette nogle Dråber af en steril *Mælkesukker-Opløsning*, derpå nogle Dråber (steril) *Lakmusopløsning* indtil tydelig Farvning; selv om Næringsgeléen giver tydelig alkalisk Reaktion på *Lakmuspapir*, vil den dog ikke ved Tilsætning af Lakmusopløsningen blive blå; den gjøres derfor stærkere alkalisk ved Tilsætning af nogle Dråber (steril) *Natron-Opløsning*, indtil Farven bliver tydelig blå, hvorpå man koger et Øjeblik over fri Flamme og lader stivne; når de tre nævnte Vædsker ere steriliserede ved Kogning, og når de tilsættes forsigtigt med sterile Pipetter, behøves ingen ny Dampsterilisation, der på Grund af den store Natronholdighed er mindre heldig; anlægger man nu Stikkulturer af de to Former i denne K. P. Lakmus-Mælkesukker-Agar og henstiller ved 37°, finder man næste Dag Lrftudvikling og Rødfarvning i Colon-Glassene, ikke i Tyfusglassene.

c) *Indolreaktion*. *B. coli* danner under Væksten i Peptonopløsning *Indol*, *B. typhi* ikke. Om *Indol* er tilstede, undersøges på følgende Måde: Til 10 Ccm. af en peptonholdig alkalisk Bouillon-Kultur af Bakterien, der har henstået et Døgn ved 37°, sættes først 1 Ccm. af en Opløsning af 2 Ctg. rent *salpetersyrligt Kali* i 100 Gram Vand, og dernæst nogle Dråber stærk *Svovlsyre*; når *Indol* er tilstede, vil Vædsken antage en rød Farve (*B. coli* comm.), ellers ikke (*B. typhi*).

d) *Svinghår* (Farvning s. S. 198). *B. coli* comm. har få, 1—4—5 Svinghår, *B. typhi* derimod meget talrige.

Bakteriologisk-klinisk Diagnose. Af alt dette vil man forstå, at den kulturielle Eftervisning af Tyfusbacillen ikke for Tiden har stor praktisk Betydning som diagnostisk Methode ved Sygesengen; kun når den findes i Renkultur i Abscesser eller, som det en sjelden Gang kan ses (Melchior), i cystitisk Urin hos Tyfuspatienter, lader den sig forholdsvis let påvise ved Dyrkning; vil man dyrke den fra en Patient med Tyfuslignende Symptomer for at nå til en sikker Diagnose, kan det vistnok kun lønne sig at tage Udsæd fra Miltpulpaen ved Punktur af Milten med Pravaz-Sprøjte gennem Bugvæggen (*Philipowicz, Chantemesse & Vidal*), — en Fremgangsmåde, der af let forståelige Grunde neppe vil få almindelig Anvendelse. Undertiden kan man dog også forsøge at eftervise den i

Patienternes *Urin*, når en tilstedeværende Albuminuri tyder på, at Nyrer er angreben. — Om Tyfusbacillens Eftervisning i Drikkevand s. S. 86.

Diplococcus gonorrhoeæ (*Gonococcus Neisser*) har hidindtil været anset for et af de mest kræsnede blandt de dyrkede Smitstoffer; smukke Kulturer af den var det kun lykkedes at få på Næringssubstrater, der indeholde *menneskeligt* Blodserum. Menneskeblodet tages bedst ved *Åreladning*, eventuelt ved Kopsætning (s. S. 156). Også Blod, opsamlet *sterilt* fra Navlesnoren i Efterbyrdsperioden, er med Held anvendt til Serumpræparation (*Bumm*). *Wertheim*, og efter ham andre, have fået kraftige Spredningskulturer ved følgende Fremgangsmåde: I nogle Glas, der indeholde *sterilt*, flydende Blodserum fra et Menneske, sår han gonorrhoeisk Pus på sædvanlig Måde i to eller tre Fortyndinger; til hvert af disse Serumglas sættes nu et to à tre Gange så stort Rumfang K. P. Agar, der er smeltet og afkølet til 40°; den således erholdte Serum-K. P. Agar hældes ud i små Glasæsker og henstilles ved 37°, hvor der da efter 24 Timers Forløb vil danne sig dugdråbelignende, næsten farveløse Kolonier, der indeholde Diplokokker af noget forskellig Størrelse; til Sikkring af Diagnosen må man som Regel lade sig nøje med at overbevise sig om, at de *affarves* efter den Gramske Methode og *ikke kunne voxe på almindelig K. P. Agar*.

I den allersidste Tid har *Turrò* meddelt en ny Kultur-methode for Gonokokker: Han angiver, at det er meget let at få Gonokokken til at voxe på *sure* Næringssubstrater: Sår man en Dråbe friskt (eller gammelt) Gonokok-Pus i normal, *sur*, steriliseret Urin og henstiller ved 37°, får man altid en rigelig Gonokok-Kultur, og sår man herfra på en *sur* Næringsgelatine, tilberedt af neutral Bouillon, 10 pCt. *ikke* neutraliseret Gelatine og 1/2—1 pCt. Peptonpulver, så udvikler der sig i *Spredningskulturer* små, elfenbenshvide, punktformede Kolonier, i *Stikkulturer* ved 22—24° i Løbet af to Dage en hvid linieformet Kultur, i *Overfladekultur* en hvid Linie, der breder sig til en båndformet, ejendommelig tverstribet, 1 Ctm. bred Kultur. Hvis *Turrò's* Iagttagelser blive bekræftede (endnu foreligge ikke de alene absolut afgjørende Forsøg på Mennesker), vil det for Fremtiden rimeligvis blive en let Sag at stille

kulturiel bakteriologisk Diagnose af Gonokokken, ved hvis mikroskopiske Diagnose man jo kan støde på store Vanskeligheder og må gå frem med stor Varsomhed (s. S. 196).

Bacillus diphtheriæ (Löffler). Med Platinspatel (Fig. 26 d) eller -øsken fjerner man et lille Stykke Membran fra Svælget af en Difteripatient og anlægger med den Ridskulturer på den skråtstillede Overflade af et Par Serumglas; når disse have henstået i 24 Timer ved 37°, vil man på dem finde talrige grålighvide, runde, hirse Korn- til knappenålshovedstore Kolonier; fra en af de mere frit beliggende tager man ved at berøre den med Spidsen af en bøjet Platinnål (Fig. 26 b) en ubetydelig Prøve, som opslemmes i en lille Dråbe stærkt fortyndet Karbolfuchsin og undersøges mikroskopisk; viser den sig at indeholde Baciller, der i Henseende til Størrelse, Farvelighedsforhold og Form (uregelmæssigt *kolledannede*, såkaldte „Involutionsformer“, der farves uligeligt, bæltevis og pletvis) stemme overens med Difteribacillerne, opfisker man den tilbageblevne Del af Kolonien med Platinnål, opslemmer og fordeler den ligeligt i et Par Dråber steril Bouillon og anlægger herfra friske Ridskulturer efter de S. 72 b givne Regler på Serum, der henstilles ved 37°; et Døgn senere sår man — efter forudgående mikroskopisk Undersøgelse — fra en af de nye Kolonier over i *Bouillon*, hvori der efter 24 Timers Henstand ved 37° vil vise sig en let Plumring med finfnugget Belægning på Væggen. Man må for Sikkerheds Skyld, som her beskrevet, foretage en ny Spredning på Serumoverflade fra de først anlagte Kolonier, fordi disse *særlig* ofte ere blandede med Kokker.

At den således indvundne Bouillonkultur virkelig indeholder den ægte Difteribacil og ikke en af de „Pseudo-Difteribaciller“, der kunne findes i Svælget både hos sunde og syge Mennesker — får man Vished for ved at indsprøjte en Kubikcentimeter af den under Huden på et Marsvin; når dette i Løbet af 24—48 Timer dør med grålig Infiltration og mer eller mindre hæmorrhagisk Ødem på Indpodningsstedet, med Svulst og enorm Blodoverfyldning af Binyrerne, med serøs Pleuritis og spredte pneumoniske Foci — så ved man, at man har den Löfflerske Bacil for sig; dog må man vel erindre, at også denne Mikrobs Virulens har sine Grader

oftest mangle nogle af de nævnte Forandringer, af hvilke Infiltrationen på Podestedet og Binyrelidelsen ere de konstanteste. Undertiden overleve Dyrene Podningen og slippe med en betydelig brædthård, senere nekrotiserende Infiltration på Podestedet. I nogle Tilfælde udvikler der sig før Døden *Paralyser* hos Forsøgsdyrene.

Den bakteriologisk-kliniske Diagnose af Difterien ved Dyrkning af den Löfflerske Bacil vilde ikke have stor praktisk Betydning, hvis den krævede et Dyreforsøg som nødvendigt Supplement; vel kan man ikke uden ved Virulensprøven afgjøre, om *en enkelt given Koloni* er dannet af Difteri- eller af Pseudo-difteribaciller, men man kan (Roux & Yersin) undgå Virulensprøven; når man fra hvert Serumglas undersøger et større Antal f. Ex. 8—10 Kolonier; Erfaringen har nemlig lært, at hos Patienter med membranøs Angina findes der aldrig et større Antal Pseudo-Difteribaciller i Svælget; man har fundet højst en eller et Par hos samme Individ; når man altså ved Undersøgelsen af 8—10 Kolonier, der have det beskrevne Udseende og ere udviklede *under de beskrevne Forhold* paa Serumoverfladen, i alle finder Difteribacil-lignende Stave, erklærer man Tilfældet for Difteri.

Iøvrigt bemærke man følgende: Såningen behøver ej at foretages ved selve Sygesengen; man kan anbringe den steriliserede Platinnål i et tykvægget Reagensglas ved Hjælp af en Vatprop eller endnu bedre ved Hjælp af en gjennemboret Kautschukprop (omtrent som Fig. 40 og 81 vise), „lade“ Nålen hos Patienten og senere foretage Såningen i Laboratoriet. Et Serumglas er tilstrækkeligt til hver Patient. Den mikroskopiske Undersøgelse kan allerede foretages efter 18—20 Timers Forløb. Ved denne sparer man megen Tid, når man i Stedet for at lave „Dækglaspræparater“ simpelthen anbringer en Dråbe af Farvevædsken på Objektglasset og opslemmer Kulturen deri; når man gør Dråben *meget lille*, hampefrøstor eller mindre, og med Nålespidsen anbringer Bakterierne lige i dens Rand på et enkelt Punkt, vil man, når Dækglasset er lagt på, oftest med blotte Øje kunne se, hvor Bakteriegruppen ligger, og i hvert Fald vil man let og hurtigt kunne finde den under Mikroskopet.

Bacillus influenzae, der utvivlsomt er Influenza'ens Smitstof, opdagedes og rendyrkedes af *R. Pfeiffer*, som fandt, at den ikke kunde voxe i vore almindeligt anvendte Næringssubstrater, men let lod sig dyrke på K. P. A., når denne var overhældt eller blandet med *Blod* (ikke Serum alene!) eller *Hæmoglobin*; yppigst Væxt fik han ved Tilsætning af *Dueblod*. Pfeiffer anbefaler følgende Fremgangsmåde: En af de karakteristiske gulgrønne, sejge Slimklumper fra en Influenzapatient's Opspyt eller lidt Saft fra en bronchopneumonisk Influenzalunge udrives med 1—2 Ccm. Bouillon, indtil man får en *kun let plumret* Emulsion. Man tilbereder nu nogle *Blod-Agar-Glas* ved at lade noget under sterile Kauteler (s. S. 155) i Pasteur-Pipette opsuget Dueblod dryppe ned over den skråtstillede Overflade af K. P. A.; på denne udsås med Platinøsken Influenza-Emulsionen, og *samtidigt* udsår man denne *til Kontrol* på Overfladen af almindelig K. P. A.; alle Glassene henstilles ved 37°. Et Døgn senere vil man finde talrige, yderst *små*, oftest kun med Loupe synlige, *glasagtigt* gjennemsigtige Kolonier af Influenzabacillen (små Stave, lidt tyndere end Museseptikæmbacillen, omtrent dobbelt så lange som brede; farves på Dækglass ved 5—10 Minutters Ophold i *meget* fortyndet [blegrød] Karbofuchsin, farves *ikke* efter Gram); på Kontrolglassene ingen Væxt eller kun få Kolonier af Streptokokker eller andre, tilfældigt tilblandede Mikrober fra Mundhule eller Svælg.

Spirillum cholerae asiaticæ (Koch). Fra en Kolerapatient's risvandslignende Udtømmelser opfisker man med Platinøsken et Slimfnug, anlægger dermed Spredningskulturer (tre Fortyndinger) i K. P. Gelatine med *tydelig alkalisk* Reaktion og henstiller i Thermostat ved 20°. Et Par Dage senere vil man i det mindste i én af Fortyndingerne finde vel adskilte Kolonier af Koleraspirillen, som allerede for det blotte Øje frembyde et ret karakteristisk Udseende, idet de på Grund af den begyndende Smeltning præsentere sig som ganske små „med et Huggejern frembragte“ Huller i Gelatinen; ved 50—100 Ganges Forstørrelse ses de cirkelrunde, skarprandede med et blegere (smeltet) Randparti og et mørkere, uregelmæssigt kornet Midterparti. Man berører en slig Koloni med Spidsen af Platinnålen, opslemmer i fortyndet Karbofuchsin,

og når man ved Mikroskopet har overbevist sig om, at den indeholder „Kommabakterier“ — anlægges man fra den Renkulturer i Bouillon o. s v.

Lige så let som det er på den beskrevne Måde at skaffe sig en Renkultur af *Sp. cholerae asiaticus*, når man er i Besiddelse af en Kolerapatientens friske risvandslignende Exkrementer, lige så vanskeligt kan det være med fuldkommen Sikkerhed at afgjøre, om en *given Spiril* er den Kochske Kolerabakterie eller en nærstående Art; thi på den ene Side kan Koleraspirillen variere en Del både i morphologisk, fysiologisk og kulturel Henseende, og på den anden Side har man i de senere År opdaget flere og flere Arter, der ligne den Kochske *Spiril* meget (s. S. 130 Anm.).

Hvad angår den bakteriologisk-kliniske Diagnose af diarrhoeiske Tilfælde, som forløbe med mer eller mindre „koleralignende“ Symptomer, da er denne undertiden såre let at stille: Når man har en med alle Forsigtighedsregler opsamlet Portion Risvandsudtømmelser, der i Gelatinespredninger viser sig at indeholde (næsten) en Renkultur af Spiriller, som makro- og mikroskopisk have Koleraspirillens Udseende, kan man trygt stille Diagnosen „asiatisk Kolera“; — men undertiden får man til Undersøgelse diarrhoeiske eller normalt udseende Exkrementer fra mistænkelige Patienter, hvis Udtømmelser på den ene Side ere opsamlede og forsendte, ganske uden at man har sikket sig mod fremmede Tilblandinger, og som på den anden Side indeholde så få Baciller, at Gelatinespredningen umiddelbart fra Exkrementerne giver negativt Resultat, og at Spirillerne først komme for en Dag, når de mangfoldiggjøres gennem en „Schottelius-Kultur“ i Pepton. I slige Tilfælde er det, at man må være særligt på sin Post ligeoverfor de muligvis tilfældigt tilblandede, uvedkommende *Spiril*-Arter.

Det kan anbefales ved den bakteriologiske Analyse af mistænkelige Exkrementer at gå frem på følgende Måde:

(1). Af Exkrementerne laves en Del Dækglaspræparater (af Risvandsudtømmelserne opfisker man *Slimfnuggene*), som farves med fortyndet Karbolfuchsin og undersøges mikroskopisk; indeholde de Masser af „Kommabaciller“, ordnede i Hobe med Krumningen vendende samme Vej, så er der (Koch) en til

Vished grændsende Sandsynlighed for, at Tilfældet er asiatisk Kolera. Dog bør man *aldrig* slå sig til Ro hermed, men strax skride til *Anlæggelsen af Kulturer*, idet man

(2). fra Exkrementerne (Slimfnug!) foretager *Gelatinespredning* (tydelig alkalisk Gelatine!) i tre Fortyndinger; godt er det at anlægge en Serie i Flasker (Sikkring mod Forurensning, Fig. 38) og en Serie i flade Glasæsker (lettere Frasåning, Fig. 17); Spredningerne henstilles i *Thermostat* ved 20°.

(3). Samtidigt udsår man lidt af Exkrementerne (om muligt Slimfnug) i nogle Kulturapparater, der indeholder en vandig *Opløsning af 1 pCt. Pepton og 1/2 pCt. Kogsalt* eller endnu bedre — af Hensyn til den senere Undersøgelse på „Kolerarødt“ (se ndf. under (10) S. 229) — i en med lidt *salpetersurt Natron* tilsat Pepton-Kogsalt-Opløsning. Denne Dyrkningsmethode har navnlig stor Betydning, *når der i Exkrementerne kun findes få Koleraspiriller*; disse ville nemlig (s. S. 86—87) under de givne Forhold i Løbet af de første 6—12 Timer få Forspring fremfor andre Fæces-Bakterier og findes i *talrig Mængde på Overfladen* af Peptonopløsningen, selv om de kun vare tilstede i sparsom Mængde i det Udsæede.

(4). Sex—tolv Timer efterat Peptonkulturerne ere anlagte, undersøger man forskellige *fra Overfladen* tagne Prøver mikroskopisk, og hvis man deri finder talrige Kommaformer og Spiriller, anlægges man *fra Overfladen*

(5 a). en ny Gelatinespredning i tre Fortyndinger for om fornødent at sikre sig spirilrigere Spredninger end de, der toges umiddelbart fra Exkrementerne. [Dernæst kan man også følge Kochs Råd og allerede på dette Stadium

(5 b). fra Peptonoverfladen anlægge Ridskulturer på Agar-overflade for desto hurtigere at kunne foretage Podningsforsøg (s. ndf.)] — Endvidere

(6). optager man 24 Timer efter Udsåningen Undersøgelsen af Gelatinespredningerne med svag (40—70) Forstørrelse for at spejde efter karakteristiske Kolerakolonier, der allerede på dette Tidspunkt ville kunne findes i deres grovt-granulerede Stadium. (Fra en Tallerkenkultur, i hvilken Kolonierne ligge tæt, kan man nu tage smukke Aftrykspræparater, s. S. 189). — Man fortsætter Undersøgelsen af Gelatinespredningerne med

passende Mellemrum, og såsnart man har fundet en fritliggende karakteristisk Koloni, i hvilken man mikroskopisk har eftervist Spiriller, foretager man fra den

- (7). Såninger i Pepton-Kogsalt-Opløsning (Thermostat 37°).
- (8). Stikkulturer i K. P. G. (Thermostat 20°).
- (9). Overfladekulturer på K. P. A. i Reagensglas eller Glastallerkener (Thermostat 37°).

12—24 Timer senere foretager man

- (10). med Peptonkulturen Proven på „Kolerarødt“ (Bujwid, Dunham): Man sætter til *Ren*kulturen $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ af dens Rumfang fortyndet Svovlsyre (der er absolut fri for Salpetersyring!), blander omhyggeligt ved Rystning, og vil kort efter se Kulturen antage en rød Farve, der efter nogen Tids Forløb bliver kraftigere.

Kolerarødt-Reaktionen er ikke andet end den ovenfor under B. typhi omtalte Nitroso-Indol-Reaktion (*Salkowski*), som i Kolerakulturerne kan fremkaldes ved Tilsætning af Svovlsyre *alene*, vistnok fordi denne Spirilart (i Modsætning til *de allerfleste* andre) formår at afilte de i Peptonopløsningen tilstedeværende Nitrater til Nitriter. Forudsætningen for, at Reaktionen kan komme i Stand, er derfor, at Nitraterne ere tilstede i Næringsvædsken i tilstrækkelig rigelig Mængde. Oftest vil der i den almindelige Pepton-Kogsalt-Opløsning (S. 28, 2)) være en ringe Mængde Nitrater tilstede (som Forurensning); herpå bør man dog ej løbe an, men bør foretage Dyrkningen i en efter *Bleich's* Formel tilberedt Næringsvædske: Pepton sicc. (Witte) Gmm. 2. Chloreti natrici puriss. Centigg. 50. s. i Aq. destill. Gmm. 100. adde: Solut. nitratis kalici puriss. (0.08—100.00) gutt. 30—50. — Desuden bør man altid, førend man benytter en Pepton-Opløsning til Kolerarødt-Reaktion med ubekjendte Bakterier, prøve dens Brugbarhed ved Hjælp af en Kontrolsåning af Koleraspiriller.

- (11). Såsnart der på Agaroverfladen er kraftig Væxt af Spiriller, tager man med en Platinøsken en ringe Mængde af Kulturen — Koch tilråder c. $1\frac{1}{2}$ Milligram til 300—350 Gram Forsøgsdyr — opslemmer det i en Cctm. Bouillon og indsprøjter det i Underlivshulen på et Marsvin (s. S. 140), som da efter et Par Timers Forløb skal blive sygt og i Løbet af

12—36 Timer skal dø under hurtigt Temperaturfald (indtil 30° i Rektum!)

(12). Gelatine-Stikkulturerne iagttages i de følgende Dage, og man overbeviser sig om, at de smelte Gelatinen langsomt under den ejendommelige „Tragt“- eller „Luftblære“-Dannelse.

Dette er Gangen i en regelret og fuldstændig Exkrementundersøgelse på Koleraspiriller; dog er Dyreforsøget kun nødvendigt i tvivlsomme Tilfælde. Man bør gjøre sig til Regel altid at betinge sig *mindst* to, helst tre—fire Dage, førend man afgiver Erklæring om det undersøgte Tilfældes Natur.

Man bør indøve den bakteriologiske Koleradiagnose dels ved at arbejde med Renkulturer af *Spir. cholerae asiaticum*. — dels ved at analysere normale Fæces, til hvilke der er sat større eller mindre Mængder Kolera-kulturer, og i hvilke man da opsøger Kolerakolonierne mellem de andre Fæcesbakterier og rendyrker dem — dels ved at analysere Blandinger af en Kolerakultur med Kulturer af de den nærtstående Arter, hvis man kan skaffe sådanne til Veje (*Spirillum Prior-Finkler*, *Sp. tyrogenum*, *Sp. aquatile*, *Sp. Berolinense*, *Sp. Dunbar* (fosforescerende), *Sp. Danubicum* o. s. v.).

Bacillus tuberculoseos hominis (Koch). Tuberkuløse Foci fra friske menneskelige Lig eller operativt fjernet, friskt tuberkuløst Materiale indpodes under *Huden* eller i *Peritonæalhulen* på et modtageligt Forsøgsdyr (Kanin eller Marsvin); de skønneste experimentelle Tuberkuloser får man ved intra-peritonæal Indpodning på Marsvin. Efter nogle Ugers Forløb vil der efter subkutan Podning føles en tydelig, fast Infiltration på Podestedet og Svulst af de nærliggende Lymfekirtler; på dette Tidspunkt er der allerede rigelig Bacil-Udvikling på de to nævnte Punkter, og man vil fra dem kunne foretage Såning. *Malm* tilråder endog særligt at så fra en sådan svullen, endnu ikke ostet Lymfekirtel, 14 Dage efter at den subkutane Podning er foretaget. Man kan imidlertid også opsætte Dyrkningsforsøgene, indtil Dyrets fremskridende Afmagring viser, at det har en *udbredt* Tuberkulose, derpå slagte det og udvælge flere tuberkuløse Knuder fra dens indre Organer til Udsæd. Det tuberkuløse Væv udrives med Sand i lidt Bouillon (s. S. 151 Anm.), og Såningsmaterialet udgnides *i ikke for ringe Mængde* på Overfladen af skråtstillet *Glycerin-Serum* (eller Glycerin-Serum med 1 pCt. Pepton og 2 pCt. Drue-

sukker) i et *stort Antal* Reagensglas f. Ex. 15—20; disse henstilles derpå, forsynede med Kautschukhætter ved 37°—39°. Når man er *heldig*, vil man da efter et Par Ugers Forløb se små grålige, skjælagtige Kolonier udvikle sig på Overfladen i nogle af Reagensglassene; disse Kolonier, der kun yderst langsomt tiltage i Omfang, ville, når de efter nogle Omsåninger have vænnet sig til et saprofytisk Liv, voxe livligere på Glycerin-Serum; man vil da også med Håb om at få en kraftig Udvikling kunne omså dem på Overfladen af *Glycerin-Agar* (S. 41 Anm.), men de smukkeste Dyrkningsresultater får man dog, når man (*Koch*) ved Hjælp af en Platinøsken (Fig. 26 c.), der er bøjet under en ret Vinkel med sin Stilk, *varsomt lægger* en større, skjælformet Koloni således hen på Glycerin-Bouillon (S. 27 c.), at den *svømmer* på Overfladen, dækker med Kautschukhætte og henstiller ved 37°—39°. Bacillen vil da i Løbet af 2—4—6 Uger brede sig som en tør, rynket Hinde ud over en stor Del af Overfladen. Til slige Kulturer kan jeg anbefale de til Pladespredning benyttede firkantede Flasker: De tilsås i stående Stilling (Fig. 12); når efter nogle Ugers eller en Månedes Forløb hele Vædskeoverfladen er bevoxet, lægges de forsigtigt ned på Bredsidens (Fig. 38), og Bacillerne voxe da videre på den langt større Vædskeoverflade, der nu tilbydes dem. Ved Omsåning tager man altid Udsæden fra Hindernes *Randpartier*.

Når Tuberkelbacillen først gennem flere Generationer har voxet saprofytisk på gode Næringssubstrater, er det ingen Kunst ved fortsat Omsåning at holde Kulturerne vedlige, men *Forsøg på at dyrke dem umiddelbart fra tuberkuløse Foci mislykkes meget ofte* — man kan uden Overdrivelse sige som oftest — et Faktum, der forunderligt nok sjældent eller aldrig fremhæves af Forfatterne. I den seneste Tid har *Malm* fået gode Resultater ved at så fra *tuberkuløst Materiale, som indpodes i Marsvinets Peritonæalhule, indhyllet i en Kollodiumkapsel*. Kapselen laves ved at dyppe en steril Glasstav ned i Kollodium, indtil der har dannet sig en Hinde; denne tages af, og der indlægges i den et Stykke tuberkuløs Kirtel eller Milt, Kapselen dyppes nu igjen ned i Kollodium, så at der dannes en lukkende Hætte, og det hele lægges ind i Marsvinets Bughule.

Tre Uger senere dræbes Marsvinet, og der sås fra den i Kollodiumkapselen ansamlede serøse Vædske.

Det er af de ovenfor beskrevne Overfladekulturer i Bouillon, at *Tuberkulinet* fremstilles ved Inddampning i en Porcellænskål over Vandbad til en Tiendedel af det oprindelige Rumfang; Filtration gennem Papirfilter; definitiv Sterilisation i Kochs Dampsterilisationsapparat i et Kvarter.

Bakteriologisk-klinisk Diagnose af Tuberkulosen stilles jo i det langt overvejende Antal Tilfælde ved simpel 1) *mikroskopisk Undersøgelse* af Snitpræparater (Prøveexcision) eller Dækglaspræparater, farvede efter den Ziehl-Neelsenske Methode, eventuelt efter forudgående Centrifugering af Vædsken (Pleuritisvædske, Urin); om Anvendelse af 2) *Dyrkning* direkte fra Patienten i diagnostisk Ojemed kan der efter det ovenfor (S. 231) bemærkede ej ret vel være Tale; derimod kan man undertiden med Fordel gribe til 3) *Indpodningsforsøget* som diagnostisk Hjælpemiddel, navnlig da i Form af Indpodning i *Kaninens forreste Øjenkammer* (s. S. 141); denne Indpodning giver undertiden positivt Resultat i Tilfælde, hvor der ej fandtes Tuberkelbaciller ved mikroskopisk Undersøgelse af udskårne eller udskrabede Vævsdele. Endvidere må 4) *Tuberkulinprøven* regnes med til de „bakteriologiske“ diagnostiske Metoder.

Bacillus tuberculozeos avium, der vistnok kun er en Varietet af den foregående, er *ulige lettere at dyrke umiddelbart fra de syge Fugles* (Høns, Duers o. a.) tuberkuløse Foci end hin: De tuberkuløse Masser knuses mellem Objektglas eller udrives med Sand, hvorpå de udgnides på Overfladen af *Glycerin-K. P. Agar* (bedre er Gl.-Serum) eller kastes i *Glycerin-Bouillon*; de med Kautschukhætte forsynede Kulturapparater henstilles ved 37°—39°, og nogle Uger efter vil der være tydelig Væxt — på Gl.-A. tørre, skjælformede Kolonier, i Gl.-B. *diffus og fnugget Plumring*; Væksten bliver altid langt livligere end Mennesketuberkulosens.

Ved Podninger på Høns og Duer bør man altid indføre de tuberkuløse Væv eller Kulturer i *Peritonæalhulen* — en Operation, som Fuglene tåle påfaldende godt. Fugletuberkulosen forløber undertiden yderst langsomt og latent, i hvert Fald

hos Duerne, hvor man År og Dag efter Indpodningen kan finde en smuk Inokulationstuberkulose, uden at Dyrene have frembudt nogen kjendelig Forstyrrelse af Almenbefindendet.

Bacillus mallei (Löffler & Schütz). Fra en snivet Hests subkutane „Springormebylder“ tager man efter kunstmæssig Sterilisation af Huden Pus, der indpodes under Huden på nogle *Markmus* (ikke Husmus!) og *Marsvin* (Lårets Indside). Tillige kan man prøve at anlægge Ridskulturer på Kartoffeloverflade (37°). — Frembyder den snivede Hest ingen Springormbylder, og nødes man til at bruge dens *Næsesekret* som Udgangsmateriale, må man være forberedt på, at mange af Forsøgsdyrene (navnlig af Musene) gå til Grunde af Septikæmi. — Har man et snivet Hestekadaver til Rådighed, poder man fra *Lymfekirtler* eller *Lungeknuder*. Hos Markmusen tager Sniven et akut Forløb; de ville dø efter en Ugestids Forløb med Snivebaciller i Blodet og små follikellignende Sniveknuder i den svulne Milt. Hos Marsvinene forløber Sygdommen mere kronisk, og når de dø, finder man som hyppigste anatomiske Forandringer foruden et Ar eller et Ulcus på Podestedet, Svulst og Suppuration af den tilhørende Lyskekirtel, suppurativ Orchitis og Epididymitis, suppurative Arthroiter, små Sniveknuder i Lunge og Milt — men ofte tillige Snivebetændelser i mange andre Organer. — Musens Hjerteblood eller Miltvæv, Marsvinets Pus (navnlig fra Kirtel, Testis og Led) sås på Kartoffel og giver ved 37° en rigelig *brungul* Væxt. Snivekulturene ere lette at farve, såvel ved Opslemning i Farvevædskerne som også i Dækglasspræparater ved Hjælp af varm Karbolfuchsin. Derimod ere Snivebacillerne i *Snit* og i *Dækglasspræparater af Vædsker og Væv* vanskeligere at farve end nogen anden kjendt Bakterie; den kan eftervises ved Karbolmethylenblåt-Methoden (Nr. II og Nr. X); bedre Resultater giver dog følgende Fremgangsmåde: Snittene befries for al Alkohol ved at ligge 24 Timer i Vand, derpå lægges de i Karbolmethylenblåt i 5 Minutter, afskylles i Vand og affarves nu 1 à 2 Sekunder i en Opløsning af 75 Dele 1/2 pCt. Eddikesyre og 25 Dele 1/2 pCt. vandig Tropæolin — efter derpå at være afskyllet i Vand, udbredes Snittet på Dækglasset og behandles som S. 193 η anført: Man suger forsigtigt Vandet bort med Filtrepapir, påskynder

Lufttørringen ved Ballon-Blæse-Apparat og tørrer endelig fuldstændigt ved c. 30° på en Glasplade (Kühne); derefter Cederolje, Xylol og endelig Kanadabalsam.

Snivebacillen må omgås med *særlig Varsomhed*; flere Laboratorie-Infektioner med dødeligt Udfald kjendes.

Bacillus anthracis (Davaine). Lidt Blod eller Væv (Milt!) fra et Miltbrandskadaver indpodes under Huden på en Mus; når den en til to Dage senere er død, sår man fra dens Hjerteblod og Miltpulpa i Bouillon og på Overfladen af skråtstillet K. P. A.; hvis der da efter 24 Timers Henstand ved 37° findes *vatlignende* Kolonier svævende i den *klare* Bouillon, kan man være sikker på at have en Renkultur af *B. anthracis* for sig, og den mikroskopiske Undersøgelse vil vise, at den dannes af lange, mer eller mindre sammenfiltrede, ofte svagt grynede Tråde, der hist og her vise tydelig Leddeling. — I Agar-Kulturerne vil man, når de have henstået en eller et Par Dage ved 37°, finde meget livlig *Sporedannelse* — medens denne kun går langsomt for sig og ofte udebliver i Bouillon- og Gelatine-kulturer.

Bacillus erysipelatis suis (Pasteur & Thuillier). Lidt Miltvæv eller et lille Stykke svullen, hyperæmisk Lymfekirtel af et rødsygt Svinekadaver eller et Stykke af de i Klapperne ofte siddende Vegetationer indpodes under Huden på Mus eller Due; når Forsøgsdyret efter nogle Dages Forløb dør, gøres fra dets Hjerteblod Stikkulturer i et højt Lag K. P. Gelatine, hvor der da i Løbet af 3—4 Dage langs hele Podestikket vil udvikle sig en ejendommeligt skyet og busket, ufarvet Vegetation, der er lige så kraftig eller kraftigere i de dybe Lag af Gelatinen end i de øverste. Sås Blodet i Bouillon (37°), fås allerede næste Dag en diffus, svag Plumring, der undertiden er så ringe, at den først ret træder frem, når Reagensglasset holdes op imod Lyset og rystes en Smule.

Bacillus cholerae gallinaceæ (Pasteur). Hjerteblod af et Hønskolera-Kadaver podes subkutant på Mus eller Due (over Brystmuskelen), der da i Almindelighed ville dø inden 24 Timers Forløb — Duen med hæmorrhagisk Betændelse i Brystmuskul (Podested) og Tarm. Fra Hjerteblodet sås i Bouillon og gøres *Stikkultur* i Serum eller K. P. A.; efter 24 Timers Henstand finder man

da svag diffus Plumring af Boullonen og en fin trådformig Væxt langs Podestikket i de faste Næringssubstrater. Fra Forsøgsdyrenes Blod fås navnlig ved Farvning med fortyndet Karbolfuchsin meget smukke Præparater af de ganske korte, i Endepartierne stærkere farvede Stave.

Bacillus oedematis maligni, „Vibrio septique“ (opdaget 1877 af Pasteur, der dyrkede den anaerobt og beskrev dens Udviklingshistorie), er meget udbredt overalt i dyrket Jord; findes også hyppigt i Planteædernes Tarmkanal. Når man med Lancet gjør et Indstik gennem Huden hos Mus (Halerod) eller Marsvin (Lår), med Sonde danner en lille Poche i det subkutane Væv og i denne indfører en Del Havejord, vil Dyret meget hyppigt et Par Dage senere dø med et fra Podestedet udgående, bacilrigt, udbredt Ødem. En Indpodning fremkalder ingenlunde altid „det magline Ødem“, da den eftersøgte Bacil ikke overalt er tilstede i så rigelig Mængde, at den får Overtaget over andre pathogene „Jordbaciller“; undertiden fremkalder Jordpodningen kun en lokal *Suppuration*, undertiden *Tetanus*; endvidere kunne også andre Mikrober end Pasteurs „Vibrio septique“ fremkalde et *ondartet Ødem*. De mindre modstandskraftige Jordmikrober undgår man ved at behandle Jorden før Indpodningen som af Pasteur foreslået: Udgnde Jordprøven med Vand, lade den bundfælde sig, afhælde den ovenstående plumrede Vædske, atter lade denne klare sig ved Bundfældning en eller to Gange; dette fine Sediment opsamles, opvarmes i 3—4 Minutter til 90° og indsprøjtes under Huden på Marsvin, opslemmet i Vand.

Vil man efter en vellykket Indpodning rendyrke Bacillen fra det døde Dyr, skal man ikke så gjerne tage Materialet fra Podestedet, hvor man må vente at træffe det blandet med andre Arter, men fra *Peritonæalhulen* eller *Blodet*; begge Steder findes den kun i Stav- og Trådform (Sporedannelsen kommer først i Kulturerne) — i Blodet så sparsomt, at man ofte forgæves søger den i en hel Række Præparater, i Peritonæalhulen navnlig rigeligt, når Dyret har henligget dødt nogle Timer (smukke, fuchsinfarvede Dækglaspræparater fra Leveroverfladen!); dens *lange*, trådformede, bøjelige Stave (Skjelne-

mærke fra den *korte* B. Chauveau!) bevæge sig i ejendommeligt værdige og langsomme Bugtninger under Mikroskopet. Roux tilråder ikke at så umiddelbart fra Blod eller Peritonæalvædske, men at opsuge Blodet i Hårrør eller tenformede Rør (Fig. 92), tilsmelte, henstille ved 37°; et Døgn senere viser en tydelig Luftblæredannelse, at Bacillerne have udviklet sig (smlg. S. 109 Nr. 3); den mikroskopiske Undersøgelse viser Sporedannelse — og dette sporerige Blod benyttes nu til Anlæggelse af Liboriuskulturer i K. P. A. eller Stikkulturer i høje Agar- eller Serumlæg, kort sagt til Anaërob-Dyrkning i de almindelige, faste og flydende Substrater. I sukkerholdige Opløsninger udvikler Mikroben Gjæring, i Agar og Gelatine Gasblærer af Kulsyre og Brint.

Bacillus tetani findes ligesom den foregående meget udbredt i Jorden (*Faber* fandt den således i 16 af 17 Jordprøver fra København) og i Tarmindeholdet hos Planteædere, især Heste. Sygdommen er derfor let at fremkalde hos modtagelige Dyr som Mus og Marsvin ved subkutan Indpodning af Jord (s. ovf. u. malignt Ødem). Da den imidlertid ikke som Ødembacillen er at finde i ren Tilstand i indre Organer, men altid må søges på Indpodningsstedet, hvor den er blandet med andre Bakterie-Arter (et Undtagelsestilfælde er iagttaget af Sanchez-Toledo & Veillon), er den ikke let at rendyrke, og det var jo først, efterat mange Forskere årevis forgjæves havde prøvet deres Lykke, at det endelig 1889 lykkedes *Kitasato* at dyrke den rent fra tetanisk Pus ved Pasteurisation af Podematerialet og påfølgende Spredning under Brint i Kjødvands-Pepton-Druesukker-Gelatine. Det synes, som om Udsigterne til at få en Renkultur ere bedre, når man som Udgangsmateriale benytter Pus fra Tetanuspatienter, end når man dyrker fra Jord og jordpodede Dyr. Det tilrådes da først at så Pusset på Agar eller Serum, helst anaërobt, og lade det stå nogle Døgn ved 37°; derpå opslemmer man den udviklede Blandingskultur i Vand eller Bouillon, Opslemningen opvarmes i en Time til 80° i Vandbad, og man foretager nu Pladespredning under Brint (S. 120) i K. P. Gelatine med Tilsætning af 2 pCt. Druesukker og henstiller ved 20°. Eller Pusset sås anaërobt i friskt (!) tilberedt (s. S. 25) Bouillon og henstilles

ved 37° i 5—6 Dage; Kulturen opvarmes i en Time til 80°, og denne Fremgangsmåde kan om fornødent gjentages en eller to Gange, førend man endelig spreder anaërobt i Næringsgelatinen. — Hensigten med denne forberedende Behandling af Podematerialet er, som det let vil forstås, den først at forøge Tetanuskimenes Antal i Forhold til andre tilstedeværende Kim og dernæst at tilintetgjøre alle de ikke sporebærende Former og de mindre modstandskraftige Sporer, der ikke således som de ganske enormt sejglivede Tetanus-Sporer kunne tåle den langvarige Opvarmning.

Blandt de Kolonier, som efter *nogle (3—4) Dages* Forløb have udviklet sig i den anaërobe K. P. Druesukker-Gelatine, opsøger man nu Tetanus-Kolonierne, der i Gelatinen præsentere sig som tætte, runde, *af en fin Strålekrands* omgivne Masser og fremkalde en meget langsom Smeltning af Gelatinen. Fra disse Kolonier anlægges man da Liborius-Kulturer i højt Gelatine- eller Agar-Lag, og kan i det Hele foretage Dyrkningen på alle de i Kap. VIII angivne Måder i de almindelige Næringssubstrater; dog mærke man sig, at Tetanusbacillen kun trives i Bouillon, når den er ganske *friskt tilberedt*, og at man får livligere Væxt, når Boullonen er peptonfri.

I Gelatinekulturerne ved 20° finder man i den første Tid kun Stave og Tråde; først efter 8—10 Dages Forløb kan man vente at træffe de kuglerunde, endestillede Sporer; i Agar-kulturer ved 37° er der allerede livlig Sporedannelse efter halvandet til to Døgn's Forløb.

Bacillus Chauveaui er ligesom *Ødembacillen* en udpræget anaërob Bakterie, der hos Ungkvæget fremkalder den her i Landet sjældne, i Norge ret hyppige „Raslesyge“ (brandigt Emfysem, *charbon symptomatique*).

Af vore almindelige Forsøgsdyr er kun *Marsvinet* modtageligt for denne Sygdom. Kanin, Mus og Fjerkræ ere uimodtagelige ligesom Hund og Svin; den kan indpodes på Ged og Får, men de få den kun sjældent spontant; hos Hesten kan den en sjelden Gang (Malm) findes.

Dyrkningen af *B. Chauveaui* er ofte forbunden med Vanskelighed og mislykkes undertiden uden påviselig Årsag. I flydende Næringssubstrater taber den hurtigt sin Virulens. For at få

den i Kultur udriver man et Stykke af den sortrøde, af Luft udspilede, syge Muskulatur fra et af Raslesyge dødt Dyr med lidt sterilt Vand, og den blodblandede Vædske indsprøjtes subkutant eller intramuskulært på Låret af et Marsvin. Inden et Par Dage vil Dyret være dødt med sorterød Misfarvning og Svulst af Musklerne på Podestedet samt blodigt Ødem i Omfanget.

Fra Ødemvædsken, fra Muskulaturen eller fra Peritonæalvædsken, der alle indeholde Baciller i Mængde, sår man enten i Druesukker-Bouillon og dyrker under Brint ved 37°, hvorved man allerede efter 24 Timers Forløb får fnugget Uklarhed og Luftudvikling i Vædsken, eller man foretager Spredninger i Druesukker-K.-P.-Agar i højt Lag, eller under Brint, og foretager fra Kolonierne anaërobe Stikkulturer. Hensigtsmæssigt er det at lade Ødem- eller Peritonæalvædsken henstå et Døgn ved 37°, førend man foretager Såningen (som ved malignt Ødem omtalt).

Bacillen holder sig årelænge virulent i den tørrede syge Muskulatur; da den som anført ofte er vanskelig at dyrke, og Kultureernes Virulens svækkes, kan man bekvemmere opbevare Raslesygens Virus til Laboratoriumsbrug i Form af *tørrede Muskelstykker* eller *Muskelpulver*. Enten skærer man den syge Muskels mest angrebne (mørkeste) Partier i Stykker af $\frac{1}{2}$ Kubikcentimeters Størrelse og lufttørrer dem på en steril, med Filtrerpapir dækket Glastallerken i Thermostat ved 37°, eller man går frem på følgende Måde (Arloing, Cornevin & Thomas): De rødsorte Muskelpartier hakkes, vejes, overhældes med to Tredjedele af deres Vægt sterilt Vand og udgnides med dette i en Morter; man filtrerer gennem Lærred og hælder det røde Filtrat i et tyndt Lag ud på en steril Glastallerken, som, dækket med Filtrerpapir, henstilles i Thermostat ved 37°, hvor det hurtigt vil tørre ind til et sorterødt, glindsende Lag, der kradses af Tallerkenen, pulveriseres og opbevares i vatlukkede Glasrør. Når man efter Aar og Dags Forløb udriver lidt af den tørrede Muskel eller af Muskelpulveret med Vand og indsprøjter det på Marsvin, vil det vise sig virulent; — skulde det ej slå an, behøver man blot at røre det ud med *et Par Dråber 20 pCt.*

Mælkesyre for at få sikkert Anslag (Arloing etc.; Roux & Nocard).

Bacillus necroseos (Nekrosebacillen, Bang) er først bleven grundigt studeret af Bang, der påviste, at såvel „Kalvedifterien“ og „Klovebrandbylden“ som visse disseminerede Levernekroser og *Leverbylder* hos Kvæget skyldes denne anaërobe Bacil; sådanne Leverbylder ere meget hyppige her i Landet; de indeholde et sejt Pus, i hvilket der svømmer et Stykke tort, nekrotisk Levervæv, og som er omgivet af en tyk Kapsel; fra dennes Indside kan man strax sprede anaërobt i høje Lag Serum-A. G. eller Serum-A. og få Renkultur; bedre er det dog af Kapselens indvendige bløde, meget bacilrige Lag at udklippe et Stykke og indpode det subkutant på Låret af en *Kanin* (eller ved Haleroden af Mus); når Kaninen efter nogle Dages Forløb dør med en fra Podestikket udgående udbredt nekrotiserende Betændelse, anlægger man herfra Spredningskulturer i tre Fortyndinger i høje Lag *Serum-Agar* (S. 47) eller Serum-Agar-Gelatine og henstiller ved 37°, hvor man da i de *dybere* Lag får livlig Væxt, som tager sig så meget smukkere ud som Serum-Agar-Gelatinen *klarer sig* under Bacillernes Udvikling; fra de således indvundne Kolonier kan Bacillen nu dyrkes anaërobt i Serum, i K. P. A. og i B. o. s. v. Flere Gange har jeg fået negativt Resultat efter Indpodning af Leverabscessvæggen (Virulenssvækkelse?); dog er dette efter *Bangs* større Erfaring sjældent; glipper Podningen af Leverbylden, prøve man med Kalvedifteri eller Klovebrandbyld, der altid giver positivt Resultat.

Foruden dette Udvalg af Saprophyter og Parasiter, der omfatte de for Lægen og Dyrlægen betydningsfuldeste Former, er der naturligvis flere andre, som det er vigtigt at gjøre Bekjendtskab med, men som det dels på Grund af deres Sjældenhed (*farcin du boeuf*), dels fordi de kun kjendes som tilfældige Laboratorie-Infektioner såsom *Bacillus septichæmiæ muris* (Koch), *Bacillus typhi muris* (Löffler), *Spirillum Metschnikowi* (Gamaleja) o. a. fl., ej kan nytte at give Anvisning på at rendyrke fra Dyr. Disse Arter må man skaffe sig ved Velvilje fra de bakteriologiske Laboratorier eller tilkøbe sig dem f. Ex. fra

Král's Laboratorium i Prag (Kleiner Ring Nr. 11), der sælger Kulturer for 1—2 Rmk. Stykket.

Opbevaring af Bakteriekulturer.

Alt efter det specielle Formål for Opbevaringen anvendes forskellige Fremgangsmåder. Hyppigst drejer det sig om at opbevare Kulturerne *så længe som muligt i spiredygtig og uforandret Tilstand*.

For de *sporedannende* Formers Vedkommende frembyder dette på Grund af Sporerne noksom bekendte Sejglivethed ingen Vanskelighed.

Derimod er der stor Forskjel på de forskellige, *ikke sporedannende* Bakteriers Modstandskraft: Nogle kunne mange Måneder igjennem holde sig i Live på de almindelige Nærings-substrater (Staph. pyog. aureus, B. diphtheriæ etc.), andre må med få Dages Mellemrum sås om, hvis man ej vil udsætte sig for, at de dø ud eller i hvert Fald miste deres Virulens (*Diplococcus Fraenkelii*); nogle Bakterie-Arter ere særligt modtagelige for Indtørring (*Koleraspirillen*, Koch), andre holde sig omvendt levende meget længere i indtørret end i fugtig Tilstand.

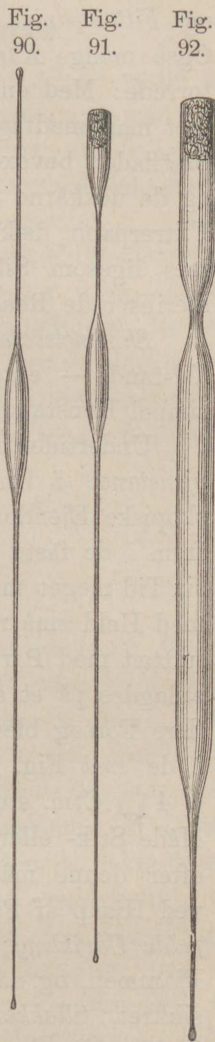
Bakteriernes Undergang i Kulturerne skyldes vistnok oftest en „Autointoxication“, som man kun undtagelsesvis kan hindre; for visse Streptokok-Arters Vedkommende er dette dog lykkedes Nocard, idet han mod Sædvane holdt de nævnte Mikrober levende og virulente i Bouillonkulturer i omtrent tre Fjerdingår ved at tilsætte lidt kulsur Kalk, som neutraliserer de dannede Syrer. — Under disse Forhold spiller naturligvis *Valget af Næringssubstrat* en stor Rolle for Bevarelsen af Spiredygtigheden (Exempel: I en med *Blodserum* tilsat Bouillon holder Streptococcus pyogenes sig meget længere levende og virulent end i ren Bouillon [Roux]; ligeså i en af *salt Kjød* fremstillet Bouillon [Arloing]); — men i denne Henseende kunne ingen almindelige Regler gives; i det Hele taget må de for Spiredygtighedens Bevarelse gunstigste Livsbetingelser udfindes for hver enkelt Art — og man må tilmed være forberedt på at møde store *Raceforskjelligheder* indenfor samme Species (smlg. S. 217). En Hovedregel kan dog gives:

Man bør såvidt muligt beskjerme sine Bakteriekulturer mod de tre store „naturlige Desinfektionsmidler“: Luft (Ilt), Lys og Varme.

Hensigtsmæssigst opnås dette på følgende Måde: Bakterien udsås i et passende flydende Næringssubstrat; når den 24—48 Timer senere er i kraftig Væxt, opsuges den i små Portioner i en større Mængde Hårrør eller kapillært udtrukne, ténformede Rør Fig. 90, som, når de ere helt fyldte og tilsmeltede, opbevares i en lukket Æske (o: mørkt) på et køligt Sted. — Når man har med farlige Kim at gjøre, kan man for Sikkerheds Skyld forsyne det ténformede Rør med et lille vatlukket Mundstykke (se Fig. 91—92), som efter Påfyldningen atter afsmeltes — altså give det Form af en Pasteur-Pipette med Indsnevring. Rørene opbevares bedst i lodret Stilling, så at Mikroberne danne et Bundfald ved den ene Ende, fra hvilket ved senere Om-såning Udsæden tages.

Når man vil foretage en Indpodning med en i lang Tid på den beskrevne Måde opbevaret pathogen Kultur, bør man ej foretage den direkte fra Røret men først udså Rørets Indhold i et passende Næringssubstrat og pode fra den friske Kultur. Man må nemlig erindre, at det oftest kun er et begrændset Antal Individ-er, som holde sig levende i de gamle Kulturer, og at Udsigten til Anslag er bedre, når man indpoder mange og unge, end når man indpoder få og gamle Kim.

Gjærsvampe opbevares bedst i 10 pCt. Rørsukker-Opløsning (Hansen): Når Gjærsvampen efter nogen Tids Væxt i Ølurt har dannet et rigeligt Bundfald i denne, afhældes eller afpipetteres den ovenstående Næringsvædske og erstattes af en 10 pCt. Rørsukker-Opløsning — alt naturligvis under strængeste Aseptik.



Ténformede Rør til Opbevaring af Bakteriekulturer.

Mange Mikrober kan man med Fordel opbevare i *tørret Tilstand*: Det er allerede ovenfor (S. 163) beskrevet, hvorledes man hensigtsmæssigt kan indtørre Bakteriekulturer på *Silketråd* og *Filtrerpapir* til Brug ved visse Desinfektionsforsøg. — Også mange *Kartoffelkulturer* egne sig godt til at gjemmes tørrede: Med en flammerenset Kniv udskjærer man Kulturen, idet man medtager så lidt som muligt af Kartoffelen (er hele Snitfladen bevoxet, fjerner man altså en ganske tynd Skive), og de udskårne Stykker henlægges til Tørring i en flad, med Filtrerpapir dækket Glastallerken; de tørrede Kulturer gjemmes ligesom Silketrådene og Papirstrimlerne i vatlukkede steriliserede Reagensglas på et mørkt og koldt Sted.

Skimmelsvampe egne sig særligt til Opbevaring i tørret Tilstand, — enten som S. 165 beskrevet, eller indtørrede ved simpel Henstand i Dyrkningsapparatet.

Undertiden ønsker man at bevare Kulturerne som *Musæums-gjenstande* i Undervisningens Tjeneste med alle de makroskopiske Ejendommeligheder, der ofte træde særligt tydeligt frem i de faste Næringssubstrater; *Soyka* beskæftigede sig i sin Tid meget med Løsningen af denne Opgave; han benyttede med Held små runde Glasæsker, hvis tilslebne Låg fastkittedes lufttæt med Parafin (s. Fig. 14), og i hvis Bund Kulturerne anlagdes på et eller andet fast Næringssubstrat. Jeg er efter flere Forsøg blevet stående ved at anlægge *Musæumskulturerne* i de små Fig. 12 afbildede firkantede Flasker, der har en c. 4 □ Ctm. stor Bundflade: I disse anlægges på sædvanlig Måde Stik- eller Overfladekulturer; såvel før Tilsåningen som efter denne må deres Vatpropper holdes dækkede mod Støv ved Hjælp af Papirtutter, indtil Kulturerne have nået deres *fulde Udvikling*; når dette er sket, afsvides Vatpropperne i Flammen, og når deres absolute Kimfrihed på denne Måde er sikket, *tillakkes* Flaskerne omhyggeligt med *Segllak* (smlgn. S. 30). Når de således anlagte Kulturer henstilles i Mørke og Kulde, kunne de i lang Tid bevare deres ejendommelige Udseende og deres Spiredygtighed. — Selvfølgelig lade almindelige Medicinflasker sig anvende på samme Måde.

TILLÆG.

Om Undersøgelse af Protozoer.

Protozoerne ere i de senere Aar komne til at spille en stor Rolle for den menneskelige Sygdomslære, og man har såvel blandt *Rhizopoder* som blandt *Sporozoeer* og *Infusorier* fundet Arter, der fremkalde eller med Rimelighed antages at fremkalde Sygdomme hos Pattedyr og Mennesker.

De store anatomiske og fysiologiske Forskjelligheder mellem Bakterier og Protozoer nødvendiggjøre for disse sidstes Vedkommende Anvendelsen af Undersøgelsesmetoder, der ere meget forskellige fra de bakteriologiske, og der vil derfor her tillægsvis blive givet nogle Anvisninger til Undersøgelsen af enkelte Arter, der som Smitstoffer eller som Typer frembyde særlig Interesse.

I. Rhizopoder.

Af Rhizopoderne skal her kun omtales

Amoeberne. Amoeber ere hos Mennesket fundne i *Mundhulen* (Steinberg, Grassi), i en *Kjæbe-Absces* (Flexner) i *Urinen* ved *Hæmaturi* (Posner); hvilken Betydning de have havt for de samtidigt tilstedeværende Lidelser, er det vanskeligt at afgjøre. I *Ekrementerne* og i *Tyktarmen* hos en *Dysenteri-Patient* blev Amoeber første Gang iagttaget af *Lösch*; senere er det navnlig ved *Kartulis's*, af *Welch* o. A. bekræftede, omfattende Undersøgelser gjort i høj Grad sandsynligt, at *Dysenterien i de varme Lande* og ofte tillige de i dens Følge optrædende *Leverabscesser* skyldes snyltende Amoeber; dog er det afgjørende Bevis endnu ej tilvejebragt, da *Ren-Avl* af *Dysenteri-Amoeberne* med påfølgende *Indpodningsforsøg* ikke ere lykkedes, og da *Tarmens brogede Flora og Fauna* lægger *Hindringer i Vejen* for en rent anatomisk Bevisførelse.

Frit levende Amoeber er det forholdsvis let at få til Undersøgelse; man træffer dem hyppigt mellem de macererede *Plantedele* på *Bunden* af *stillestående Vande* og *Akvarier*, dog

må man være forberedt på at måtte indsamle Prøver fra forskellige Lokalteter, førend man finder brugbart Undersøgelses-Materiale. *Vogt* og *Yung* råde til at afplukke det på Træstammer voxende Mos og ryste det med Vand; mellem de på Karrets Bund aflejrede Sand- og Jord-Partikler vil man da finde langsomt krybende Exemplarer af *Amoeba terricola*.

Den mikroskopiske Undersøgelse af Amoeberne foretages efter de S. 253—54 om Infusorierne givne Regler.

II. Sporozoerne.

Af denne Klasse er det i første Linie *Coccidierne* og *Hæmatozoerne*, der have Betydning for Pathologen.

A. Coccidierne.

a. *Klossia helicina*. En Coccidie-Art, som det er særdeles let at få fat på, og hvis forskellige Udviklingsstadier man undertiden kan få Lejlighed til at iagttage i et og samme mikroskopiske Præparat, er *Klossia helicina*, der lever i Nyren af *Helix hortensis*; på visse Steder finder man ikke et eneste Individ af denne Snegleart, som ikke er inficeret med *Klossia*. Man går frem på følgende Måde: Ved et raskt Slag med en Pincet eller et lignende Instrument knuser man Sneglehusets anden Vinding på et begrændset Parti nær ved Åbningen; man fjerner Brudstykkerne og udvider yderligere det således frembragte Hul ved med Pincetten at brække små Stykker af Skallen uden at beskadige de underliggende Bløddele; på denne Måde blotter man 1) en Del af Lungen, 2) Perikardiet, gennem hvilket man ser Hjertet pulsere, og ved Siden af dette 3) *den tenformede grålige Nyre*. Dennes ene Ende fattes med en Pincet, og med en spids Sax løsner man den fra Omgivelserne, overklipper den, trykker forsigtigt lidt af dens grødede Væv ud på et Objektglas og lægger Dækglas over. Under Mikroskopet ser man da uden yderligere Præparation mellem Nyrens normale Konkrementer og normale Celler andre Celler, der ere stærkt udspilede af de *Klossia*-Individer, som snylte i deres Indre; man vil også kunne finde store kuglerunde *Kyster*, der ere opfyldte af unge *Sporer*, og andre

Kyster, inde i hvis Sporer man alt kan se de *seglformede Kim* og Rest-Legemerne. — Endnu smukkere og skarpere Billeder får man ved Tilsætning af lidt Pikrokarmin.

b. *Coccidium oviforme* (vistnok identisk med *Cocc. perforans*), den længst kjendte Coccidie-Art, har man kun altfor ofte Lejlighed til at iagttage i Laboratoriernes Kaninstalde, hvor den kan fremkalde morderiske Epizootier, navnlig blandt Ungerne.

Oftest træffer man den som tilfældigt Fund ved Sektionen af udvoxne Kaniner: Man finder i Leveren en Mængde mindre og større, indtil nøddestore, hvidlige og hvidgule Knuder og Strengede med fast eller halvflydende, oste- eller flødelignende Indhold; — Knuder, Hulrum og Strengede ere udvidede, tildels sammenflydende Galdegange, opfyldte og udspilede af Detritus, sygeligt forandrede Epithelceller og Coccidier på forskellige Udviklingstrin. Kun sjældent ses de som nøgne Protoplasma-masser i Epithelcellernes Indre; næsten alle ere fuldt udviklede, *indkapslede Coccidier*, og præsentere sig som ovale Legemer med et *grynet Indhold*, der enten *helt opfylder* den dobbelt-konturerede, stive Kapsel, eller danne en *kugleformet Masse* i dens Indre. De ses uden Vanskelighed under Mikroskopet, når man opslemmer lidt af Leverknudernes puriforme Indhold i $\frac{1}{2}$ pCt. Kogsaltopløsning eller i tynd Pikrokarmin. Efter de nyeste Undersøgelser må nu de beskrevne sygelige Forandringer opfattes som *Rester af en i Dyrets tidligste Alder overstået akut Coccidinose* (s. ndf.); de beskrevne indkapslede Coccidier nå i *Værtens Indre* ikke videre i Udvikling, og kunne ikke bevirke nogen fremskridende Infektion af Værts-Organismen, derimod dannes der udviklingsdygtige Kim af Kapslernes protoplasmatiske Indhold, når disse udtømmes med Exkrementerne og således komme under forandrede Forhold. Udviklingen kan foregå på to Måder:

1) *Den exogene Sporulation* har været længst kjendt: Protoplasmet samler sig til en Kugle i Kapselens Midte, deler sig i fire *Sporer*, der antage oval Form, og i hvis Indre to *kjerneholdige seglformede Kim* (tilligemed et „Restlegeme“) dannes. Denne Udvikling foregår *kun udenfor Værten* og kan her iagttages, når man

a) efter de S. 123—25 givne Regler opslemmer lidt af det sterilt tagne Galdegangs-Indhold i en Dråbe sterilt Vand, anbringer det i et fugtigt Kammer (hulslebent Objektglas eller Böttchers Kammer) og undersøger fra Dag til Dag; man kan ogsaa

b) i Uhrglas eller i små Glasæsker henstille noget af det Coccidieholdige Galdegangs-Indhold opslemmet i et *tyndt Lag* af en *svag* vandig Opløsning af *tvækromsurt Kali* eller *Kromsyre*; de gode Resultater, man får på denne Maade (*Stieda, Waldenburg*), skyldes måske de nævnte Opløsningers antiseptiske Virkning. Man må som sagt sørge for, at Vædskelaget er tyndt, helst kun nogle Millimeter højt (*Balbani*); i så Fald går Sporedannelsen hurtigt for sig; manglende Lufttilførsel for-sinker eller hindrer Sporulationen.

Også i *Kanin-Ekcrementer*, der indeholde indkapslede Coccidier (s. ndf. S. 247), kan man let iagttage den exogene Sporulation:

c) *Faste* Coccidieholdige Fæces henlægges blot i et fugtigt Kammer; man vil da ofte nogle Dage senere kunne finde både Sporer og seglformede Kim i Kapslernes Indre.

d) I de diarrhoeiske Udtømmelser eller det tyndflydende Tarmindhold fra inficerede Kaniner (hos hvilke man kan finde udbredte diphtheroide Tarmlidelser s. ndf.) kan man fremkalde exogen Sporulation ved at henstille dem, beskyttede mod Fordampning, udbredte i *tynde Lag*; eller endnu sikkrere og hurtigere ved i Løbet af nogle Dage at *lade atmosfærisk Luft boble igjennem dem* (Rée).

Opbevaringspræparater af Coccidier på Spore- og Kimdannelsens forskellige Trin fås, når man indlejrer i 2 pCt. Kromsyre og tilkitter med Asfaltlak.

Det kan anses for hævet over enhver Tvivl, at Coccidinosen udbredes i Kaninstaldene derved, at den beskrevne Kimdannelse finder Sted i de inficerede og udtømte Kaninexkrementer; de kimholdige Coccidier sluges af unge sunde Dyr, i hvis Fordøjelseskanaal de seglformede Kim blive fri, trænge ind i Tarm- og Galdegangs-Epithelet, og fremkalde den nedenfor beskrevne akute Coccidinose.

Men foruden den beskrevne exogene findes der også en

2) *endogen Sporulation*, som først for et Par Aar siden blev opdaget og beskrevet af *Richard Pfeiffer*; den foregår i *Værtens Indre*, og den muliggjør og forklarer den *fremskridende Infektion*, som vi ved den akute Coccidinose iagttage hos unge Kaniner: Ved den endogene Sporulation dannes der under Deling af Coccidiens Protoplasma, *uden forudgående „Sporedannelse“*, en stor Masse små, kærneholdige, seglformede Kim. Disse Kim trænge ind i friske Epithelceller, voxe på deres Bekostning og skyde Kjærnen til Side; tilsidst udfylde og udspile de som udvoxne, (men *ikke indkapslede*) Coccidier hele Epithelcellen, danne atter en Masse seglformede Kim i deres Indre o. s. fr. Man kan finde Masser af disse seglformede Kim og iagttage alle Stadier af deres intracellulære Udvikling, samt følge den „endogene“ Kimdannelse i Tarmindholdet hos 4—6 Uger gamle Kaniner, som enten efter naturlig Infektion eller efter Fodring med Coccidieholdig Næring ere angrebne af „akut Coccidinose“. Sygdommen forløber under Feber, Diarrhoe og Afmagring i 1 til 2 Uger, og man finder ved Sektionen en udbredt Enteritis med Svulst og Rødme af Slimhinden, der på større eller mindre Strækninger er bortulcereret i hele sin Tykkelse og dækket med tyndflydende Exkrementer og gulgrøn Slim. Smukke Præparater får man, når man afskraber Epithelet og Slimen på de endnu ej ulcererede Partier og opslømmer i $\frac{1}{2}$ pCt. Kogsaltopløsning eller i tynd Lithion-Karmin. — *Indkapslede* Coccidier (s. ovf. under c og d) finder man ifølge *L. Pfeiffer* kun i Tarmindholdet på Sygdommens sidste Stadium eller hos Rekonvalescenter; hos de overlevende Individier finder man så senere de ovenfor beskrevne Forandringer i Leveren (*L. Pfeiffer*).

Som bekjendt har man i de senere År ved forskellige Sygdomme hos Mennesket i Cellernes Indre fundet Dannelser, der af nogle Forskere ere tydede som *intracellulært snyltende Protozoer*, rimeligvis hørende til Coccidiernes Gruppe, af andre

ere blevne opfattede som *Degenerations-Produkter*. Blandt de Lidelser, ved hvilke slige formentlige Protozoer ere beskrevne hos Mennesket, ere de vigtigste:

1. Darier's *Psorospermiosis follicularis vegetans* (Malassez, Darier)
2. „*Pagets disease*“ (Darier, Wickham)
3. *Molluscum contagiosum* (Bollinger, Neisser)
4. *Epithelioma* (Malassez, Albarran)
5. *Carcinoma* (Thoma, L. Pfeiffer, Sjøbring o. m. A.)
6. Visse Former af *Levercirrhose* (Podwysoszki)

De omspurgte Dannelser ere lette at se: Af „*Molluscum-legemerne*“ får man smukke Billeder på fine, alkoholhærdede Snit, der ere farvede i Lithionkarmin eller med en eller anden basisk Anilinfarve.

Ved „*Pagets disease*“ ses de let inde i de Epidermisceller, som skræbes af de ekzematøst forandrede Hudpartier (Darier). I det eneste Tilfælde af Sygdommen, som jeg har haft Lejlighed til at iagttage, fik jeg særligt gode Præparater ved 24 Timers Maceration af Epidermis-Skjællene i Lugols Vædske.

I *Carcinomerne*, hvis formentlige Parasiter naturligvis i de senere Aar særligt have været Gjenstand for Studium (*Sudakewitsch*, *Metschnikoff*, *Podwysoszki*, *Cornil*, *Pio Foa* og en Mængde andre) ere de omstridte Legemer ikke slet så lette at gjøre synlige; bedst anvender man følgende af *Pio Foa* anbefalede Fremgangsmaade: Små Stykker af et ikke ulcereret Carcinoma mammae eller en kankrøs Axillarkirtel fixeres umiddelbart efter Exstirpationen i en koldt mættet Opløsning af *Sublimat* i $\frac{1}{2}$ pCt. *Chlornatrium* (1—3 Timer alt efter Størrelsen), andre Stykker fixeres i *Hermann's Vædske* 3: 4 Vol. af en 2 pCt. Osmimsyre-Opløsning, 1 Vol. Iseddike, 15 Vol. af en 1 pCt. *Platinchlorid*-Opløsning (10—24 Timer); derefter Hærdning i Alkohol af stigende Concentration (80 pCt.—90 pCt.—absolut); Indsmeltning i Parafin (S. 201—202) — de parafinbefriede Snit farves derpå i *Hæmatoxylin*, idet de sublimatbehandlede forblive i Farvævædsken i 5—10 Minutter, de i Hermanns Vædske fixerede derimod 2—3 Timer. — Afskylning i Vand — Afvanding i absolut Alkohol — Klaring i Cederolie — Kanadabalsam. På de således hehandlede Snit ses Kjærnerne violetfarvede i Modsætning til de blåfarvede „Parasiter“.

Om disse i Carcinom-Cellerne fundne Legemer ere intracellulære Snylttere eller kun særegne Degenerationsprodukter, må desværre siges endnu at henstå uafgjort — trods alle de omhyggelige Arbejder, som i de sidste År ere udførte på dette Område.

B. Hæmatozoerne.

De i de røde Blodlegemers Indre levende Snylttere, der navnlig ere studerede af *Danilewsky*, og som ere påviste hos flere Fugle, (Tornskade, Ugle), hos Sumpskildpadden, Firbenet, den grønne Frø o. fl. a., danne en Gruppe, angående hvis Plads indenfor Sporozoernes Klasse man endnu ikke er kommet til fuldstændig Klarhed. Herhen hører

Koldfeberens Snyltter, der 1880 opdagedes af *Laveran*, og som senere er gjort til Gjenstand for indgående Undersøgelser af *Marchiafava*, *Celli*, *Golgi*, *Metschnikoff*, *Councilman* og andre. Når man vil gjøre Bekjendtskab med dens forskjellige Udviklingsformer, bør man undersøge Blodet i *frisk* og *ufarvet* Tilstand og efter *Laverans* Råd gå frem på følgende Maade:

Man udvælger om muligt en allerede *noget anæmisk* Malaria-patient der *ikke bruger Kinin*. Huden på en Fingerpulpa eller en *Øreflip* renses med Vand og Alkohol og tørres fuldstændigt; lige i *Begyndelsen af et Feberanfald*, eller kort før det ventes, gjør man et Nålestik på et af de nævnte Steder; den frempiplende Bloddråbe berøres med et vel rensed Objektglas, og den således tagne lille Blodprøve dækkes øjeblikkeligt med et Dækglas; såsnart dette ved sin Vægt har bredet Blodet ud i et *tyndt Lag*, *tilkittes* med Parafin (s. S. 177), og man undersøger ved 4—500 Ganges Forstørrelse, idet man udvælger sådanne Steder i Præparatet, hvor de røde Blodlegemer ligge på Fladen og vel adskilte. Parasiterne ere ikke tilstede i stort Antal; det er en Sjældenhed at finde 8—15 i et Synsfelt; *Laveran* selv råder da også til at lede efter dem med *Tålmodighed*; den hyppige Forekomst af *Pigmentkorn* i de amoeboide Legemer letter Undersøgelsen. — De andre Udviklingsformer, *Halvmånerne* og de *flagella-bærende Legemer*, ere langt lettere at få Kig på;

de sidstnævnte træffer man imidlertid kun rent undtagelsesvis. — *Halvmånerne* kan man, når de findes, let gjøre synlige ved Tilsætning af lidt Vand, der hurtigt affarver de røde Blodlegemer.

Overordentlig skønne Opbevaringspræparater får man, når man farver med Eosin og Methylenblåt (Metschnikoff): *Varsom* Udgnidning af Blodet på *omhyggeligt rensede* (S. 190) Dækglass i ganske *tynde Lag* efter de S. 190 givne Regler. — Hærdning i lige Dele Æther og absolut Alkohol — fuldstændig Tørring — mættet vandig Eosin-Opløsning i et halvt Minut — Af-skylning i destilleret Vand — Tørring — mættet vandig Methylenblåt-Opløsning — Af-skylning i destilleret Vand — Tørring — Kanadabalsam.

C. Mikrosporidier.

Til denne Gruppe hører *Pebrinens Mikrob*, — „*Cornalias Corpusculum*“, — som er vel kjendt gennem *Pasteur's* Undersøgelser over Silkeormenes Sygdomme. *Balbani* er den første, der har fulgt denne Snylters Udvikling på kunstigt inficerede Silkeorme:

En syg Sommerfugl, der indeholder „*Cornaliaske Smålegemer*“ i Masse, knuses i en Morter og udrøres med Vand; den derved tilvejebragte Opslemning hældes ud over Morbærblade, og med disse fodrer man sunde, ganske unge, kun et Par Millimeter lange Silkeorme. — Nogle Dage senere vil man i Epithel- og i Muskelceller i Silkeormenes Tarme finde små amoeboide Legemer, der stamme fra de fortærede Sporer; når de i nogen Tid have vøxet på Værtens Bekostning og have nået en vis Størrelse, udvikler der sig i deres Indre nye Sporer. (*Cornaliaske Legemer*.)

De amoeboide Legemers Udtræden af Sporerne kan man direkte iagttage under Mikroskopet, når man opslemmer Sporerne i lidt Serum eller Bouillon og anbringer dem i fugtigt Kammer ved 20° (*L. Pfeiffer*).

Mikrosporidier ere aldrig med Sikkerhed efterviste hos Mennesket, og de som Mikrosporidier tydede Legemer, der ere

fundne i Cancerceller, i Zona-Vesikler og i Koppepustler høre neppe herhen.

De tre andre Sporozo-Grupper ville kun blive ganske korteligt omtalte.

D. Myxosporidierne

ere meget hyppigt forekommende Snyltene hos Fiskene.

E. Sarkosporidierne,

Rainey'ske eller Miescher'ske Sække, kunne vel undtagelsesvis fremkalde morderiske Epizootier blandt vore Husdyr, men som oftest træffer man dem tilfældigt i Musklerne hos Dyr, som tilsyneladende ere ganske sunde; i nogle Slagterhuse har man endog fundet 30—40 pCt. af *Faar* og *Svin* angrebne af Sarkosporidier (Oesophagus, Diaphragma, Psoas). Undertiden kan man hos *Mus* finde Musklerne (Ileopsoas!) i en forbausende Grad opfyldte, af disse Parasiter; de vise sig i slige Tilfælde for det blotte Øje som mægtige Nervestammer, der gennemløbe Musklerne i forskellige Retninger. Udklipper man et lille Stykke af en sådan Muskel, anbringer den i en Dråbe 0,6 pCt. Kogsalt-Opløsning og komprimerer den let med Dækglasset, ser man under Mikroskopet Sarkosporidierne som store Rør eller tenformede Sække, fyldte med små polymorfe *Kim*, der på det opvarmelige Objektbord tydeligt ses at bevæge sig. Disse Legemer, der svare til Coccidiernes „seglformede Kim“, ere lejrede i Grupper, der omgives af en tynd Hinde (svarende til Coccidiernes *Sporer*).

På Tværsnit af den hærdede Muskel er det let at overbevise sig om, at Sarkosporidierne ligge i Primitivfibrillernes Indre.

Man har tænkt sig Muligheden af, at Sarkosporidier kunde spille en Rolle ved den akute progressive Polymyositis — men de ere til Dato aldrig med Sikkerhed påviste i det menneskelige Legeme.

F. Gregarinerne

snylte alle i hvirvelløse Dyr; et Par let tilgængelige Arter ere:

1. *Clepsidrina polymorpha*, der lever i *Melormens* Tarm: Med en spids Sax afklipper man Larvens Hoved og Bagende samt spalter Huden; Tarmkanalen præpareres løs med Nåle, og dens Indhold presses forsigtigt ud på et Objektglas; i det vil man da altid finde Gregarinerne som små cylindriske, kornede, kjerneholdige Organismer, der udføre mer eller mindre livlige Bevægelser.

2. *Monocystis lumbrici* lever i Regnormens Sædblærer, der ses skinne gennem Huden som et Par hvidlige eller gullige Organer i Egnen mellem niende og femtende Ring; man blotter dem ved at overklippe Dyret lige bag den nævnte Region, spalte Huden og udtrykke en Dråbe af Sædblærens Indhold på Objektglasset; denne Vædske indeholder da som oftest foruden Sædcellerne, Gregariner på forskellige Udviklingstrin (Gregariner, Kyster, Sporer, seglformede Kim). — I visse Egne ere alle Regnorme uden Undtagelse inficerede med *Monocystis*; på andre Steder kan man søge dem for-gjæves *).

III. Infusorierne.

Største Delen af de Infusorier, der leve i det menneskelige Legemes Hulheder, i Mundhulen, i Tarmkanalen, i Vagina (*Cercomonas intestinalis*, *Trichomonas vaginalis* etc.), have sikkert ingen patologisk Betydning, og kun *Balantidium coli* (Malmsten) danner vistnok en Undtagelse fra denne Regel. — I Menneskets Blod ere utvivlsomme, pathogene Infusorier aldrig iagttagne; derimod har man fundet dem hos forskellige andre Pattedyr: Flagellate Infusorier af Slægten *Trichomonas* findes således i stor Masse i Blodet hos Heste og hos Kameler, der ere angrebne af *Surra*, en i Indien forekommende epizootisk

*) Litterære Hjælpemidler ved Studiet af Sporozoerne: *Balbani*: Leçons sur les Sporozoaires. Paris 1884. *Danilewsky*: La parasitologie comparée du sang I—II. Kharkoff 1889. *Laveran*: Du Paludisme et de son Hématozoaire. Paris 1891.

perniciøs Anæmi (Evans, Lewis). Lignende Flagellater ere fundne i Blodet hos Rotten, Murneldyret og flere andre Pattedyr.

Også *Fugledifterien* og Fuglenes *Epithelioma contagiosum* skyldes efter visse Forfatteres Mening (L. Pfeiffer) flagellate Infusorier.

Når man vil beskæftige sig med Studiet af pathogene Infusorier, kan man hensigtsmæssigt først indøve de almindelige Undersøgelsesmetoder på de ikke-snyltende Arter, af hvilke alle Plante-Infuser og alle stillestående Vande vrinkle. Under deres livlige Bevægelser ere de meget vanskelige at iagttage; når man vil undersøge dem nøjere i *levende Tilstand*, anvender man derfor følgende Fremgangsmåde: Infusoriet indfanges i et Hårrør, og den lille Vanddråbe, i hvilken den svømmer, pustes ud på et Objektglas; på et Dækglass anbringer man under hvert af dets Hjørner et lille Stykke af en Blanding af Vox og Fedt (1:5), og Dækglasset lægges således over Dråben, at denne kommer til at ligge nøjagtig *midt* under dette. Med svag Forstørrelse opsøger man nu Dyret, og uden at tabe det af Sigte, trykker man *varsomt* og *langsomt* Dækglasset ned mod Objektglasset, indtil Infusoriet er så stærkt komprimeret, at det er umuligt for det at flytte sig; det varer oftest noget, inden man lærer på denne Måde at immobilisere Infusorierne *uden at knuse* dem. Er det lykkedes, kan man let på det levende Dyr iagttage mange morfologiske og funktionelle Enkeltheder (nuclei, micronuclei, Vacuolen og dens Bevægelser o. s. v.).

Ønsker man nærmere at studere Infusoriets Bygning, kan man tilsætte Fixations- og Farvevædske under Dækglasset: Man kan f. Ex. anbringe en tynd *Kromsyre*-Opløsning (1:300 eller 1:500) ved Dækglassets Rand og ved Hjælp af et Stykke Filtrepapir bortsuge Vandet ved den modsatte Rand; på samme Måde kan man fortrænge Kromsyren med destilleret Vand og dette atter med en Opløsning af *Alun-Karmin* eller *Lithion-Karmin*, der farver nuclei og micronuclei røde.

Når man ønsker at iagttage Menneskets eller *varmblodige* Dyrers *Tarm-Infusorier*, f. Ex. *Balantidium coli* eller *Megastomum entericum*, må man søge dem i de endnu legemsvarme Exkre-

menter umiddelbart efter deres Udtømmelse, eller opbevare disse i en Thermostat, indtil man kan undersøge dem — hvilket da bedst gjøres på opvarmeligt Objektbord.

Nødes man til at overføre de snyltende Infusorier i en kunstig Undersøgelsesvædske, kan man benytte en lunken 0.6 pCt. Kogsalt-Opløsning eller den af *Grassi* og *Schewiakoff* anbefalede Vædske: 0.20 Æggehvite, 1 Gmm. Kogsalt, 200 Gmm. destilleret Vand.

De i Kap. IX beskrevne fugtige Kamre lade sig kun vanskeligt — eller aldeles ikke — anvende til længere Tids uafbrudt Undersøgelse af meget bevægelige Infusorier. *Danilewsky* har hertil angivet en meget simpel Fremgangsmåde; han indeslutter Infusorierne i *yderst fine* (0.025 Millimeter) *flade Hårrør*, som han laver på følgende Måde: Et Glasrør gjøres rødglødende på et begrændset Parti, og Røret klemmes nu ved Hjælp af en stærkt ophedet Pincet *fladt* på det således blødgjorte Afsnit; man lader afkøle, derpå smelter man påny det fladtrykte Parti i Flammen og udtrækker det til et så fint Hårrør som muligt (s. S. 61). Dette Hårrør deles i Stykker af passende Størrelse; i Stykkerne opsuges Vædsken med Infusorierne i, og et (eller flere) af slige Rør kan nu anbringes på et Objektglas ved Hjælp af to Parafindråber, der tillige lukke dets to Ender. Ønsker man at have en vis Mængde Luft i Rørene, må Vædsken opsuges med Afbrydelser. Når man benytter middelstærk Forstørrelse, anbringes en Dråbe Vand på Rørene, og man dækker dem med et Dækglas; anvender man Immersionslindse, er Dækglasset overflødigt.

NAVNE-REGISTER.

Abbe 204.

Albarran 248.

Altmann 201.

Alvergniat 15.

Arloing 106, 146, 238, 239, 240.

Balbani 246, 250, 252.

Bang 47, 106, 239.

Baumgarten 179, 200.

Beckmann 200.

Behring 159, 161.

Berkefelt 11.

Bienstock 209.

Bizzozero 210.

Bleisch 229.

Bohr 67.

Bollinger 248.

Borel 200.

Brefeld 28, 30, 48, 51, 54, 127, 128,
130, 211.

Buchner 109, 129, 146, 147, 161, 197.

Bujwid 229.

Bumm 223.

Böttcher 126.

Celli 249.

Chamberland 8, 11, 24, 163, 164, 176.

Chantemesse 161, 222.

Charrin 176.

Christmas 19, 158.

Cohn 29, 54, 101.

Cohnheim 141.

Cornalia 250.

Cornet 192.

Cornevin 106, 146, 238.

Councilmann 249.

Czermak 138.

Danilewsky 249, 252, 254.

Darier 248.

Davaine 52, 234.

Duclaux 107, 169.

Dujardin 204.

Duncker 171, 172.

Dunham 28, 229.

Ehrlich 178, 179, 180, 182, 183, 185,
186, 191, 193, 196, 197, 207, 208.

Engel 49.

Engelmann 177.

Erlenmeyer 25.

Esmarch 77, 168.

Evans 253.

Faber 236.

Flexner 243.

Foa 248.

Fraenkel (A.) 217.

Fraenkel (Carl) 27, 88, 106, 120.

Frankland 96.
Freudenreich 95, 96.

Gabbet 197.
Gaffky 159, 221.
Gamaleja 239.
Geppert 159, 162, 163, 166.
Golgi 249.
Gram 178, 181, 191, 195, 207, 208.
Grassi 243, 254.

Hansen, E. Chr., 51, 126, 127, 241.
Heidenreich 159.
Hejberg 200.
Hermann 248.
Hesse 11, 90.
Heyn 161.
Hoffmann 31, 126.
Howe 142.
Hüfner 116.
Hueppe 39, 48, 87, 88, 101, 146,
197, 210.

Israël, 126.

Jensen 36, 81, 211.
Johan-Olsen 210.
Jørgensen 111.

Kartulis 243.
Kipp 111.
Kitasato 16, 25, 106, 107, 236.
Kitt 132.
Kladakis 106.
Klebs 11, 53, 121.
Koch 5, 10, 30, 31, 34, 35, 44, 45,
52, 58, 59, 66, 71, 73, 86, 124,
132, 136, 151, 154, 159, 164, 178,
185, 187, 188, 189, 190, 191, 192,
193, 196, 198, 204, 207, 226, 227,
229, 230, 231, 239, 240.
Kräl 240.
Kühne 49, 183, 186, 187, 194, 195,
204, 206, 234.

Laveran 249, 252.
Lewis 253.
Liborius 107, 108, 118.
Liebig 28.
Lister 57.
Löffler 47, 132, 159, 178, 180, 185,
186, 192, 198, 207, 224, 233, 239.
Löscher 243.
Lustgarten 209.
Lustig 213.

Malassez 248.
Malm 41, 145, 230, 231, 237.
Malmsten 252.
Marchiafava 249.
Mayer 29.
Melchior 222.
Metschnikoff 248, 249, 250.
Meyer (Lothar) 66.
Miescher 251.
Miquel 11, 27, 82, 84, 87, 92, 95, 98,
100, 102 109.
Morax 198.
Moreau 96.
Muencke 88.
Møller 198.

Naegeli 57, 58.
Neelsen 196, 209.
Neisser 36, 210, 223, 248.
Nicati 145.
Nicolle 198.
Nielsen 77, 79.
Nikiforoff 109.
Nocard 27, 41, 47, 239, 240.
Noeggerath 42.

Orth 186.

Paget 248.
Panum 126.
Pasteur 10, 11, 16, 23, 29, 52, 60, 63,
94, 95, 98, 104, 106, 112, 116, 117,
142, 143, 213, 234, 234, 235, 250.
Petri 91, 96, 194.
Petruscky 156.

Pfeffer 109.
Pfeiffer, L., 126, 247, 248, 250, 253.
Pfeiffer, Rich., 19, 226, 247.
Philipowicz 222.
Plantamour 38.
Podwyszożsky 248.
Posner 243.
Pouchet 91.
Prytz 117.

Rainey 251.
Ranvier 126, 127.
Rée 246.
Reichert 65.
Ribbert 211.
Rietsch 145.
Rohrbeck 66
Roux 19, 25, 27, 33, 41, 47, 70, 109,
110, 114, 117, 138, 142, 143, 176,
198, 225, 236, 239, 240.
Rovsing 161.

Salkowski 229.
Salomonsen 23, 55, 77, 110, 112, 141,
158, 189.
Schäfer 166.
Schewiakoff 254.
Schottelius 28, 87.
Schönauer 91.
Schröter 31.
Schultze (Max) 126.
Schütz 233.
Schwarze 180.
Sehlen, v., 101.
Sjøbring 248.
Soxleth 7.
Soyka 24, 79, 242.
Spirig 163.
Sprengel 116.

Steinberg 243.
Stieda 246.
Straus 101, 102, 112, 135.
Stribolt 47, 82, 110.
Sudakewitsch 248.

Thoma 248.
Thomas 106, 146, 238.
Thuillier 234.
Toussaint 176.
Tryde 101.
Turrò 223.
Tyndall 8.

Unna 131, 134, 210.

Vidal 161, 222.
Vignal 121, 126.
Vincent 86.
Vogt 244.

Waldenburg 246.
Wasserzug 176.
Warming 198.
Weigert 178, 189, 196, 200, 204, 205,
207.
Welch 243.
Wertheim 223.
Weyl 107.
Wickham 248.
Winogradsky 49.
Woodhead 213.
Würtz 101, 102, 106, 112, 113, 146.

Yersin 225.
Yung 244.

Ziehl 185, 186, 196, 209.
Zimmermann 213.

SAG-REGISTER.

- A**areladning 46, aseptisk - 156, - fra Kaninens Carotis 156.
- Actinomyces, Eftervisning og Farvning 211—12.
- Aëroskop, Gjennemboblings- 100—103, Pasteurs - 94, Pouchets - 91, Pulver - 95, Schönauers - 91, Tal-
lerken- 93, 212, 216.
- Afbrudt Opvarmning 8.
- Aftrykspræparater 189, 228.
- Afvanding af Snit, ved Kemikalier 204, - ved Tørring 233—34.
- Agar 35, 40, Blod- 226, Dyrkning
under - 109, Podning fra - Kulturer
136, Serum- se Serum, Spredning
i - 81.
- Agar-Gelatine 36, 41.
- Amoebæ 243.
- Anaërobiose 104—22.
- Analyse, bakteriologisk, af faste
Legemer 87, af Luft 89, af Væd-
sker 71, 82, anaërob 117—122.
- Anilinfarver, „basiske“, „sure“, „neu-
trale“ 178—79, de mest benyttede
184, Tilberedning 185—86.
- Anilolinolie, som Afvandingsmiddel
204, farvet - 187, 204 Anm., - som
Beize 180.
- Anilinvand 185.
- Asbest, -filter 11, -filter ved Luftana-
lyse 96, -proppe 20, -plade ved
Filtersterilisation 38, til brandfrit
Underlag 66.
- Aspergillus 216, -niger.
- Aspiratorer 90—91.
- Aurantia 180.
- Autoklave 8.
- B**ac. anthracis 234, asporogen Race
af - 176, - dyrket i Urin 28, dyrket
under Mikroskopet 124, 129, - i in-
soleret Bouillon 26, Karbolsyrens
Virkning på - Væxt 175 og Funk-
tioner 176, Sporer af - 163—64, 234,
Vaccine mod - 19, Virulenssvæk-
kelse af - 176.
- Bacillus Chauveaui 237—38.
- Bac. cholerae gallinaceæ 234—35.
- Bac. diphtheriæ 224—25, Indpodning
på Vaginalslimhinde 134, Löfflers
Dyrkningssubstrat for - 47, Opbe-
varing af - 240.
- Bac. erysipelatis suis 234.
- Bac. influenzae 226.
- Bac. lepræ, Farvning af - 183 Anm.
- Bac. mallei 233.
- Bac. mycoides 213.
- Bac. necroseos 239.
- Bac. Pflügeri 215.

Bac. subtilis som ilt Sugende Middel 110, Sporedannelse under Mikroskop 128, Sporekulturer af - 164.
 Bac. tuberculoëos 230—32, Differentialdiagnose 209, - farvet samtidigt med karyokinet. Figurer 179 Anm., 200, - farvet efter Koch-Ehrlich-Weigert 196, efter Ziehl-Neelsen 196, 209, efter Gabbet 197, efter Gram og efter Kühne 209 Anm., Såning af - 151. Se Indpodning.
 Bac. tuberculoëos avium 232.
 Bac. typhi 220—23, Påvisning i Snit v. Alkalimethoden 200, Påvisning i Drikkevand 86.
 Bact. aceti 213.
 Bact. coli commune 220, Diagose ligeoverfor Bac. typhi 221, Farvning 183.
 Balantidium coli 252, 253.
 Ballon-Blæseapparat, til Spray ved Indåndingsforsøg 146, - til Prøvelse af Porcellainsfiltre 12, - til Tørring af Dækglaspræparater 193—94.
 Beizer 180, 185, 186, 181 Anm.
 Belysnings-Apparater (Kondensorer) 204.
 Bevægelser, Bakteriernes 177, Langsomgjørelse ved Tryk 177, Molekular - 177, - vedblive efter Farvning 189.
 Bismarckbrunt, ved Gonokok-Diagnosen 196.
 Blod, -Agar (Influenzabacil) 226, anaërob Dyrkning af B. Chauveau og Ødembacillen i - 236, 238, Infusorier i - 252—53, Hærrørskulturer i - 56—57, - kimfrit taget 155—56, 223, - kimfrit defibrineret 156, Sporozoe i - 249, - taget til Serumpræparation fra Dyr 42—43, fra Mennesker 223.
 Bouillon 26—28, - af salt Kjød 240, - frisk tillavet (Tetanus) 25, 236—37.
 Brint, Dyrkning under - 112—16.
 Brintudviklingsapparat 111.

Caraghén 36.
 Carcinoma 248.
 Centrifugering, af Blod 43, af Bakterier 166.
 Cladothrix 213.
 Clostridium butyricum 213—14.
 Clepsidrina polymorpha 252.
 Cocainisering af Kaninøjne 142.
 Coccidier 244—47, C. oviforme 245—47, formentlige - i Carcinomer o. a. Sygdomme 249.
 „Cohns Vædske“ 29.
 Cornalias Legemer 250.
 Cornet's Pincet 192.

Dampfugtighedsmåler 171.

Dampsterilisation 5—10, ved frit strømmende Damp 5—8, under Tryk 8—10, Forsigtighedsregler ved - 8.

Dampsterilisations-Apparat, Chamberlands Autoklave 9, improviseret - 7, Kochs - 5, ved Agarfiltration 39, Soxleths - 7.

Desinfektion 158—76, - af Hud ved Podning 134, - af Kadavere 148, Måling af Desinfektionsevne 165, Vædskers -sevne undersøgt 169—70.

Desinfektionsmidler, omdannende Virkning paa Bakterier 176, -'s praktiske Anvendelighed undersøgt 168, Prøvelse af - 160—73, specifik Modtagelighed for - 161, væxthæmmende Virkning af - 167, 174.

Desinfektionsovn, prøvet 171, Registrering af Forsøgsresultater 173
 Diamantblæk 24.

Differentiering af mikr. Præp. 181, 187, 193, 195.

Diplococcus Fraenkeli 219—20, Virulenssvækkelse 240.

Diplococcus gonorrhoeæ 223—24, Farvning af - 196, Diagnose 196.

Drikkevandsundersøgelse 83—87,

- på Koleraspiril 86, - på Tyfusbacil 86, Opsamling 84, Forsendelse 84.
- Drivhus 63, 66 Anm. (Forsigtighedsregler), 68 (Opvarmning v. Olie osv.), Roux's - 70, simpelt - 69.
- Druesukker, som Næringssubstrat, 27, 47, 230—31 (Tuberkelbacil), 127 (Anaërober), 236, 238.
- Dyrknings-Apparater 20—24, - til Anaërobionter 110, 112, 114, 115, 117, - til Iagttagelse under Mikroskopet 122—31, Påfyldning på - 50.
- Dysenteri 243.
- Dækglas, Flampering af - ved Svingtrådsfarvning 199, - med indridset Kvadrat-Inddeling 127, Rensning af - 190, - ved Desinfektionsforsøg 163.
- „Dækglaspræparater“ 189 Anm., Opbevaring af - 191 Anm., Tilberedning af - 190—94, foreløbig Etikettering af - 150.
- Eddikesyre**, som Differentieringsvædske 187, 195, 207, - til Fremstilling af Bakterier og Skimmel-svampe i Snit osv. 200, 211, - ved Farvning af Epidermis-Mikrober 210.
- Elektron 180.
- Eucalyptusolje, til Fremstilling af Miltbrandsvaccine 19.
- Eosin 180, 211, 250.
- Epidermisskjæl, Mikrober i - farvede 210.
- Epithelioma 248, - contagiosum 253.
- Exsiccator 99.
- Farcin du boeuf** 184, 239.
- Farvekraft 180.
- Farvet Gelatine (Agar) 42, 107, 222.
- Farvevædske 185—86.
- Farvning, - af Bakterier 178—210, - af opslemmede, friske Bakterier 188—89, 225, - af Næringssubstrater 42, 107, 220, - af Snit af Gelatine-kulturer 210, isoleret - af Bakterier 207—9, Flerfarvning 181, 182 Anm., Historik 189, 205, Plan for - 194—95, - ved Pådrypning og ved Badning, 187, 191—92, 204, Farvningsmetoder 195—99, 206—9, tre Hoved-Farvningsmetoder 183, andre Farvningsmetoder: for Actinomycose 211, „Carcinoparasiter“ 248, Cellekorn 180, 182, Clostridium butyricum 214, Koldfeberparasiter 250, Molluscum contagiosum 248, Skimmel 211. Snive 233, Sporer 197—98, Svingtråde 198, „Syphilisbaciller“ 209. Se iøvrigt under de enkelte Bakteriearter.
- Farvningsreagenser 184.
- Favus, Indpodning i Huden, 134.
- „Fibrinfarvningsmetoden“ 208.
- Filtration, af Agar 39, af Gelatine 37, af Luft 95—100, - gj. Porcelainsfiltre o. l. 11—18.
- Filtrerpapir, Indtørring af Bakterier på - 163.
- Fixationsvædske, Hermanns Vædske 248, Sublimat-Opløsning 248, Kromsyre 179 Anm.
- Flampering 2, - af Dækglas 199.
- Flammehærdning 191.
- Flasker, firkantede Kultur- 22, Medicin- til Kulturer 22, Pasteurske Kultur - 23—24, til Magasinering 29—30, - til Dyrkning af Tuberkelbaciller 231.
- Fodrings-Infektion 144.
- Forrådnelsespletter 55.
- Fortyndingsmetoden (Lister, Naegeli) 57, 82—83, 122.
- Fosforescerende Bakterier 214—15, 230 Anm.
- Fraktioneret Kultur 53.
- Franskbrød 48.
- Fuchsin-Blæk 186.
- Fugletuberkulose, se B. tuberc. avium 232.
- Fugtigt Kammer, til Kartoffelkulturer 32, til Pladespredninger

- 75, - til Brefelds Objektglas-Kulturer 131, - til Papkamre 130, til Dyrkning under Mikroskopet 122—30, Danilewsky's - til Infusorier 254, Undersøgelse i - af Coccidier 246 og Mikrosporidier 250.
- Gabbets Methode** 197.
- Gas, Belysnings- til Anaërobdyrkning 113.
- Gastrykregulator 63.
- Gelatine 35, 40, farvet Nærings- 42, sur Nærings- 223, -metoden (Koch) 58 o. m. a. St., - ved Anaërobdyrkning 107.
- Gelatinemethoden (Koch) 58, 103, 118—21 o. m. a. St.
- Gibsblokke til Dyrkning af Gjær 49.
- Giftvirkning paa Bakterier 167.
- „Gjæringsbakterier“ 213.
- Gjærsvampe, Indsamling af - 216—17, Næringssubstrater for - 28, 42, Opbevaring af - 241, Rendyrkning fra én Celle 51, 127, Sporedannelse i - 49.
- Gjærvand 28.
- Glasbænke (Knivstole) 50.
- Glaslim 126.
- Glasuld, -filter ved Luftanalyse 96, ved Bakterie-Opslemning 162, -proppe 20.
- Glasæsker 24.
- Glycerin, i Næringssubstrater (Tuberkelbacil) 27, 41, 47, - til Forsendelse af Rabies-Organer 143, - til Tuberkulinpræparation 232, - til anilinbruntfarvede Præparater 193 Anm., - ved Farvning af albuminholdige Præparater 190 Anm., - ved Aëroskopi 92, ved Parafin-Indsmeltning 202.
- Gonococcus, se Diploc. gonorrhoeæ.
- Grams Methode (ved hvilke Arter den anvendes) 184, 195—96, (Dækglaspræparater) 208—09 (i Snit og ved Flerfarvning), - til Gonokok-
- Diagnose 196, - ved Actinomycesfarvning 212.
- Gregariner 252.
- Granulationer, se Korn.
- Guttaperchapapir, som Surrogat for Kautschukhætter 30.
- Hærrør**, Fabrikation af - 61, - til Dyrkning 56, 121, 122, - til Såning 60, til Kimspredning 56.
- Hærrørsmethoden (Salomonsen) 55, - ved Anaërobdyrkning 121.
- Håndluftpumpe, se Luftpumpe.
- Hestegjødning, Afkog af - 28, Mucor i - 216.
- Hæmatoxylin 248.
- Hæmatozoer 249—50.
- Hæmoglobin ved Dyrkning af Bac. influenzæ 226.
- Hængende Dråbe 125, 127.
- Hærdning, af Dækglaspræparater, 190, - af Væv 200.
- Høbacil, se Bac. subtilis.
- Hønskolera, se Bac. chol. gallinacæ 234.
- Indåndings-Infektion** 146.
- Indigotin, - Reaktion 107, - ved Anaërobdyrkning 107.
- Indikator 126.
- Indolprøven, ved Kolera 229, ved Tyfus 222
- Indpodning 131—47, - af Coccidinose 247, - af Difteri 134, 224, - af Jord 70, 235, 236, - af Favus 134, - af Kolera 145, 229, - af Luftmikrober 71, - af Opspyt 220, - af Pebrine 250, - af Rabies 141, 142—43, 143, - af Spyt 220, - af Trøske 134, - af Tuberkulose 141, 141, 230, 231, 232 se iøvrigt under de forskellige Sygdomme og Bakterie-Arter, - af Vand 70, - fra gamle Kulturer 241, - fra fast Næringssubstrat 136, - i Duekro 134, - i Duodenum 145, - i forreste Øjenkammer 141—42, 143, - i Hornhinden 142,

- i Huden 134, - i Luftrøret 146,
- i Peritonæalhulen 140—41, - i Subarachnoidalrummet 142—43, - i Subkutis 135—36, - i Venerne 136—40, - på Due, intraperitonæalt 232, intravenøst 139, i Kroen 134, subkutant 135, ved Fodring 145, - på Mus 135, - på Marsvinets Vaginalslimhinde 134, - som Prøve på Desinfektionsevne 158, 161, 167, - ved Fodring 145, - ved Indånding 146—47.
- Indulin 180.
- „Involutionsformer“ 224.
- Isoleret Bakteriefarvning, Historik 207, - Metoder 208—9.
- Jequirity-Infus 158.
- Jod, til Farvning af Clostridium butyricum 214.
- Jodoform, dets Virkning på Bakterier 161.
- Jod-Violetmetoden, se Grams Methode.
- Jord, - Analyse 87, - bakterier indsamlede 213, - Bacillussporer 160, 215, pathogene Arter i - 235, Podning af - 235, 236, Tetanussporer i - 236, - vand 164, 172.
- Kali, - Methylenblåt-Metoden 207, - som Beize 185, - til mikroskopisk Brug 200, 211, eddikesurt - til Opbevaring af Dækglasspræparater 193, overmangansurt - til Affarvning af „Syfilisbaciller“ 209 Anm., salpetersurt - til „Kolerarødt“-Reaktion 229, salpetersyrligt - til Indolreaktion 222.
- Kaninbord 138.
- Kaninseptikæmi, Davaines - 52, Pasteurs - (malignt Ødem) 52.
- Karbol-Fuchsin-eller-Methylenblåt-Farvning 195, 206, 207.
- Karbolsyre, - og Miltbrand 175, 176, - som Beize 185.
- Kartoffel 31, 32—34, alkaliseret - 34, Dyrkning på - i Vakuum 117, forskellige Racer af - 26, - Grød 34, - prøven ved Tyfus 221, - til Indsamling af Clostridium butyricum 214.
- Kautschukhætter 30, 33.
- Kiselgelée 49.
- Kjødextrakt 27—28.
- Kjødvand 27, - Pepton-Gelée 40—41.
- Kjøleapparat 73—74.
- Kloroform, - til Fedtextraktion ved Sporefarvning 198, - til Fremstilling af Koleragift 19, - til Narkose 134, - anvendelig som Opløsningsmiddel f. Kanadabalsam 194 Anm.
- Klossia helicina 244.
- Kogningsmetoden (Cohn) 54.
- Kogsalt i Næringssubstrater 27, - til fosforescerende Bakterier 215, - Opløsningsom Opslemningsvædske ved mikr. Undersøg. 177, - ved Desinfektionsforsøg 162.
- Kolber, Erlenmeyerske - 25, selv-sugende - 94, Roux's Kultur - 114.
- Koleragift 19.
- Kolerarødt 229.
- Kollodiumkapsel til Tuberkulose-Indpodning 231.
- Kommabacil, s. Spirill. chol. asiat.
- Kondensor 204—5.
- Korn i Cellernes Indre 191, α - (eosinophile) 180, γ - (i Mastceller) 182.
- Kromsyre som Fixationsmiddel 179, - ved Sporefarvning 198, - til Coccidiepræparater 246, - til Fremkaldelse af Sporulation hos Coccidier 246, - til Undersøgelse af Infusorier 253.
- Lak, Segllak 30, 242, Asfaltlak 194, Schellak 194, Lakmasse af Harpiz og Vox 56, Cire Galoz 56.
- Leprabacillen, Farvning af, 183, 183, 209 Anm.
- Lichen crispus 34, 36.
- Luft-Analyse 89—103.
- Luftpumpe, Hånd-, til Filtration 15, - til Luftanalyse 91, Kvægsølv -

- 116, 117, Vand - 15, - ved Anaërobodyrkning 115.
 Lycoperdon giganteum - Sporer 147.
- Malaria**, s. Koldfeber.
- Malignt Ødem, se Bac. oedematis maligni 235.
- „Mayers Vædske“ 29.
- Markmus 132, 233 (Snive).
- Mastceller 182 Anm.
- Methylenblåt, dobbeltfarvende 182, Kali-Methode (Löffler) 207, Karbol-Universalmethode (Kühne) 183, 195, 206.
- Microsporidier 250.
- Microc. tetragenus, Farvning af - 184.
- Miltbrand, se Bac. anthracis.
- Molluscum contagiosum 248.
- Molekularbevægelser 177.
- Monocystis lumbrici 252.
- Mucor 216.
- Mus, Musehold 132, Modtagelighedsforskjel hos Arter og Slægter af - 132, Obduktion af - 152, Sarkosporidier hos - 251.
- Museseptikæmi 52.
- Muskelpulver af raslesyge Dyr 238.
- Musæumskulturer 242, Soykas - 24.
- Myxosporidier 251.
- Mælk, - til Indsamling af B. lactis 213, - til Indsamling af Oidium lactis 216, - kimfrit taget 157, - til Tyfusbaciller 221, Sterilisation af - 221.
- Mælkesyre, - Prøven ved Tyfusdiagnosen 221, - som Neutralisationsmiddel 26, - ved Podning af Raslesyge 238—39.
- Narkose** 134.
- Natron, - til mikroskopisk Brug 200, indigosvovlsurt - til Anaërobodyrkning 107 og som Prøvemiddel 107, myresurt - til Anaërobodyrkning 107, svovlsurt - til Aëroskoper 98.
- Nellikeolje, anvendt ved Grams Methode 208, - uhensigtsmæssig som almindeligt Klaringsmiddel 194 Anm.
- Nivellerstativ 74.
- Næringssubstrat, fast - 30, flydende - 26, - for Anaërobionter 107, - for Gjær og Skimmel 28—29, 42, gelatinerende - 34, 47, 49, Magasineringsaf - 29—30, mineralsk - 29, 49, surt - 223, ursterilt - 154—58.
- Objektglas**, hulslebet 124.
- Objektglaskulturer, Brefelds - af Skimmel 130—31, Kochs - på Gelatine 71—72.
- Oidium lactis 216.
- Olje, som Skumdæmper 101, 103, - til Anaërobodyrkning 109, - til Opvarmn. af Drivhuse 68—69, - til Påfyldning på Thermostat (Parafinovn) 201.
- Opbevaring af Mikrober 241.
- Opklæbning af Snit på Objektglas 203.
- Opslemninger, Bakterie - til Desinfektionsforsøg 162.
- Opvarmeligt Objektbord 126.
- Opvarmning, af - Dækglaspræp. som Hærtningsmiddel 191, som Tørningsmiddel 190, - for at give Sporer Farvningssevne 197, - for at forøge Farvekraften 180, 192.
- Osmiumsyre, - i Hermann's Vædske 248, - ved Skimmelpræparation 210—11.
- Oxespringorm, Farvning af, 184.
- Pagets disease** 248.
- Parafin, Indsmeltning i - 201—3, - til Tilkitning af mikr. Præp. 177, - med Vaseline og Vox til Anaërobodyrkning 109.
- Pasteurisation 10, - af Serum 44, - ved Rendyrkning af Vibrion septique 235 og af Tetanusbacil 237.
- „Pasteurs Vædske“ 29.
- Pebrinen 250.
- Pepton-Opløsning til Kolerakultur 28.
- Pigmentbakterier, Indsamling af - 214, - på Kartofler 31, - ved Desinfektionsforsøg 160.

Pikrinsyre 187, 208.
 Pikrokarmín 245.
 Pipetter 50, Sterilisation af - 50, 83,
 Pasteurske - 60, 61 (Fabrikation),
 indsnevrede Pasteurske - til Anaë-
 robdyrkning 115, til Opsamling af
 Kulturvædske 124.
 Pladekulturer 73—81, - i Agar 81,
 - i serumholdige Geléer 82, 223,
 - på Dækglass 127.
 Pneumococcus, s. Diploc. Fraenkelii.
 Podenål, Glas - 61, Platin - 59, 61,
 - på Glasrør 114.
 Porcellainsfilter 11—18, dets Prøvelse
 12, dets Rensning 17—18.
 Protozoer 243—254.
 Psorospermiosis follicularis vegetans
 248.
 Pulverfilter til Aëroskopi 95—100, 71.
 Pyrogallol til Anaërobdyrkning 109
 —10, 112.

Rabies, se Indpodning, Vaccine (142
 —44).
 Raceforskjel hos Bakterier 167—68,
 217, 240, hos Kartofler 26.
 Reagensglas 20, - til Dyrkning på
 Kartofler 33, - til „Minimalkul-
 turer“ af Skimmelsvampe 131,
 - til „Rullekulturer“ 77, særlige -
 til Bakteriekulturer 21.
 Raslesyge, s. Bac. Chauveaui 237.
 Regulator, s. Varmeregulator.
 Rendyrkning 51—58, særlige Exx.
 på - 212—39.
 Rhizopoder 243.
 Ridskulturer i Reagensglas 72, - på
 Objektglas 71, - på Serum 82.
 Roux's Kolbe til anaërob Dyrkning
 114.
 Rosingelatine 42.
 Rullekulturer 77, 97, 102, 122, - i
 Reserve v. Pladespredning 76.
 Rødsyge, s. Bac. erysip. suis 234.
 Rørsukker til Opbevaring af Gjør-
 kulturer 241, - til Næringssubstrat
 27, - til Pulver-Aëroskoper 98.

Såning 58, - fra Flaskespredninger
 80, - fra Levende 153, - fra Liborius-
 Kulturer 119, - fra membranøs
 Angina 225, - fra Museblod 152,
 - fra Risvandsexkrementer 228,
 - fra Skimmelmýkoser 151, - fra
 Tuberkelkulturer 231, - fra tuber-
 kuløse Foci 151, 230, 231, - i Rea-
 gensglas 62, - i Salomonsens Kul-
 turkolber 62.
 Saccharomyces 216.
 Safranin 211.
 Sand til Luftfiltration 96, - til Ud-
 gnidning af Podemateriale 151.
 Saprophyter, Indsamling af, 212.
 Sarciner 212.
 Sarkosporidier 251.
 Segllak 30, 242.
 Sektion, „bakteriologisk“, 148—53.
 Sektionsbakke 148.
 Selvsugende Kolber til Anaërobdyrk-
 ning 109, - til Luftundersøgelse 94.
 Serum 42, - Agar-Gelatine 47, 82.
 Filtration af - 46 Anm., Gelati-
 nering af - 44—45, Glycerin - 47,
 230, Opbevaring af - 46, Opsamling
 af - 42, 156, af Menneske - 223,
 - af serøse Transsudater 157, Pod-
 ning fra - Kulturer 136, Spredning
 på - 82, i - Agar 82, 119, 223,
 Sterilisation af - 44, - tilsat til
 Bouillon 240. Om dets Anvendelse
 som Dyrkningssubstrat se B. diph-
 theriae, necroseos, tuberculo-seos,
 Diplococcus gonorrhoeæ.
 Serøse (hydropiske) Udsydedninger
 46, Opsamling af - 157.
 Sikkerhedsbrænder (Kochs) 66 Anm.
 Silketråd, Indtørr. af Bakt. på, 163,
 172.
 Skimmelsvampe, -dyrkede på Objekt-
 glas (Brefeld) 130, på Reagens-
 glas (Unna) 131, Farvning af - 211,
 Indpodning af - (Favus) 134, Ind-
 samling af - 216, mikroskopisk
 Undersøgelse af - 210—11, Nærings-
 substrater for - 28, 42, 48, Ren-
 dyrkning af - fra én Spore 51, Såning

fra - mykoser 151, - Sporer ved Desinfektionsforsøg 185.
 „Smegmabaciller“ 209 Anm.
 Smittebakterier 217.
 Smør, Dyrkning i, 209 Anm.
 Snitpræparater af Gelatinekulturer 210.
 Snive, se Bac. mallei 233.
 Sollyset som Desinficiens 196, - Virkning på Bouillon 26.
 Spiriller, Arter af - 230 Anm., Indsamling af - 213, Sp. Metschnikowi 239, Vanskeligheder ved Artsdiagnosen 227.
 Spirillum cholerae asiaticæ 226-30, - dræbes let ved Tørring 240, Dyrkning af - i Pepton 28, - farvet i Dækglaspræparat 194, - i Drikkevand 86, - danner Koleragift 19, Svinghår farvede hos - 199, Vanskeligheder ved Diagnosen 227.
 Sporer, - af B. anthracis 124, 129, 163, 234, - af B. subtilis 54, 128, 164, - af B. tetani 237, - af Gærsvampe 49, - af Skimmelsvampe 165, - af Sporozoeer 244, 245, 246, 247, 250, 251, 252, asporogene Racer 176, - bærende Baciller indsamlede 215, Farvning af - 197-98, - forskellige i Sejglivethed 55, Farvningsevne 198, Form, Lejring, Størrelse 215, - i Jord 164, 172, Anm. 235, 236, Tilintetgørelse af - ved afbrudt Opvarmning 8.
 Sporozoeer 244-52.
 Spredningsmetoder 55-58, Spredning i højt Gelélag (Liborius) 118, smlg. iøvrigt bakteriologisk Analyse.
 Sprøjteflaske, Pasteurs, 15, 154.
 Sprøjter 135, 136, 138.
 Stanniol 30.
 Staphylococcus pyog. aureus 218, Opbevaring af - 240.
 Sterilisation 1-20, - ved Varme 1-11, ved Filtration 11-18, ved Kemikalier 18-19.

Stikkulturer 62, - under Brint 113, - under Gas 113.
 Streptokokker 219, Str. pyog. 218, Str. erysipelatis 218, Bevarelse af Virulensen 240, - ved membranøse Anginaer 219, Str. lanceolatus Pasteurii se Diploc. Fraenkelii.
 Støv, se Luftanalyse.
 Sublimatvand til Desinfektion 19, - Desinfektionsevne prøvet 170, - til Fixation af Væv 200, 248.
 Sukker, se Druesukker, Rørsukker. Surra 252.
 Svedske-Afkog 28, - til Indsamling af Skimmel 216.
 Svinepest, Farvning af Bakt., 183.
 Svinerosen, se Bac. erysip. suis 234.
 Svingtråde, farvede efter Löffler osv. 198, - farvede hos Koleraspiriller 199, - ved Tyfusdiagnosen 222, - synlige uden Farvning 198.
 Svovlsyringvand ved Farvning af „Syphilisbaciller“ 209 Anm.
 „Syphilisbaciller“ 209 Anm.

Thermostat, se Drivhus.

Thermometer, elektrisk - 171, Løgerings - 171, Hylster til - 171.

Thermoregulatorer, se Varmeregulatorer.

Tillakning af Beholdere med Næringssubstrater 30, - af Kulturer 242.

Torula 217.

Trichomonas 252.

Tropæolin 233.

Tuberkelbacil, se Bac. tub. hominis.

Tuberkulin 232.

Tælling af Kim i Pladekulturer 75.

Tørring, - af Dækglaspræparater 190, 193, - af Kulturer 162, 165, 241-42, - af parafin-indsmeltede Snit 203, - af farvede Snit (Snive) 233-34, - af virulent Kjød (Raslesyge) 238.

Tørsterilisation 2.

Udvadskning, se Differentiering.

Uhrglas, - ved Parafin-Indsmeltning

202, - ved Farvning under Opvarmning 188.
 „Universalmethode“ til Farvning 183, 206—7.
 Urin, Amøber i - 243, - Gelatine 213, 223, - kimfrit opsamlet 155, 157, - som Næringssubstrat, alkalisk (Miltbrand) 28, sur (Gonokok) 223, Tyfusbaciller i - 222.
 Ursterile Næringssubstrater 18, 154—58.
 Vaccine mod Miltbrand 19, - mod Rabies 143—44.
 Vand-Undersøgelse, se Drikkevands-Undersøgelse.
 Vandluftpumpe, se Luftpumpe.
 Varmeregulatorer 65, Bohrs - 67, Reicherts - 65, Rohrbeck-Meyers - 66.
 Varmekasser, se Drivhus, - til Filtration 38, - til Stivning af Serum 45, - til Mikroskoper (Panum) 126.
 Vat, hygroskopisk, - til Agarfiltration 39, - låse, rørformede 23, simple 21.
 Veilleuser 99.
 Vibrio septique, se Bac. oedematis maligni 235.

Vinsyre 27.

Virulens-Svækkelse, kunstig 63, 176, naturlig 220, 240 (Dipl. Fraenkelii), 219, 240 (Streptokokker), 239 (Bac. necroseos), 237 (Bac. Chauveau).

Xylol som Klaringsmiddel 195, - som Opløsningsmiddel f. Kanadabalsam 194, - som Udvadskningsmiddel (for Anilinoelje) 209, - ved Parafinindsmeltning 201, 203.

Ziehl-Neelsens Farvemethode 196, 209.

Æg, - som Kulturapparat 48, - som Klaringsmiddel 37, ursteril Æggehvide fra - 155.

Æggehvide, ursteril 155, - i Undersøgelsesvædske for Infusorier 254.

Ætheriske Olier som Klaringsmiddel 194 Anm., - som Sterilisationsmiddel 19.

Æther, - til Narkose 134, - til Præp. af Dækglaspræp. 191, - til Parafinudtrækning 203.

Ølurt 28.

Ølurt-Agar 42.

TILFØJELSER.

- Til S. 4, L. 15. De her og i det Følgende i Parenthes anførte Numre og Bogstaver R. og W. henvise til Rohrbecks og Wiesneggs *Kataloger: Rohrbeck*, Bakteriologische und hygienische Apparate. Berlin 1891. *Wiesnegg*, Catalogue des instruments de laboratoire. Paris 1889.
- Til S. 11, L. 2 f. n. Af Chamberlands Filtre skal man forlange Mærket F, der er fabrikeret af hårdere og bedre Porcellæn end de andre.
- Til S. 28, L. 20 og S. 42, L. 4. I Stedet for Ølurt, som ikke overalt er let at erholde til enhver Tid, kan benyttes *Malteextrakt*, efter Omstændighederne fortyndet med Vand eller tilsat gelatinerende Substrater og derpå klaret med Æggehvite.
- Til S. 29, L. 10. Smlg. ndf. Tilføjelsen til S. 231, L. 12—15.
- Til S. 36, L. 6 f. n. Ved Alkaliniseringen af Næringssubstraterne, særligt af *Gelatinerne*, bør man følge de to af *Petri* (Der Cholerakurs 1893) givne Råd: At alkalinisere med tynd Natron-Opløsning, *indtil fint mærkende blåt Lakmuspapir bliver endnu stærkere blåfarvet*, samt efter den derpå følgende Kogning *at prøve Reaktionen påny* og om fornødent tilsætte lidt mere Natron.
- Til S. 44. *Lorrain Smith* anbefaler (Brit. med. journal 1894. S. 1177) følgende Fremgangsmåde ved Tilberedningen af fast Nærings-Serum: Til klar *hæmoglobinfri Oxebloodserum* sættes 1—1½ pro mille *Natron*; denne Blanding kan nu steriliseres ved Kogning eller ved 120° i Autoklaven uden at blive uigjennemsigtig; man får en *klar Gelée*, der efter foreløbige Forsøg egner sig godt til Næringssubstrat. Skulde fremtidige Forsøg vise, at den kan erstatte det på sædvanlig Måde tilberedte Serum, så er unægtelig meget vundet. — Af *Høse-æggehvide* tilbereder *Smith* en lignende *klar Gelée* ved at behandle Hviden med en Æggepidsker, indtil den taber sin Konsistens, tilsætte 40 pCt. Vand, blande omhyggeligt, filtrere gennem Musselin, tilsætte 1 pro mille *Natron* (og eventuelt lidt Sukker) og sterilisere ved 120°.

Til S. 49, L. 7. *Elion* anbefaler (C. f. Bakt. u. Par. XIII. 749) fremfor Gipsblokkene små *Leerblokke* fra Firmaet C. Gerhardt i Bonn.

Til S. 65, L. 1. Bedre end Olje er *Glycerin*.

Til S. 111, L. 12. Ganske de samme Fremgangsmåder, som i det Følgende anbefales til Dyrkning under Brint, lade sig naturligvis anvende ved Dyrkning af Bakterier under *ren Ilt*, hvilken undertiden kan være ønskelig.

Til S. 331, L. 12—15. I den seneste Tid anbefaler *Malm* følgende Glycerin- og Asparaginholdige Saltopløsning som fortrinligt Næringssubstrat for *Tuberkelbacillen*: Aq. destill. 500. Glycerin 25. Acid. tartar. 1,3. Nitras ammon. 1,3. Phosphas ammon. 0,2. Carbonas kal. 0,2. Carbonas magnes. 0,13. Sulph. ammon. 0,08. Kaliumsilicat tre Dråber. Asparagin 5. Neutraliseres. — I Næringsvædske af denne, lignende og simplere Sammensætning lade også andre pathogene Bakterier sig dyrke.

