

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.

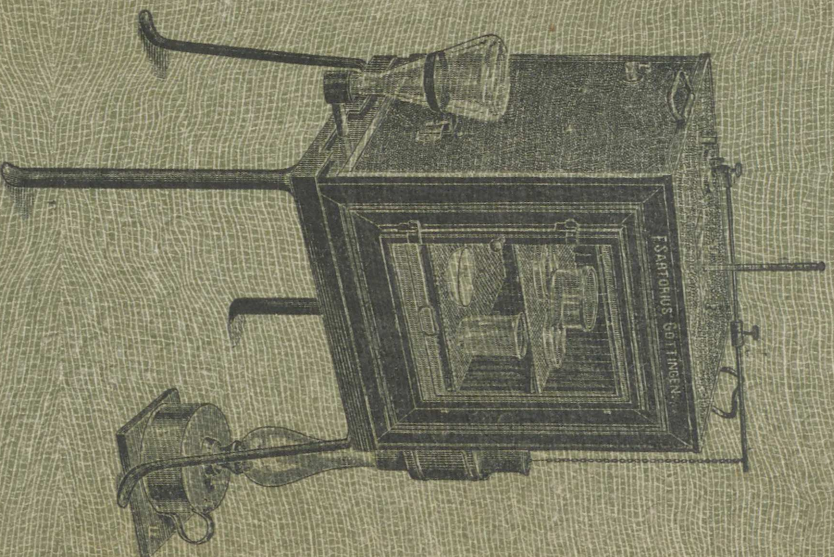
Rettigheder

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*



NIELS BENDIXEN:
GÆRINGSFYSIOLO
GISK TEKNIK FOR
FARMACEUTER ---



F. SARTORIUS GÖTTINGEN

KJØBENHAVN • H. HAGERUPS
BOGHADEL • HOVEDKOM-
MISSIONÆR FOR NORGE: H.
ASCHENHØV & CO., KRISTIANIA

6631.

1902.

1902.



663 /

6631

I B 9 l

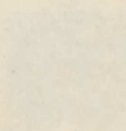
AMINOSTERILABER TERN

AN KORTFATTET

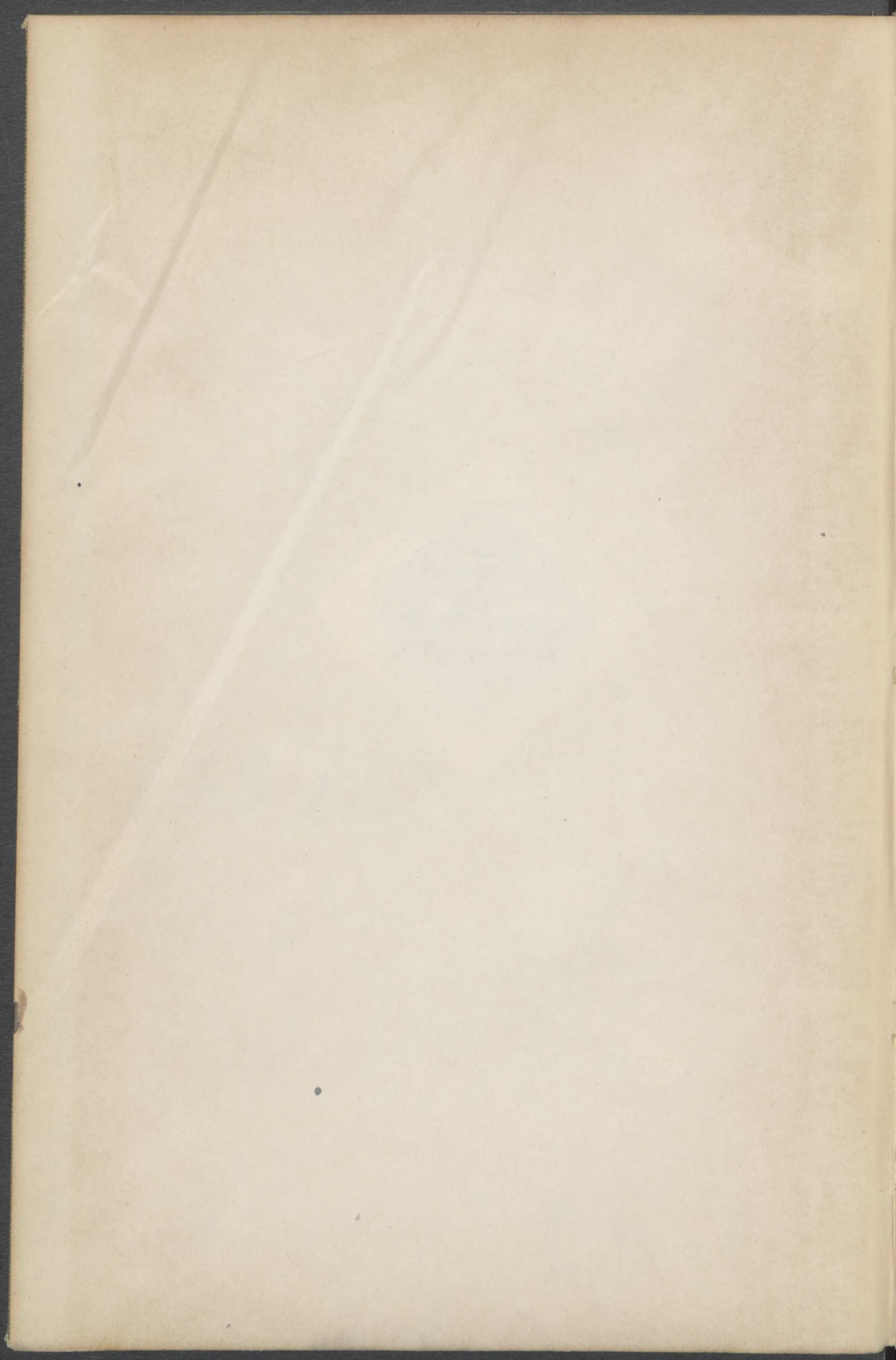
FILEDING FOR FARMACIES

NIELS HENDIKEN

1911



AMINOSTERILABER TERN
FARMACIES
1911



GÆRINGSFYSIOLOGISK TEKNIK

EN KORTFATTET
VEJLEDNING FOR FARMACEUTER

AF

NIELS BENDIXEN

CAND. FARM.



KØBENHAVN
H. HAGERUPS BOGHANDEL
AUG. ANDERSENS BOGTRYKKERI

1902

FORORD.

Paa flere af de væsentligste Arbejdsfelter i et Apothek griber Læren om Gæringsfænomenerne afgørende ind. Særlig gælder dette selvfølgelig om Virksomheden i Laboratoriet, hvor Laboranten jævnlig maa underbygge sit Arbejde med sin gæringsfysiologiske Viden, men ogsaa ved Præparation i Receptur og Dispensering i Skranke forekommer der stadig Tilfælde, hvor Kendskab til Mikroorganismernes Livsyttninger ikke er nogen unødig Ballast.

Erkendelsen heraf har da ogsaa ført med sig, at man ved flere af Udlandets farmaceutiske Læreanstalter dels allerede har indført Gæringsfysiologi som obligatorisk Studium, dels har forberedt en saadan Udvidelse af Lærefagene (som f. Ex. i vort Broderland Sverig, hvor Styrelsen for »Farmaceutiska Institutet« i sit Forslag af 1899 forlanger Studiet i Bakteriologi, der nu er fakultativt, gjort obligatorisk).

Ogsaa i andre Læreanstalter, hvor Naturvidenskaberne doceres, er Gæringsfysiologi blevet et ikke uvæsentligt Lærefag; saaledes har Polyteknisk Læreanstalt i København i Aar udvidet sin Undervisningsplan til praktiske Øvelser paa dette Felt.

Da der gentagende gennem den faglige Presse herhjemme er peget paa det ønskelige i, at ogsaa danske Farmaceuter

havde Lejlighed til et Indblik i denne, i hvert Fald i dens exacte Form unge, Videnskab, har Forf. efter Opfordring fra flere Sider besluttet at udgive denne lille Indledning til Studiet; den tilsigter kun at være Kolleger en ganske kortfattet Vejledning til Forstaaelse af den almindelige gæringsfysiologiske Teknik og at afgive Grundlag for et videregaaende Selvstudium.

Selvfølgelig ligger det udenfor Forf.s Maal, at denne Lærebog skal være Vejleder i pathogen Bakteriologi. Naar nemlig undtages enkelte Analyser, som vil blive omtalt her, og med hvilke Farmaceuten vil kunne bistaa Lægen, er Artsbestemmelse af pathogene Bakterier i en saa absolut Grad knyttet til lægevidenskabelige Forudsætninger, at Farmaceuten ikke med videnskabelig Berettigelse vil kunne dyrke dette Felt. Her fremtræder Læren om Mikroorganismene kun i Forhold til Lægemedlers Tilberedning og Opbevaring, men ikke til Diagnostisering af Sygdomme.

Fra forskellig Side har jeg mødt Velvilje under Udarbejdelsen. Ministeriet for Kirke og Undervisningsvæsenet maa jeg saaledes takke for pekuniær Støtte til Udgivelsen.

Forf.

1. KAPITEL.

Laboratoriet.

Studiet af Mikroorganismerne maa, naar det ikke drejer sig om en hurtig afsluttet, simpel Analyse, men det er forbundet ogsaa med Dyrkningsforsøg, foretages under Iagttagelse af visse Forsigtighedsregler, der koncentrerer i dette ene, at man maa undgaa ved Smitte — fra Luften eller paa anden Maade — at faa Misvisninger.

Mikroorganismernes overordentlige Lidenhed, deres ufravigelige Tilstedeværelse i alt Støv, og deres store Evne til at formere sig, frembyder for Iagttageren en stadig Fare for Fejltagelser, og selv om man drager sig alle Forebyggelsesmetoder til Nytte, maa man dog uafbrudt være paa sin Post og med vaagen Kritik betragte sit Objekt for at sikre sig mod Infektionsfejltagelser.

Et velindrettet Laboratorium giver derfor selvfølgelig størst Sikkerhed i Studiet, men med fornøden Agtpaagivenhed lader der sig dog ogsaa udføre paalideligt Arbejde selv under beskedne Forhold, og Begynderen vil uden uoverkommelig Udgift kunne anskaffe sig det til det indledende Studium nødvendige Materiel.

I den efterfølgende Beskrivelse af Laboratorie og Apparater er der i Samklang med Bogens Hensigt kun fremstillet de mest elementære Krav og nødvendigste Redskaber.

— — —

Lokalet maa være saa rent som muligt — jo færre Anlægs-punkter for Støv des bedre. Ingen unødvendige Opstillinger af Apparater eller Bohave, saa man nemt kan afvadske Borde, Gulve etc. Emailmalede Vægge er bedre end almindelige oliemalede, disse igen bedre end tapetserede. Linoleumsgulve maa foretrækkes for revnede, støvfylgte Brædegulve osv. Men ofte maa man jo under sit Arbejde hjælpe sig med særdeles tarveligt Udstyr, og for mange Kolleger vil et Vagtværelse blive Laboratoriet. For nu imidlertid at faa det mest mulige ud af et saadant Lokale, kan man benytte en af Professor Emil Chr. Hansen anvist Maade og inde i et saadant Værelse skaffe sig et lille fixt, alle Fordringer tilsvarende „Laboratorium“. Man lader sig kun forfærdige en Glaskasse med Skydedør, ca. dobbelt saa stor som en almindelig Glaskasse til en analytisk Vægt. Denne Kasse vadske man før Brugen indvendig med en desinficerende, ikke for hurtigtørrende Vædske — f. Eks. 1 ‰ Sublimatvand eller en Blanding af lidt Glycerin og Sprit — og lukker Døren. Efter et Kvarters Tids Forløb vil Luften inde i Glaskassen være ret ren, idet de Kim, der svævede om i den, nu vil have aflejret sig paa Væggene, hvor de yderligere vil være dræbte af den desinficerende Vædske. Naar man nu arbejder med blottede Arme inde i en saadan Glaskasse, og Armene ogsaa er vadskede med en desinficerende Vædske, naar man ikke aabner Døren mere end netop nødvendigt og tillige sørger for, at der ikke bliver Lufttræk i Værelset, kan man uden særlig Frygt for Infektion foretage Manipulationer inde i et saadant Rum. Glaskassen laves bedst med Ramme af

Mahogni- eller Nøddetræ, i hvert Fald maa man vælge en Træsart, som ikke slaar sig.

— En Del af de Arbejder, man maa foretage under Studiet, kan imidlertid ikke udføres inde i denne Kasse. Dette gælder f. Ex. om Infektion af Kulturkolber i Flamme, der maa ske ude i selve Værelset paa et Bord. For under Arbejdet at forhindre Ophvirvling af det Støv, der ligger paa Bordet, vadsker man ogsaa dette med Desinfektionsvædsken og saa rigeligt, at Pladen er fugtig, medens man arbejder.

— — —
Nogle Redskaber og deres Behandling. Det nytter jo imidlertid lidet, at man søger at gøre Arbejdsrummet saa sterilt som muligt, hvis de Apparater og Beholdere, man benytter i det, er inficerede. Og inficerede vil f. Eks. Spatler, Pincetter, Præparernaale, Objekt- og Dækglas være, naar de tages frem fra Beholdningerne til Brug. De maa da renses for Organismer, og dette sker lettest ved den saakaldte Flammerensning (eller Flambering, en slet Fordanskning af det tyske Flambierung): Man lader en stærk Flamme (fra en Bunsen-Gaslampe eller, hvor Gas ikke haves, fra en lille Bartels Spiritus-Loddelampe) spille et Øjeblik hen over en Metal- eller Porcellainstallerken, derefter op under en Glasklokke, som man derpaa sætter paa Tallerkenen, og sluttelig hen over det hele; derved bortbrændes alle Kim. Ved denne som ved alle følgende Flammerensningsprocesser maa man erindre sig, at her ikke er Tale om at *opvarme* Apparaterne, det er fuldt nok, at Flammen spiller hen over dem.

Med en Pincet eller Tang (aldrig med Fingrene, der er farlige Smittebærere) omfatter man derefter de forskellige Uten-silier, man skal bruge, trækker dem saaledes gennem Flammen, at hele deres Overflade paavirkes, hvorpaa de hurtigst anbringes under Glasklokken. Naar paa denne Maade Flammerensningen

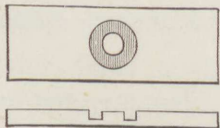
af de Apparater, man skal bruge, er tilendebragt, lader man igen Flammen spille hen over Tallerken og Klokke, hvorpaa det hele hurtigt sættes ind i Kassen.

Glas med sterile Næringssubstrater og med Kulturer renses enkeltvis paa samme Maade, anbringes paa en flammerenset Tallerken eller Metalbakke, atter lader man Flammen stryge hen over det hele og sætter det hurtigt ind i Kassen.

Nu har man saa vidt gør ligt skaffet sig et sterilt Arbejdsrum og sterile Arbejdsredskaber. Men fuldt og fast maa man ikke løbe an paa Steriliteten, idet der gives mange Muligheder for en Infektion. Under det mikroskopiske Studiums Forløb maa man derfor stadig være paa Post mod Fejltagelser ved Observationerne, og ad Veje, som senere skal nævnes, sikre sig de rigtige Resultater.

— Som man saaledes i det større har skaffet sig et sterilt Rum, hvori man kan arbejde — tilberede sine Renkulturer, foretage sine Udsaaninger — saaledes kan man ogsaa i det ganske smaa skaffe sig smaa sterile Glaskasser — de saakaldte Kamre — inden i hvilke man kan foretage sine Dyrkningsforsøg, og som man kan tage ud i Luften og anbringe under Mikroskopet for at iagttage Mikroorganismernes Udvikling, uden at man behøver at frygte for Infektion fra Luften.

Ranviers Kammer er et Objektglas, hvori er nedslebet en ringformig Fordybning, som er bestemt til at optage en ganske ringe Mængde Vand. Den indenfor Ringen værende skiveformige Del af Objektglasset er slebet lidt ned, saa den ikke er i samme Højde som den øvrige Del af Glasset. Paa dette nedslebne Plan anbringes en lille Draabe Næringsvædske med Kulturen, et Dækglas kittes fast ved i Randen at bestryges med lidt Vaselin, saa Kulturen og Vandet i Rillen ikke kan tørre bort. Kamret, som man har



fremstillet i den sterile Glaskasse, kan nu tages ud i Luften og iagttages under Mikroskopet.

Mere anvendt og i mange Henseender mere formaals-tjenligt end Ranviers Kammer er *Böttgers Kammer*. Det bestaar af en Glasring, som ved Hjælp af Vaseline, Vaseline med Vox eller Vaseline med lidt Harpix er kittet fast til et Objektglas. Inden for Ringen lægges en Draabe Vand, og et Dækglas, hvorpaa er anbragt en Draabe Næringsvædske med Kulturen, kittes ligeledes fast til Ringen. Man har nu et lukket Kammer, og da det selvfølgelig er fremstillet i den sterile Kasse og af flammerensede Glasdele, vil Kulturen fremtræde i ren Tilstand, naar da ikke et Uheld i Form af Infektion er stødt til under Præparationen, og naar Dækglas, Ring og Objektglas ere godt sammenkittede. — Paa ethvert Stadium af Udviklingen kan Dækglasset tages af Ringen, renses for Vaseline, Næringsvædsken suges bort fra Kulturen med Filtrepapir, og man kan derefter fremstille sig et Permanentpræparat ved Nedlægning i Gelatine, Canadabalsam etc.

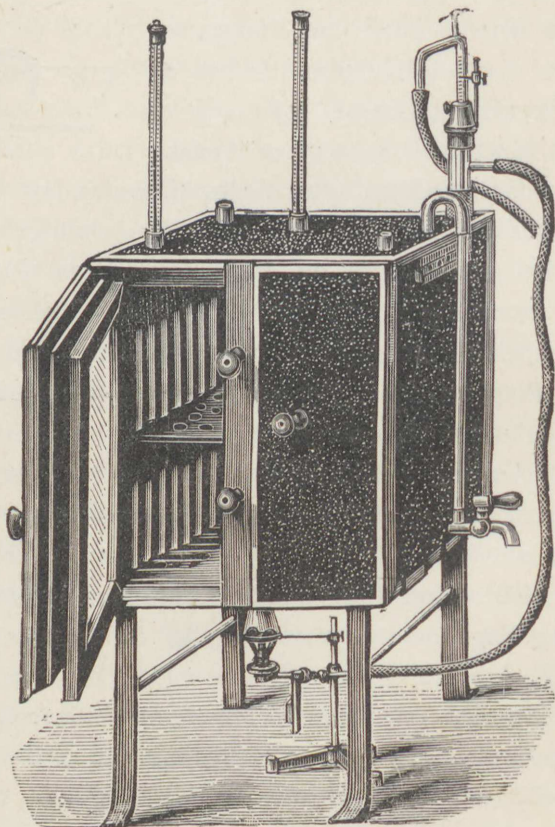


— *Mikroskopet*. Det mindst overkommelige Etableringspunkt for Begynderen er selvfølgelig Mikroskopet. Til det indledende Arbejde, medens Studiet endnu kun drejer sig om større Mikroorganismer som Skimmel- og Gærsvampe, vil Begynderen kunne nøjes med et Mikroskop, der med tørre Linser kan afgive klare Forstørrelser paa 100—150 og 600—700 Gange. Ogsaa til grovere Bakterieundersøgelser vil et saadant udstyret Mikroskop kunne slaa til, men saa snart Talen er om mere indgaaende bakteriologiske Observationer, vil det være nødvendigt at anskaffe en Immersionslinse og da helst en Olieimmersion paa $\frac{1}{12}$ (Linsens ækvivalente Brændvidde i Tom.).

— *Thermostater*. Ind under Laboratoriets almindelige

Udstyr hører endnu Thermostaterne, d. v. s. de Varmekasser, hvori man foretager sine Dyrkningsforsøg.

En ganske primitiv Vegetationskasse kan man lave sig af en almindelig Kiksdåse. Man paalimer Filt eller tykt Klæde



Dobbeltvægget Thermostat med Thermoregulator.

paa de tre Sider, Bunden og Laaget, lægger den med den ubedækkede Side paa en Trefod og anbringer et almindeligt Natlys under den. Den øverste Side har man gennemhullet og gennemstukket en Prop med Thermometer, og man kan nu ved at gøre Afstanden mellem Lampen og Daasen større

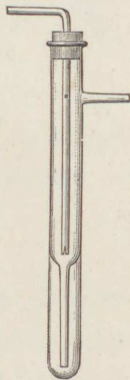
eller mindre samt ved at skyde en eller flere Asbestplader imellem nogenlunde regulere Varmen.

Men vanskeligst er det selvfølgelig at holde konstant Varme om Natten, naar Værelsets Temperatur synker. Ved grove Undersøgelser kan Begynderen alligevel nøjes med Kikdaasen, men saa snart det drejer sig om at benytte Temperaturen til Analyse, maa man skaffe sig en ensartet Varme i Thermostaten.

Dette opnaar man paa to Maader:

Dels benytter man en dobbeltvægget Kasse og fylder Mellemrummet med Vand. Over dette gyder man en ringe Mængde Olie, dels for at forhindre Fordampning, dels for at undgaa aerob Bakterieu udvikling. Kassen er gerne lukket med to Døre, af hvilke den inderste er en Glasdør. — Og dels benytter man for at opnaa konstant Varme en Thermoregulator, som regulerer Gastilstrømningen efter Varmen i Kassen.

Rohrbecks Thermoregulator er ganske billig men heller ikke meget fintmærkende. Den har et Tilgangs- og et Afgangsrør for Gassen; det sidste naar ned i Kviksølv, som ved at stige eller falde spærrer mere eller mindre for Gassen. Regulatoren indstilles ved at trække Røret opad eller skyde det ned i Kviksølvet.



Reicherts Thermoregulator benyttes mest; den ligner *Rohrbecks* noget men er forsynet med et Siderør med Skrue og Stempel, der indstiller, idet det bringer Kviksølvet til at stige eller synke. —

Til Thermostater, som opvarmes ved Petroleumslamper, benytter man Regulatorer, som kan aflede eller tillede Lampens Varme fra Vandkappen som fornødent.

— *Sterilisering* foregaar enten ad tør eller vaad Vej, og Apparaterne er indrettet derefter.

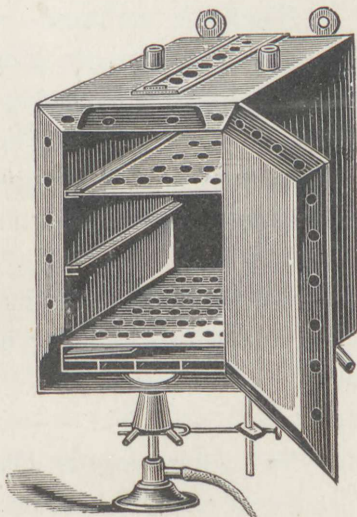
Til tør Sterilisering anvender man enkelt- eller dobbeltvæggede Jærnblikkasser, som helst maa være beklædt med



Dobbeltvægget Thermostat med Petroleumslampe.

Asbest. Varmen reguleres ved Thermoregulator. Genstandene anbringes ikke direkte paa Bunden men paa Plader af Traadnet. Selvfølgelig fyldes de dobbeltvæggede Kasser ikke med Vand.

Til vaad Sterilisering ved strømmende Dampe kan man anvende en almindelig cylindrisk Zinkspand med Laag. Den fyldes ca. en Fjerdedel med Vand, og paa Zinkbakker, af hvilke den nederste hviler paa paaloddede Vinkelstykker i Spanden, medens de andre er forsynede med Fødder, der hæve dem hver især over den nedenfor staaende Bakke, saa man paa denne Maade faar Bakkerne anbragt i Etager, anbringer man da de Glas etc. med Nærings-substrater, der skal steriliseres. Kun maa man bemærke sig, at den første Bakke ikke maa anbringes saa langt nede i Spanden, at det kogende Vand skyller op om Glassene, dels fordi Sprøjt fra Vandet da let trænger ind i Glasset, dels fordi dette, hvis man ikke anvender destilleret Vand — hvad der ikke paa nogen Maade er nødvendigt — skæmmes af Kalkbeslaget.



Dobbeltvægget Sterilisationsovn.

Sprøjteflasken anvendes med sterilt Vand. Man propper lidt Bomuld i Blæserøret og koger Flasken over aaben Ild i en Time. Bedst anvender man Flasker med en Indsnevring paa Blæserøret, thi man putter da kun Bomulden meget løst i Røret saa Dampene let kan slippe ud under Kogningen og samtidig sterilisere Bomulden. Naar Kogningen er til Ende, propper man Bomulden saa fast ind mod Indsnevringen, at man netop kan blæse Vand ud.

Pipetter laver man sig selv af Glasrør, ca. 1 mm. i Lys-

ningen, 10—15 ctm. lange. Man laver to ad Gangen, idet man tager et Stykke Glasrør, dobbelt saa langt, som man ønsker Pipetterne, og trækker det over Flammen lidt ud paa Midten.

Pipetterne steriliseres ved tør Varme (120—130°) i en Time; før Steriliseringen propper man lidt Bomuld i den vide Ende, og Pipetten indpakkes i Papir. Naar den efter Steriliseringen skal bruges, rives Papiret over paa Midten, den øverste Halvdel rives først af, den anden lige umiddelbart før Pipetten stikkes ned i den Vædske, man vil opsuge.

— — —

Præparernaale laver man sig af Messingtraad, som files spidst i den ene Ende og bankes lidt fladt i den anden. De laves ca. 1 mm. tykke, 15 ctm. lange.

— — —

Til Opbevaring af Glasspatler, Præparernaale etc. efter Flammerensningen, benytter man en rektangulær Zinkkasse, 10—15 ctm. lang, 4—5 ctm. bred, $2\frac{1}{2}$ ctm. høj. Den tildækkes med en Glasplade. I den ene Ende har den en Udskæring, d. v. s. Endestykket er ikke mere end $1\frac{1}{2}$ ctm. højt, saa der bliver et Mellemrum mellem det og Glaspladen. Her igennem stikker man Spatler, Naale etc. ind i Kassen, saa man, naar den og Glaspladen er flammerensede, slipper for at løfte Glaspladen op for hver Gang, man under Spatlernes Flammerensning skulde lægge en Spatel ind i Kassen.

=====

2. KAPITEL.

Renkulturer.

Studiet af Mikroorganismer i Massekultur er betinget af dette ene: At man studerer Organismen i *Renkultur*.

Ved en Renkultur forstaar man en Kultur, om hvilken man *véd*, at den stammer fra *en enkelt Celle*. Det vil sige: Man maa, for at være sikker paa sin Undersøgelse, have set denne enkelte Celle udvikle sig til den Kultur, der er til Observation.

Et af de vigtigste Arbejder i Laboratoriet, Udgangspunktet for ethvert andet, er derfor *Fremstillingen af Renkulturerne*.

Bedst oplyses Rigtigheden af denne Slutning for Begynderen ved en Demonstration:

Man fremstiller sig f. Ex. en tynd Bouillon. I denne opløses ved svag Varme 10 % Husblas, der tilsættes noget *frisk* Æggehvide, opvarmes til dennes Koagulation og sies gennem Flonel eller, hvad der er bedre, filtreres i Varmetragt gennem Papir. Dette Næringssubstrat — Bouillon-Gelatine — hældes paa Medicin- eller Reagens-Glas à 15 C³, der ikke fyldes helt, lukkes med en Bomuldsprop og steriliseres i strømmende Damp i en Time, hvorefter man lader afkøle. Nu har man fremstillet en Næringsgelatine, som er steril, og som Bomuldsproppen holder beskyttet mod Infektion ude fra. Selvfølgelig

vil der efterhaanden samle sig en Del Kim fra Luften i Bomuldens ydre Lag (det er forøvrigt formaalstjenligt at overbinde Glassene, da man ogsaa derved beskytter Gelatinen mod for hurtig Indtørring); inden man benytter et saadant Glas Gelatine, maa Glasset flammerenses, hvorved ogsaa Bomuldsproppen tildels afsvides.

Denne Gelatine agter vi nu at anvende til en Luftanalyse.

Den foran beskrevne Glaskasse afvadskes, Gelatinen smeltes ved svag Varme, Glasset flammerenses og sættes ind. Derpaa flammerenses en Bakke og en Glasklokke, ind under hvilken lægges nogle Glasplader, nogle tykke, korte Glasstrimler; som kan lægges mellem Pladerne for at holde dem fra hinanden, og det hele lader man Flammen spille over, inden det sættes ind. Man lader nu Kassen staa lukket nogle Minutter, for at Glaspladerne kan afkøles, hvorpaa man hælder Gelatine i et Par Millimeter tykt Lag paa hver Plade, lægger Glasstrimlerne mellem, dækker til med Glasklokken og lader Gelatinen stivne.

Pladerne med Gelatinen tages senere ud og anbringes i Luften paa forskellige Steder, som f. Ex. i Opholdsværelser, Kælder, Have etc. Nogle Plader kan man lade staa udsat i et Kvarter, andre i en halv Time.

Tildækket med Glasklokke kan man nu lade dem henstaa 2—4 Dage, derefter tage dem frem og undersøge dem, eventuelt med Loup eller under Mikroskopet (Forstørrelse ca. 100). Man vil da se de første Anlæg til Kolonier efter de Kim, der blev aflejret paa Pladen fra Luften og nu udvikler sig med Bouillonon som Næring.

Man vil paa saadanne Plader faa en meget forskelligartet Vegetation. Skimmel, Gær og Bakterier trives Side om Side, og i Løbet af nogle Dage vil Partier af Pladen være tilgroet. Inden dette Tidspunkt maa man have gjort den Observation, der er Øjemedet med denne Luftanalyse: Man maa se, hvor

ulige hurtig Kimene udvikle sig, hvorledes to eller flere Kolonier kan fremstaa tæt ved Siden af hinanden og i Løbet af nogle Dage voxe sammen til én. Undersøger man nu en saadan stor Koloni under Mikroskopet, vil man maaske ikke kunne se, at den stammer fra flere Celler; det kan f. Ex. være i Udseende temmelig ensartede Gærceller, som har aflejret sig sammen.

Men med en saadan Koloni kan man ikke naa til noget exact Resultat; den vil ved et nøje Studium give saa forskelligartede Billeder for de samme Prøver, at man ikke vil kunne faa en overensstemmende Beskrivelse af den. Og et ret betydeligt Studium vil da være spildt.

Fundamentet for det gæringsfysiologiske Studium bliver derfor Encellekulturen. Men først gennem flere Stadier naaede man til den.

— — —

De første saakaldte Renkulturer fremstillede *Lister* i 1878, idet han fortyndede en Bakteriekultur saa stærkt, at han kun fik Udvikling i enkelte Kolber med Næringsvædske, naar han til en Række Kolber satte lidt af Fortyndingen. Han gik da ud fra, at i de Kolber, hvor han fik Udvikling, havde han en Renkultur. Denne Listers Fremgangsmaade kaldes Fortyndingsmetoden.

En Række Forskere arbejdede i Aarenes Løb videre, og man naaede et væsenlig Skridt frem, da *Koch* i 1883 gik over til at pøde Fortyndingen i smeltet Næringsgelatine i Stedet for i Næringsvædske. Den smeltede Gelatine blev da hældt op paa Glasplader, og naar den var stivnet, blev Pladen hensat til Udvikling. Havde Fortyndingen da været passende, fremkom der hist og her smaa Pletter — de foran omtalte Kolonier — af den Organisme, der var bleven fordelt i Gelatinen, og naar en saadan Koloni blev rystet op med Vand, og der

af denne Fortynding blev fremstillet en ny Gelatineplade, hvorfra der igen blev taget en ny Koloni, med hvilken som Udgangspunkt man atter foretog oven fremstillede Operation, maatte man, resonnerede Koch, tilsidst komme til Encellekulturen.

Samme Aar udarbejdede vor Landsmand *Emil Chr. Hansen* den exacte Rendyrkningsmetode, der nu anvendes. Ligesom Koch opslemmer han lidt af Kulturfortyndingen i smeltet Næringsgelatine, men medens Koch derefter overlader til Cellerne at udvikle sig som de kan bedst paa Glaspladen, og han derved løber den Fare, at den Koloni, han tager ud, stammer ikke fra én men fra to eller flere Celler, anbringer Hansen lidt af Gelatinen paa Undersiden af Dækglasset til et Bøttgers Kammer, sætter dette under Mikroskopet, undersøger, hvor i Gelatinen der ligger en enkelt isoleret Celle, markerer sig dette Sted, ser Cellen voxe til Koloni og tager sluttelig denne ud: Det er den exacte Renkultur.

Saa simpel denne Metode er, saa stor Revolte bragte den i Gæringsfysiologien, fordi det nu blev muligt at studere en hel Række Mikroorganismer i virkelig Renkultur.

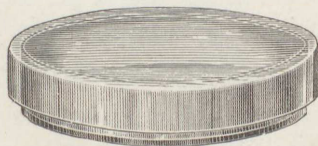
Desværre forudsætter denne Metode, at Cellerne, der skal rendyrkes, har en vis Størrelse, saa det er muligt at iagttage dem med saa svagt et Objektiv, at man kan overse en større Del af Dækglasset paa en Gang og sikre sig, at der ikke ligger andre Celler for tæt op ad den, man vil markere, saa deres Kolonier voxe sammen til en. Cellerne maa derfor være synlige ved en svag Forstørrelse, og desværre træder derfor Bakteriernes Lidenhed hindrende i Vejen for, at de kan rendyrkes paa samme Maade som Gær- og Skimmelsvampe. For Bakteriernes Vedkommende maa man endnu holde sig til Principet for de Kochske Pladekulturer, en Omstændighed, der bidrager

meget til at gøre Studiet af Bakterier besværligere og mere usikkert.

— — —

Til Fremstilling af Renkulturer efter Kochs Spredningsmetode anvendte man til en Begyndelse udelukkende — og anvender endnu paa mange Laboratorier — saadanne Plader af almindeligt Vinduesglas, som ovenfor er omtalt, ca. 10 ctm. i Kvadrat.

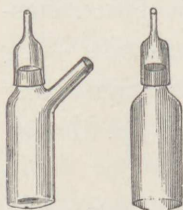
Nu anvender man hyppigst de meget dyrere men ogsaa mere praktiske Vegetationsskaale (Petri Skaale), der bestaa af to cirkelrunde, flade Halvskaale, af hvilke den ene er større end den anden og falder ned over denne som et løstliggende Laag. Skaalenes almindeligste Diameter er fra 10—15 ctm., Højden 2 ctm. Disse Skaale har den Fordel frem for Glaspladerne, at de bl. a. med Laaget paa kan anbringes under Mikroskopet og undersøges ved de svage Forstørrelser, uden at man risikerer at faa dem inficeret fra Luften.



Vegetationsskaalene steriliseres saaledes: De indpakkes i et Par Lag Papir og ophedes 1 Time i en Sterilisationsovn til 120—130° C. Efter Afkøling i Ovnens stilles de til Side i et Skab og kan opbevares i ubegrændset Tid til successivt Brug.

De til Rendyrkningen anvendte Næringsvædske og Gelatiner skulle selvfølgelig være steriliserede, og denne Sterilisation kan ske enten i Autoclaver med spændte Damp, hvorved Steriliseringen foregaar hurtigt, eller, som angivet for Bouillon-Gelatinen, i strømmende Damp. Autoclavernes Kostbarhed gør deres Anvendelse mere begrændset, og selv paa større Laboratorier nøjes man ofte med Apparater til strømmende Damp.

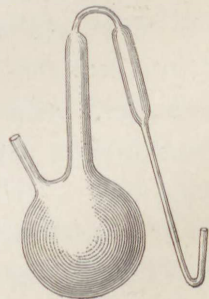
De Glas, man anvender til Næringsvædske og Gelatiner, kan være af enhver Art, smaa Medicinflasker, Reagensglas, koniske Kogekolber og lign. Udstrakt Anvendelse finder de



Freudenreichske Kolber, saavel til Næringsvædske som til Gelatiner. Oftest anvendes de paa 15 Gram, bestaa af et Glas med omhyggelig tilsleben Hætte, der foroven ender i et tyndt Rør, hvori man stopper lidt Bomuld, saa der herved fremkommer et Luftfilter.

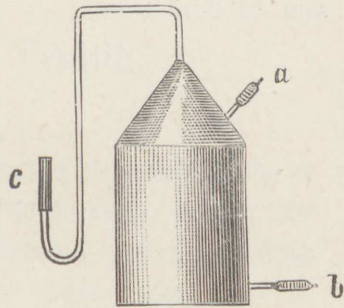
— Saa snart det drejer sig om at fremstille Renkulturene som Massekulturer til teknisk Brug, maa man benytte sig af Apparater, som gør det muligt at oparbejde den første ringe Renkultur til et betydeligt Kvantum. Det første Led i Rækken bliver da den Pasteurske Kolbe. Dens Konstruktion vil fremgaa af hosstaaende Tegning.

Paa Siderøret anbringes et Stykke Gummislange, som lukkes med en tilspidset Stump Glasstang. Gennem dette Siderør indføres Renkulturen i Kolben, hvis Hals er forlænget i et S-bøjet spidst tilløbende Rør, som tillader Luftvexling, uden at Luftens Mikroorganismer kan trænge ind i Kolben. — Efter at være udviklet i denne Kolbe, forplantes Kulturen



videre i en større Mængde Næringsvædske, som nu findes i en Metalkolbe. Her hjemme anvendes den saakaldte Carlsberg Kolbe saa godt som udelukkende. Den paafyldes den ønskede Mængde Næringsvædske gennem a, koges i 1 Time, Gummislangen b renses ved at noget af den kogende Næringsvædske tappes ud (der er lukket ved Hjælp af Klemhane), og der lukkes atter med den flammerensede og noget varme Glasprop. Derefter lukkes a ligeledes med Glasprop, og det steriliserede

Bomuldsfilter skrues paa. Efter fuldstændig Afkøling inficeres gennem a med Kulturen fra den Pasteurske Kolbe. Denne Infektion sker paa følgende Maade: Mellem Carlsberg-Kolben og Glaskolben anbringes et Gasblus i Højde med a. Glaskolbens Siderør nærmes til Flammen, hurtigt trækkes Gummislangen med Glasprop af, og Siderøret bringes ind i Flammen; Glaskolbens Kultur er nu beskyttet mod, at den kan blive forurenat gennem det aabne Siderør. Man fjerner nu Glasproppen i a, fører meget hurtig denne Gummislange ind i Flammen, og her forbinder man Siderøret og Slangen. Man kan nu tage Forbindelsen ud af Flammen, og naar Siderøret er blevet afkølet,



hældes Kulturen fra Glaskolben over i Carlsberg-Kolben. Men da der, efterhaanden som Kulturen forlader Glaskolben, suges uren Luft ind, og man derved vilde faa Renkulturen forurenat, maa Kimene i den indsugede Luft gøres uskadelige. Dette sker ved, at man, inden Inficeringen begynder, gløder Glaskolbens S-bøjede Rør ved den udblæste Del og holder denne glødende under hele Overhældningen. — Naar denne er tilendebragt, flammerenses Glasproppen til a, og samtidig med, at Siderøret trækkes ud af a inde i Flammen, sættes Glasproppen i, og den rene Kultur henstaar nu til videre Masseudvikling i Carlsberg-Kolben.

Denne mere omstændelige Udvikling — fra den ringe Mængde oprindelige Renkultur til den nødvendige store Massekultur fra flere samtidige Carlsberg-Kolber — omgaar man i Gæringstekniken ved Anvendelsen af de saakaldte Propa-

geringsapparater, der alle er indrettede paa dette Princip, at der i en stor Beholder udvikles en stor Massekultur, men at kun en Del af denne tappes ud af Beholderen, medens en anden mindre Del holdes tilbage i Udviklingsbeholderen eller i en med den forbunden Reservebeholder til Inficering af ny Næringsvædske. Saadanne Propageringsapparater er herhjemme konstruerede af Hansen & Kühle, Jørgensen & Berg samt af Forfatteren.

Rendyrkningens Teknik.

Kochs Spredningsmetode paa Gelatine fremkom som foran anført for et Par Decennier siden; i de forløbne Aar er det ikke lykkedes Videnskaben at finde sikrere Vej til Fremstilling af Renkulturer af Bakterier, og der er derfor ikke givet os andet Valg end at udnytte Kochs Metode med størst mulig Omtanke.

Desværre giver den ikke det exacte Resultat, der maa forlanges videnskabeligt. Hansen har kontrolleret Udviklingen af Gærusæd paa nogle Kochske Gelatineplader og fundet, at $1\frac{1}{2}\%$ af Kolonierne var dannet af to Celler. Holm fik kun 100 Kolonier af 108 Gærceller, og Miquel 100 Kolonier af 134 Bakterier. Der er saaledes Spillerum for store Fejltagelser.

Fremgangsmaaden ved Fremstillingen af den Kochske Gelatineplade er følgende:

En tynd Glasspatel dyppes ubetydeligt i den Kulturblanding, der skal adskilles ved Spredning; derpaa føres Spatlen ned i en konisk Kogeflaske med destilleret Vand (alle Vædsker og Gelatiner ere selvfølgelig steriliserede), og der omrystes godt og længe.

De Fejl, der ovenfor ere fundne ved Metoden, maa til Dels søges i Adhæsionen mellem Cellerne; derfor er det,

man ved en stærk Rystning søger at faa Cellerne skilte fra hverandre.

Medens man saaledes omryster Fortyndingen, har man hensat det ønskede Antal Flasker (almindelige Medicinglas eller Freudenreichs Kolber) med Næringsgelatine i et Vandbad paa 30—35°, ved hvilken Temperatur Gelatinen smelter. Naar denne atter er afkølet til 25°, fremstiller man nu ved Hjælp af Glasspatler og Platintraad, indsmeltet i et Stykke Glasrør (for at man kan holde paa det under Flammerensningen), en Række Gelatinespredninger af forskellig Styrke, idet man poder mere eller mindre af Fortyndingen over i Gelatineflaskerne. Denne Podning eller Infektion foretages simpelthen ved at dyppe Glasspatler af forskellig Tykkelse lidt ned i Fortyndingen og saaledes føre en ubetydelig Mængde af denne over i Gelatinen; de svageste Infektioner fremstiller man med Platintraaden ved at dyppe denne forskellig dybt i Fortyndingen. — At fremstille Gelatineplader af passende Fortynding kræver kun nogen Øvelse, og man lærer det hurtigt ved at begynde med lidt Pressegær, som man lettest faar fat i. I Kogekolben med Vand kommes da kun saa lidt Gær, at Vandet næppe bliver synlig opaliserende.

Naar Gelatineflaskerne ere podede, maa de omrystes godt i ca. 1 Minut, men for ikke at faa for megen Luft ind i Gelatinen (Luftblærer vil senere forstyrre for meget ved den mikroskopiske Iagttagelse), ryster man Flasken ved med højre Haand at føre den rundt i venstre Haands Flade, ligesom man fører en Pestil. Gelatinen maa umiddelbart efter Omrystningen hældes op i den steriliserede Vegetationsskaal, som man pakker ud af Papiret uden for den sterile Kasse; Omhældningen foregaar selvfølgelig ligesom det foregaaende Arbejde i Kassen.

Er dette Omhældningsarbejde endt, lukkes Kassen, og

man lader nu Petri-Skaalene henstaa til Afkøling, hvorpaa de etiketteres og kan henstilles til Udvikling.

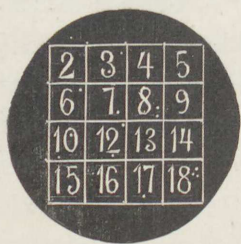
Er Pladen inficeret med Skimmel, vil man nu hurtigt kunne iagttage Udviklingen, idet Cellerne i Gelatinen vil begynde med at udsende Hyfer, der strax bemærkes under Mikroskopet, naar man stiller Petri-Skaalen under dette med Bunden i Vejret. Gærcellernes Udvikling faar den Uøvede derimod ikke saa hurtig Øje paa, fordi Luftblærerne i Gelatinen ligner Kolonierne en Del, og de derfor til en Begyndelse let overses. Bakterierne kan man selvfølgelig ikke se, før Udviklingen er skredet saa vidt frem, at der er dannet Koloni.

Hansens Encellekulturer. Da Gelatinelaget paa Kochs Plader mindst er 1 Millimeter tykt, og de suspendede Celler i Regelen aldrig over ca. $\frac{1}{100}$ mm. — Bakterier ofte $\frac{1}{1000}$ — er det forstaaeligt, at Cellerne jævnlig lægger sig i Lag over hinanden. Et saa tykt Gelatinelag er det — Linsens Brændvidde helt fraset — derfor ikke muligt at undersøge tilstrækkelig nøjagtigt i Dybden, og Hansen, der vil iagttage og markere Cellerne strax efter Gelatinens Afkøling, anvender derfor et meget tyndere Gelatinelag. Paa Dækglasset til et Böttchers Kammer stryger han da ogsaa kun et ganske tyndt Lag Gelatine med Udsæd, saa tyndt, at det yderst let kan gennemsøges i Dybden; og for at dette tynde Lag ikke skal tørre hen, og Cellerne derved forhindres i at udvikle sig, anbringer han en Draabe Vand i Bunden af Kamret.

Med svag Forstørrelse undersøger man nu Kamret. Og der, hvor man finder en Celle isoleret, markerer man Stedet. Dette kan man gøre paa forskellig Maade. Hyppigt anvender man et Apparat, en Objektmarkerer, der ligner et Objektiv men i Stedet for Frontlinsen og paa dens Plads er forsynet med en lille forskydelig Ring. Cellen, som iagttages gennem Linsen og skal markeres, anbringes nøjagtig midt i Synsfeltet; derpaa

skrues Objektivet af, og Objektmarkererens forskydelige Ring, der er mindre end Objektivets Linse, overstryges med en Farveopløsning (Anilin, Carmin etc.); derpaa skrues Markereren paa Mikroskopstativet og ganske forsigtig føres den ned mod Kamret, indtil Ringen berører Dækglasset. Ringens Forskydelighed bevirker, at Markereren kan berøre Kamret uden at knuse det tynde Glas; dog kræver dens Anvendelse megen Forsigtighed. Paa Dækglasset vil man nu have en farvet Ring om den Celle, man har markeret, og saaledes kan man til enhver Tid vide, hvor man har en isoleret Celle liggende. I Stedet for Ring er nogle Objektmarkerere forsynet med en centreret Stift, som da afsætter en Prik lige over Cellen.

Oftest anvender man dog Dækglas med indskrevne, numererede Kvadrater. Glasset er 3 ctm. i Diameter, og man



kan selv fremstille det ved Matætsning med Flour, eller man kan købe det færdigt. Ved Undersøgelse under Mikroskopet ser man nu, at der paa forskellige, let markerbare Steder i Kamret ligger isolerede Celler. F. Ex. finder man, som paa hosstaaende Tegning angivet, at der i øverste Halvdel af Titallets Nul findes en Celle, og at der

ikke i Nærheden, d. v. s. i øverste Halvdel af samme Felt eller i tilgrændsende Del af 12, 6 og 7 findes nogen Celle. Cellen i 10 er da brugelig, d. v. s. den kan, naar den er voxet ud til Koloni, tages ud med en spids Naal, uden at man behøver at frygte for at berøre Kolonier af andre Celler. Paa et Stykke Papir, paa hvilket man har affegnet Kamrets Billede, sætter man da en Prik i Nullet. Dermed har man markeret den Celle, af hvilken man faar sin Renkultur. Men hvor det hændes, at 2 Celler ligger saa tæt sammen som de to markerede

Celler i 8, gaar man dem ganske roligt forbi; de vil senere voxe sammen til én Koloni.

Hver Dag undersøger man nu Kamret for at se, om der ikke skulde udvikle sig oversete Celler i Nærheden af de markerede, og naar efter 3—4 Dages Forløb Cellerne har dannet Kolonier saa store som et Knappenaalshovede, skal de tages ud og forplantes videre i Næringsvædske.

Denne Udtagning sker paa følgende Maade: Nogle Stykker (ca. 1 ctm. lange) Platin- eller Kobbertraad glødes paa et Stykke Kobber- eller Platinplade og kommes glødende i en steriliseret Petriskaal eller lille Glasdaase med Overfaldslaag. Naar de er fuldstændig afkølede i den sterile Kasse — hvor man ogsaa har Renkulturkamret, steriliseret Pincet og de nødvendige Kolber med Næringsvædske — løfter man Kamrets Ring med Dækglas op fra Objektglasset, og med Pincetten tager man en af de glødende Stifter og berører den Koloni, man vil tage ud. En Del af Cellerne vil da hænge ved Stiftens ujævne Spids, og man lader nu Stiften falde ned i Kolben med Næringsvædske. Og saaledes fortsætter man, til man har faaet udtaget alle de Kolonier, man ønsker. Ved derpaa at undersøge Kamret under Mikroskopet kan man overbevise sig om, hvorvidt man har faaet alle Kolonierne berørt eller ej, og eventuelt gøre Arbejdet om igen.

De Kulturer, man saaledes har fremstillet, forplantes videre paa den foran skildrede Maade i Pasteur-Hansens Kolber, Carlsberg-Kolber og Propageringsapparater.

— — — For at kunne fremstille Renkulturer paa denne Maade, kræves det, at Cellerne ikke er for gamle, da de ellers ikke altid voxe i Gelatine. Man staar imidlertid ikke helt magtesløs overfor Spørgsmaalet om at fremstille Renkulturer af svækkede Celler uden at friske dem op, idet man hertil kan

anvende den paa Hansens Princip byggede saakaldte Draabekulturmethode. Den gaar ud paa følgende:

I Stedet for at suspendere Cellerne fra Fortyndingen i Næringsgelatine, suspenderer man dem i en Næringsvædske. Med en Tegnepen (steriliseret ved at trækkes gennem en Spritflamme) eller en Platintraad afsætter man derpaa Draaber, halvt saa store som et Knappenaalshovede, paa Dækglasset til et Bøtters Kammer, og under Mikroskopet undersøger man nu, om der findes Celler i disse Draaber. Findes der ingen, skal der tilsættes mere af Fortyndingen, omvendt mere Næringsvædske. Naar man endelig ved disse foreløbige Prøver er naaet dertil, at man gennemsnitlig har en Celle i hver anden Draabe, laver man sig en Række Kamre til Rendyrkning. Herved maa man være omhyggelig for, at der ikke lægges for stor en Draabe Vand i Kamrenes Bund, da hele Kamret ellers fyldes saa meget med Vanddampe, at tilfældig Temperaturforandring kan bevirke en saa stærk Fortætning, at Fortætningsvandet slaar Bro fra den ene Kulturdraabe til den anden, og det hele Arbejde derved bliver omsonst. Paa dette Kammers Objektglas klitrer man et lille Stykke Papir med Tegning af Draabernes Stilling og med et Mærke for de Draaber, som ere inficerede med en Celle. Man vil da i Løbet af et Par Dage faa Udvikling og ganske tydelig kunne følge dens Forløb, og naar man har Draaben fyldt med Celler, vil man med en ganske lille Strimmel Filtrepapir (steriliseret i en Petriskaal) kunne opsuge Draaben og ved at lade Papiret falde i en Kolbe med Næringsvædske faa Udviklingen fortsat i denne.

— Drejer det sig om at fremskaffe en Renkultur af en Skimmelsvamp, maa man, da Hyferne saa hurtigt forgrene sig over hele Dækglasset, ændre Metoden derhen, at man kun sætter én Draabe i hvert Kammer.

Renkulturers Opbevaring. For Renkulturer af en Del

Mikroorganismer har man Opbevaringsmetoder, der tilfredsstille enhver rimelig Fordring.

En 10 % holdig Rørsukkeropløsning er saaledes et udmærket Opbevaringsmedium for Gærsvampe; de kan holde sig levende deri henimod et Decennium.

Skimmelsvampe kan man paa svage Næringsgelatiner (1—2 %) af f. Ex. Bouillon og Maltextrakt.

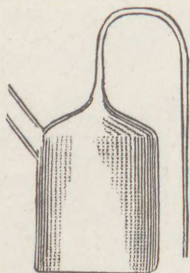
Bakterier er det ofte lidt vanskeligt at holde levende, særlig virulente. Pathogene Typer podes som Regel paa Bouillon-Gelatine, der ogsaa er et godt Næringssubstrat for en Række tekniske Bakterier, saaledes bl. a. for Mælkesyrebakterier. Men for Bakterier gælder som Regel, at der maa foretages jævnlig Ompodninger i ny Gelatine eller Vædske, hvis man vil holde dem i Live.

Opbevaringsmethodernes Teknik er ret simpel. Drejer det sig om en Gærsvamp, skaffer man sig først en kraftig Kulter ved Dyrkning i en Pasteurs-Kolbe med f. Ex. Ølurt, Maltextraktopløsning (8—10 %) eller Dextroseopløsning (10 %) med 2 % Maltextrakt. Efter et Par Dyrkninger med kraftig Gæring i en saadan Næringsvædske, vil der foruden den Gær, der findes opslemmet i den gærende Vædske, have aflejret sig en Del Gær paa Kolbens Bund. Man afhælder nu den gærende Vædske fra Bundgæren, idet man gløder Kolbens bøjede Rør og iøvrigt iagttager de samme Forsigtighedsregler, som foran er beskrevet ved Carlsberg-Kolbernes Infektion fra Pasteur-Kolberne.

Naar Vædsken er hældt af og Kolben lukket, rystes den tykke Bundgær op. Et Par Draaber af denne Gær føres dernæst, idet Forbindelsen mellem de to Kolber sker inde i Flammen, ind i en af nedenfor anførte Opbevaringskolber.

Den almindeligst anvendte Kolbe er en Freudenreich-Kolbe med Siderør, som er afbildet Side 20. Den adskiller

sig kun fra den foran beskrevne Freudenreich-Kolbe ved dette Rør, som man lukker med en Gummihætte. Sterilisationen sker i strømmende Damp paa sædvanlig Maade.



Fra en saadan almindelig Kolbe sker der imidlertid en betydelig Fordampning i Aarenes Løb. For at formindske denne har Jørgensen foreslaaet, at der i Hætten indsmeltes et fint, krogbøjet Rør.

Begge disse Kolber er imidlertid ret dyre, og skaffer man sig efterhaanden en betydelig Samling Typer, vil Udgiften til Freudenreichske Opbevaringskobler blive ret betydelig. Forf. har derfor konstrueret en særlig billig Kolbe, der kun koster ubetydeligt at fremstille og giver en uvæsenlig Fordampning. I Enden paa det nedbøjede Rør stoppes lidt Bomuld før Sterilisationen.

Kulturers Anvendelse i Praxis.

Det er ikke altid nok, at man fremstiller en Renkultur af en Mikroorganisme. Hvis man har forbundet Ønsket om en praktisk Anvendelse for Kulturen med sit Arbejde, maa man ogsaa sikre sig en Renkultur, der svarer til Formaålet.

Et Exempel vil oplyse dette. Under Fremstilling af Succus rubi idæi, Succus cerasi etc. sker det jævnlig, at der samtidig med Vinaandgæringen opstaar Sidegæringer, særlig fremkaldt af slimdannende Bakterier; man har senere Besvær med at faa en saadan Saft klar.

Sidegæringerne indtræde nemlig let, naar Hovedgæringen — her Alkoholgæringen — er træg, d. v. s. ikke forløber normalt. Men man kan til enhver Tid selv raade over, hvorledes man vil have Hovedgæringen gennemført, idet man ved at tilføre den knuste Frugt en passende Gæringsvækker kan faa Gæringen ført saa kraftig frem i et bestemt Spor, at Sidegæringen enten udebliver eller forløber umærkbart.

Fra en særlig fin-aromatisk, gærende Frugtmasse ønsker man altsaa at isolere en Alkoholgær, som man senere vil anvende til at indlede nye Gæringer med. Fremgangsmaaden kan da f. Ex. være følgende:

Man lader lidt af den gærende Frugtsaft gaa gennem

Jaconet for at befri den for Frugtdele. Med en Glasspatel bringer man derefter saa meget af denne siede Frugtsaft over i en Kolbe eller Flaske med Vand, at dette netop bliver opaliserende. Indholdet af denne Kolbe benytter man nu til Fremstilling af Renkultur efter en af foran angivne Metoder, idet man til Næringsvædske eller Næringsgelatine benytter Frugtsaft- eller Dextroseopløsningen med Maltextrakt.

Af de fremkomne Kolonier nøjes man nu ikke med at udtage en enkelt, nej, man udtager en hel Række, dyrker dem i Frugtsaft eller Dextrose, sorterer dem under Mikroskopet, idet man først tager i Arbejde de Kulturer, som i Udseende ligner den Gær, der var i Overvægt i den gærende Frugtsaft, og som man a priori har lidt Ret til at antage var Aarsag til Aromaen under Gæringen, idet man dog maa erindre, at Aromaen meget godt kan skyldes en af de mindre fremtrædende Former. Man oparbejder nu Gæren fra Kolonien til en Pasteurs-Kolbe paa $\frac{1}{2}$ Liter, idet man foruden ovenfor angivne Næringsvædsker ogsaa udmærket kan anvende et Rosinafkog paa ca. 10 % Balling. Med de Gærtyper, man saaledes efterhaanden faar oparbejdet, anstiller man Gæringsforsøg paa smaa Portioner Bær, indtil man finder en Type, som man er tilfreds med.

Arbejdet med at finde en tilfredsstillende Race kan være besværligt, men man maa erindre sig, at det kun skal gøres én Gang, thi til senere Brug magasinerer man Gæren paa Rørsukkeropløsningen.

Paa gæringsfysiologiske Laboratorier har man gerne betydelige Samlinger af saadanne udvalgte Racer, som enhver kan købe sig i Smaakulturer og selv arbejde op.

— Den Fremgangsmaade, der her er beskrevet til Udvalg blandt Renkulturerne, følges ved alle lignende Arbejder, hvad enten det drejer sig om at udvælge Renkulturer til Vin-, Øl-, Sprit- eller anden Alkoholgæring. Drejer det sig derimod om

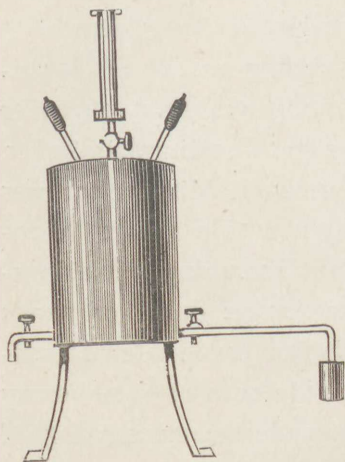
Fremstilling af Bakteriekulturer, maa Methoden ændres derhen, at man gaar ud fra den Kochske Spredningsmethode. Og er det f. Ex. Mælkesyrebakterier fra Flødesyrningen eller fra Spritfabrikernes Syregods, man vil isolere, anvender man til Gelatinepladerne en Næringsgelatine tilsat en ringe Mængde Kridt; syredannende Bakterier vil da under Udviklingen paa Pladen omdanne den kulsure Kalk, og paa den uigennemsigtige Gelatineplade vil de i Modsætning til andre Bakterier være omgivet af en gennemsigtig Ring, saa man meget let finder dem.

— Ved alle disse Rendyrkningsforsøg gælder én Hovedregel: At man til Næringsvædske og Gelatiner anvender Næringssubstrater, der staa de naturlige eller kunstige Stoffer, hvori Mikroorganismen senere skal gøre sit Arbejde, saa nær som mulig, ja, om muligt er de samme. Thi mange Mikroorganismer er yderst modtagelige for Forandring af Næringsstof. Forf. kan anføre et Exempel af mange: En af vort Lands største og bedst indrettede Eddikefabriker havde uden Standsning været i fleraarig Drift; da ønskede man at gøre Forsøg med en anden, kun yderst lidet afvigende Sammensætning af Næringsstofferne, der blendedes i den svage Spirit til Eddikedannerne. Den ringe Forandring førte imidlertid med sig, at Eddikesyrebakterierne blev standset noget i deres Formering, men dermed faldt ogsaa den ved denne frembragte og for Formeringen og Eddikesyredannelsen nødvendige Temperatur, og Fabriken var ude af Drift.

— — —

Naar man saa endelig har fundet sig en Renkultur, og skal bruge den stadig, i hvert Fald i nogen Tid, gælder det om at slippe saa nemt fra Formeringen som mulig, idet Formering fra Pasteurske Kolber og til Carlsberg Kolber udkræver i hvert Fald nogen Øvelse og Kyndighed; man kan altsaa ikke overlade dette Arbejde til en Arbejder.

Derfor har man konstrueret de forannævnte Propageringsapparater. Forf. har bygget to Apparater, bestemte til Dyrkning i mindre Virksomheder. Det ene bestaar af to ulige store Beholdere, forbundne med hinanden ved et Metalrør og adskilt ved en Hane; den store er forsynet med Luftfilter (d. v. s. Metalrør fyldt med Bomuld og skruet paa en Hane). Denne Beholder er til-



lige forsynet med to ca. 6 mm. tykke Metalrør, hvorigennem man kan paahælde Næringsvædske og indføre Kulturen. Apparatet sættes i Gang ved, at den store Beholder paafyldes ca. 1 Liter Vand, hvoraf den lille Beholder fylder sig selv, og begge Beholdere koges i en Time, hvorefter Hanen mellem dem lukkes. Gennem Aftapningshanen forneden udtappes Vandet, de to Metalrør forsynes med tætsluttende Gummislanger, ca. 3" lange, Filtret (Bomulden maa ikke være pakket haardere, end

man kan puste gennem den) steriliseres indpakket i Papir, der indføres Næringsvædske og koges i 1 Time, idet man lader Dampene stryge ud gennem Hanen og de to Metalrør. Naar Timen er gaaet, lukkes først Gummislangerne med Glasproppe, som flammerenses lige før, de stikkes ind i Slangerne, og Papiret om Filtret rives over paa Midten, saa det let kan trækkes bort. Først nu lukker man Hanen, Papiret rives i samme Moment bort, og Filtret skrues paa; derefter slukkes Flammen. Naar Apparatet begynder at afkøles, aabnes Hanen til Filtret, og man lader Apparatet urørt, til det er helt afkølet, hvorefter man indfører Kulturen fra en Pasteurs Kolbe gennem en af Gummislangerne; Forbindelsen

sker selvfølgelig i Flammen. Naar Kolben er inficeret, lukkes Filterhanen, Forbindelseshanen mellem de to Beholdere aabnes, og Bunden vendes i Vejret paa Apparatet. Vandet fra den lille Beholder løber over i den store, man ryster, stiller Apparatet paa Foden igen og aabner Filterhanen. Derpaa overlader man det til sig selv, og man faar nu Udvikling i begge Kolber. Efter Formeringens Afslutning lukkes Filter- og Forbindelseshanerne, Apparatet rystes, Glaspropperne tages ud, og Kulturen tappes af.

Kontinuiteten i Apparatet er nu følgende: Efter Udtapningen udskylles Apparatet, Næringsvædske hældes i, der koges, idet Dampene nu kun stryger ud gennem Gummislangerne, som efter Kogning atter lukkes med Glasproppe, samtidig med, at Filterhanen aabnes. Efter Afkøling lukkes til Filtret, Forbindelseshanen aabnes, og der rystes med Bunden i Vejret. Derefter som ovenfor angivet.

Dette Apparat egner sig særlig til Fremstilling af smaa Kulturer som mindre Mængder Gær og Bakterier. Hvor det derimod drejer sig om noget større Portioner, saa man vanskeligere kan vende Apparatet om og ryste det, kan Forbindelsen mellem de to Beholdere tilvejebringes ved en Gummislange. Kulturens Vandring fra og til den lille Beholder sker da simpelthen ved at hæve eller sænke Beholderen over Vædskeniveauet i den store Beholder.

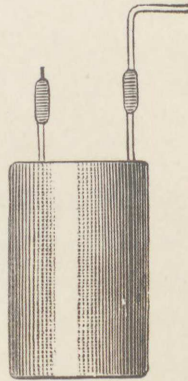
— Til Stordrift (f. Ex. store Bryggerier) har Professor Hansen og Direktør Kühle konstrueret et fortrinligt kontinuerligt Apparat. Den kogende Ølurt strømmer ind i en stor lukket Cylinder, hvor den afkøles under Gennemledning af Luft. Afkølet presses den gennem Rør over i en stor Cylinder, hvor den bringes i Gæring. Naar denne er endt, tappes den største Del af Gæren ud, medens en mindre Portion bliver tilbage for

at starte Gæringen i en ny Urt, som presses over. Aftapningshanen er saaledes konstrueret, at der ikke gennem den kan komme Infektion ind i Cylinderen.

— — —
Renkulturers Forsendelse. Ganske smaa Portioner Renkultur kan forsendes paa følgende Maade: I en Freudenreichs Kolbe med Siderør puttes lidt Bomuld, Siderøret lukkes med en Asbestprop, og der steriliseres. Efter Afkøling forbindes Kolben i Flammen med en Pasteur Kolbe, og man drypper et Par Draaber tyk Bundgær paa Bomulden. Derefter lukkes igen, Siderøret med Asbestproppen dyppes i smeltet Lak, og Glas-hætten kittes med Lak fast til Kolben, ligesom dens Filterør foroven lukkes med en Klat Lak. — En saaledes behandlet Renkultur kan taale den længste Forsendelse. Paa Ankomststedet sættes den ved Siderøret i Forbindelse med en Pasteur Kolbe med Næringsvædske, lidt af denne føres over i Freudenreich Kolben, Bomulden skylles igennem, og Vædsken føres tilbage i Pasteur Kolben, hvor man da faar sin Udvikling.

Er det imidlertid nødvendigt at sende en saa stor Portion Renkultur ud, at den strax kan finde Anvendelse i Praxis, bærer man sig ad paa følgende Maade: Efter at f. Ex. en Carlsberg Kolbe har henstaaet inficeret saa længe, at Udviklingen er standset, og Kulturen har lagt sig paa Kolbens Bund, aftappes den ovenstaaende Vædske, og gennem Kolbens Infektionsrør (a) føres ca. $\frac{1}{2}$ Liter Vand, som man har steriliseret i en Pasteur Kolbe, ned til Kulturen; med denne Vandmængde rystes den op og føres derpaa over i en Forsendelseskolbe, af hvilke der gives forskellige Typer. En ganske billig Kolbe, som særlig egner sig til Forsendelse af Gær til Bryggerier etc., findes afbildet paa næste Side. Den bestaar af en Blikcylinder, foroven forsynet med to trukne (ikke loddede) Tin- eller Blyrør,

ca. 6 mm. tykke og 10 ctm. lange. Paa Rørene anbringes Gummislanger. Kolben paafyldes ca. $\frac{3}{4}$ Liter Vand, og der koges i 1 Time, hvorpaa den ene Gummislange lukkes med et vinkelbøjet Glasrør, der er fyldt med Bomuld, og det andet med en Glasprop. Under Nedsvalingen filtreres Luften gennem Bomulden, og efter Afkøling forbindes det Rør, der er monteret med Gummislange og Glasprop, med Carlsberg Kolbens Aftapningsrør, hvorpaa Gæren føres over. Derpaa anbringes Gummislangen med Proppen atter paa Forsendelseskolben, og med en kraftig Fladtang klemmer man nu Røret sammen; det bløde Metal gør det nemlig muligt at klemme Røret sammen saa tæt og bukke det i saa mange Vindinger, at man faar et aldeles tæt Lukke; derefter behandles det Rør, hvorpaa Filtret sidder, paa samme Maade, og Kolben er nu færdig til Forsendelse; paa Ankomststedet skæres Rørene af med en Kniv.



Selvfølgelig kan der i Stedet for de to Rør anbringes to Haner, og Kolben kan da benyttes flere Gange.

— — —

Til Forsendelse af Bakterier benytter man saavel faste som flydende Substrater. De første har man i Almindelighed steriliseret i Reagensglas, og man foretager da Udsæd ved at pode Bakterien ind i det ny Substrat, d. v. s. man dypper en Platintraad i Kulturen og stikker den ned i Gelatinen, hvor man da faar Udvikling. Denne Methode benyttes i pathogen Bakteriologi.

Drejer det sig om at forsende Bakteriekultur i flydende Substrat og i større Mængde, kan man med Fordel benytte

en Forsendelseskolbe af et tykt Glasrør, som er tilsmeltet i begge Ender, og i hvilket er indsmeltet to Siderør, der svare til Tinrørene i omstaaende afbildede Metalkolbe; Behandlingen er ganske den samme som ved denne, dog at Steriliseringen sker med Næringsvædsken i Kolben i strømmende Vand-damp, og at Infektionen sker i denne Næringsvædske. Gummislangerne lukkes med Glaspropper.

Næringssubstrater.

I det foregaaende er allerede omtalt nogle Næringssubstrater som Ølurt, Dextrose med Maltextrakt, Frugtsaft etc. Selvfølgelig er imidlertid Næringssubstraternes Tal overordenlig stort, idet man, som ogsaa tidligere er omtalt, søger ved Valg af Substrat at komme de naturlige Forhold for Mikroorganismernes senere Udvikling saa nær som mulig.

Man spørger altsaa først, hvortil man skal bruge den Mikroorganisme, der foreligger. Skal den anvendes i Ølbrygningen, anvender man Ølurt, til Spritfabrikation Brænderimæsk, til Mælkesyrning (Acid. lactic.) Valle, til Tuberkulin Bouillon o. s. v. Alligevel har man en Del Standard-Formler paa Næringsvædske, af hvilke de vigtigste skal meddeles her:

Druemost. Koncentreret Druemost i fortrinlig Kvalitet føres af Firmaet Favara & Figli, Mazzare de Vallo, Sicilien. Fortyndes med 3 Dele Vand før Steriliseringen. Til Vingærtyper. Kan erstattes med filtreret og klaret Rosinafkog.

Gærvand. 1 Kilo Pressegær uden Stivelse koges i $\frac{1}{2}$ Time med 4 Liter Vand, filtreres, fortyndes op til 9 Liter, koges igen $\frac{1}{2}$ Time, filtreres og steriliseres i 1 Time. „Dextrose-Gærvand“ indeholder 10 % Dextrose og er fortrinlig Nærings-

vædske til Gærtyper og — svagt alkaliseret med kulsurt Natron — til mange Bakterierformer.

Maltudtræk. Ca. 200 Gram Malt males, paahældes 1 Liter Vand paa 65° C, og ved denne Temperatur holder man Blandingen i 1 Time i Vandbad, idet man jævnlig omrører. Derefter lader man Temperaturen stige til ca. 90° C og filtrerer gennem Papir. Et Maltudtræk paa 10—15 % Balling er fortrinlig Næringsbund for Gærtyper og Skimmelsvampe, paa 2 % B. og neutraliseret for mange Bakterier.

Valle. Koagulation med Eddikesyre, Filtrering og Kogning til Syren er bortjaget. Neutralisation med Na_2CO_3 .

Bouillon. 1 π smaatskaaret Oxekød koges i et Kvarters Tid med 1 Liter Vand, der filtreres, og Vædsken gøres svag alkalisk med Na_2CO_3 . Koges atter 1 Time, hensættes til fuldstændig Afkøling, filtreres atter og steriliseres to Gange med en Nats Mellemrum i strømmende Damp; filtreres atter, og efter Afkøling tilsættes $\frac{1}{2}$ % NaCl; Bouillonon fordeles i Smaaskuffer og steriliseres igen i en Time. — En Tilsætning af 1 % Pepton forhøjer Bouillonens Værdi som fortrinligt Bakteriesubstrat.

Mindre værdifuld Bouillon kan man skaffe sig ved Oplosning af Kødextrakt (5 % Liebig, 2 % Cibils) og Behandling som ovenfor.

Hestegødning, Svedsker, Dadler o. s. v. afkoges, og Filtratet steriliseres et Par Gange med en Nats Mellemrum.

Kunstige Næringssubstrater anvendes ogsaa men kun sjældent og da som Regel kun til Demonstrationsbrug ved Undervisning i Plantefysiologi. Her et Par Kompositioner:

Cohns Næringsvædske:

0,5 fosforsur Kali
0,5 svovlsur Magnesia

0,8 trebasisk fosforsur Kalk
 1,0 vinsur Ammoniak
 100,0 Vand

Pasteurs Næringsvædske:

10,0 Melis
 1,0 Gæraske
 0,1 vinsur Ammoniak
 100,0 Vand

Næringsgelatiner. Pag. 15 er omtalt Fremstillingen af Næringsgelatiner med Husblas. Disse smelte ved ca. 30 ° C, og skal Dyrkningen af Mikroorganismene ske ved højere Temperatur, maa man derfor benytte Gelatiner med højere Smeltepunkt. Saadanne Gelatiner fremstiller man sig af Agar-Agar (ostindisk Alge), hvoraf 1½—2 % opløses i Næringsvædsken ved Kogning efter først at være udblødt i Saltvand Natten over og derefter godt afskyllet. Agar-Gelatinen smelter ved 40—50 °; den benyttes ogsaa med Fordel, naar man studerer Bakterierformer, som gør Husblas-Gelatinerne flydende, idet Agaren i Almindelighed beholder sin faste Konsistens. Imidlertid er den noget vel stiv og besværlig at anvende til Plader, hvorfor man ogsaa oftest bruger Agar-Gelatine, der er en Blanding af lige Dele af hvert Substrat, og som først smelter ved ca. 40 °.

Kartofler anvendes meget i pathogen Bakteriologi. Man renser dem først med en Børste i Vand, skræller dem derefter, skræller dem i Skiver, 5—6 mm. tykke, og af disse Skiver trykker man med en Blikring Stykker ud paa Størrelse som en Tokrone.

De lægges i en Petri-Skaal og steriliseres to Gange med en Nats Mellemrum i en Time i strømmende Damp. Skaalene kan man indpakke i Papir, før de sættes i Sterilisationsapparatet, saa man kan opbevare dem i et Skab til successivt Brug.

Skal Kartofflen anvendes til Dyrkning af Kolerabakterier, maa de lægges i et Kvarter Tid i 4 % Na_2CO_3 , inden de steriliseres.



Foruden i Skiver skærer man ogsaa Kartofflerne i rektangulære Stykker, som man da anbringer i Reagensglas. For ikke at være besværet af Fortætningsvand fra Sterilisationen anvender man hyppigt Roux' Rør, der er Reagensglas med en Indsnevring, paa hvilken Kartoffelstykket hviler.

Undersøgelsesmetoder.

Alle Undersøgelsesmetoder gaar selvfølgelig ud paa, naar der foreligger et blandet Materiale til Studie, at foretage en Adskillelse mellem de forskellige Mikroorganismer, og først derefter kommer Bestemmelse af Familie, Slægt og Art.

Først maa man altsaa sprede Materialet for at faa dannet Kolonier. Spredningen foregaar ved den Kochske Gelatineplade. Men da nu den Næringsbund, som passer for én Mikroorganisme, maaske hæmmer en andens Udvikling, vil det ses, at man ikke kan nøjes med at sprede Materialet blot paa ét Substrat; man vilde blot faa en højst ufuldstændig Reaktion.

Gelatinepladerne kan, som foran angivet, være sure, neutrale eller alkaliske. Sure Plader (syret med Vinsyre) er som Regel daarlig Væxtbund for Bakterier, og paa dem vil man derfor faa en temmelig ren Udvikling af Gær og Skimmel. Fra disse Plader kan man altsaa udtage Kolonier, udryste dem med Vand og af denne Fortynding fremstille Renkulturer til senere Studium. Paa de neutrale og alkaliske Plader vil man faa Bakterieudviklingen, og fra disse Kolonier foretager man da Udsæd paa nye Gelatineplader.

Paa denne Maade og ved at vælge forskellige Næringssubstrater og forskellige Temperaturer for Pladernes Udvikling

(som Regel 25^o for Gelatine, 37—40 for Agar), faar man Udvikling af de aerobe Former.

For de anaerobe Formers Vedkommende kan man ogsaa foretage Udsæden i Petri-Skaale, men man maa da hælde to Portioner Gelatine eller Gelatine-Agar op i Skaalen. De aerobe Former vil da udvikle sig paa Overfladen, de anaerobe dybere i Gelatinelaget, hvor Luften er udelukket. Man kan da med en Skalpel skære det Stykke Gelatine ud, hvori en saadan Koloni har udviklet sig, og med en Præparernaal kan man borttage lidt af Kolonien, udryste den i Vand og foretage Spredning igen i Gelatine.

Naar man vil dyrke Anaerobionten til Studium, efter at man har rendyrket den, kan man pode den i Reagensglas med Gelatine; Platintraaden maa være tynd. Gelatinen smeltes ved Kogning og afkøles hurtig i koldt Vand, og saa snart den begynder at stivne (den maa absolut ikke være flydende), foretages Podningen ved, at Platintraaden føres helt ned til Gelatinens Bund. Naar Gelatinen da ikke har været for meget stivnet, vil den lukke sig sammen om Podestikket, og i Dybden udvikler Anaerobionten sig. — Man kan ogsaa anvende baade Petriskaale og Reagensglas, naar man afspærrer Luften ved at overhælde det inficerede Næringssubstrat med Vaseline eller bedre med en netop smeltet Blanding af 2 Dele Paraffin, 8 Dele Vox og 90 Dele Vaseline. — Ogsaa kan man anvende et almindeligt Reagensglas med Gelatine, koge for at uddrive Luften, afkøle hurtig i koldt Vand for at formindske Luftpåtagningen under Afkølingen, pode, skyde en Prop, ca. 2 ctm. lang, af steriliseret Bomuld ned i Glasset tæt til Gelatinens Overflade, skyde en anden, ca. 4 ctm. lang Bomuldsprop ned tæt til den første, dryppe paa den sidste Prop saa meget af en Opløsning af 1 Gram Pyrogallussyre i 10 c³ Kalilud à 10^o/_o, at Proppen helt gennemvædes, uden at Vædsken løber ned paa

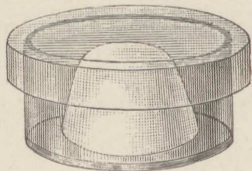
den første Prop. Derpaa lukkes Glasset med en Bomuldsprop, som dyppes i smeltet Paraffin for at faa et lufttæt Lukke. Denne Dyrkningsmaade har det Fortrin, at idet Pyrogallussyren med stor Begærlighed lægger Beslag paa Luftens Ilt kan der ogsaa paa Gelatinens Overflade udvikle sig anaerobiske Bakterier, saa man kan faa fat i selve Kulturen blot ved at berøre Overfladen og uden at behøve at skære ned i Gelatinen, hvorved man undgaar at faa noget af denne med*).

— — —

Naar man saaledes har foretaget Spredningen og senere saavidt gørligt skaffet sig Renkulturer af de forskellige Mikroorganismer, begynder det nærmere Studium af de botaniske og fysiologiske Ejendommeligheder.

Paa Pladerne vil Skimmelsvampene allerede have givet sig tilkende; oftest vil Myceliet være karakteriseret for det blotte Øje alene, men ved flere Former — f. Ex. *Dematium* og *Chalara* — kan deres Kolonier nok skuffe ved den makroskopiske Undersøgelse; under Mikroskopet erkender man dog hurtig deres Plads i Systemet. For at studere dem nærmere kan man udsaa dem paa steriliseret Hestegødning, Frugter etc., hvorved kan fremstaa Vegetationsformer, som ikke viser sig paa Gelatinepladen, saaledes *Mucorens Zygosporer*.

Saccharomyceternes Evne til at danne Sporer ser man paa Gibsblokken. Det er en ca. 5 ctm. bred, $2\frac{1}{2}$ —3 ctm. høj Blok af Gibs, som ligger i en Glasskaal med Overfaldslaag. Skaal og Blok steriliseres sammen, indpakket i Papir ligesom Petri-Skaalen. Naar den skal anvendes, hældes lidt af den tykke Gær, man vil prøve paa Sporedannelse, paa Blokken, og med Sprøjteflasken fyldes nu saa meget sterili-



*) Udforligere Anvisning til anaerob Bakteriedyrkning vil man finde i Prof. C. J. Salomonsens fortrinlige „Bakteriologisk Teknik for Medicinere“.

seret Vand i Skaalen, at det naar ca. midt op paa Blokken. Sporedannelsen sker mere eller mindre hurtig efter den Temperatur, Blokken er udsat for, idet Sporedannelsen har sin Minimums-, Optimums-, og Maximumstemperatur, der kan anvendes ved Artsbestemmelserne. To Gærtyper, der danne Sporer til forskellig Tid ved samme Temperatur, kan saaledes eftervises i Blanding ved at bringe denne paa Gibbs og hensætte til Sporedannelse. Dette Forhold benyttes bl. a. til særdeles finmærkende Prøve paa Bryggerigærs Renhed, idet „vilde“ Gærtyper, der forringer Øllets Smag og Holdbarhed, som Regel danner Sporer før Kulturgæren. For saadanne Analyser, der er af største Vigtighed for Bryggerierne, har man udførlige Sporekurver, udarbejdet af Emil Chr. Hansen.

Paa Gibbsblokkene faar man jævnlig en stærk Udvikling af sporedannende Bakterier; Sporerne er synlige med 600—700 Gange Forstørrelse, selv med en tør Linse.

— Blandt Undersøgelsesmetoderne spiller Farvereaktionerne en væsenlig Rolle i den medicinske Bakteriologi. De vil blive omtalt senere.

— Endelig er de fysiologiske Undersøgelsesmetoder af største Betydning for Lægen, naar han skal bestemme en Baktéries Art, idet hans Undersøgelse falder i de tre Dele: Den mikroskopiske Undersøgelse — Fænomenerne ved Dyrkning paa kunstigt Substrat — Dyreforsøget.

For Farmaceuten falder Leddene i Undersøgelsen noget anderledes: Den mikroskopiske Undersøgelse — Fænomenerne ved Dyrkning paa Substrat — Stofskifteprodukternes Kemi.

Luft-, Vand- og Jordanalyser.

Luftanalyser. Det er allerede omtalt (Pag. 16), hvorledes man kan foretage en ganske primitiv Analyse af Luft. Men der kan blive Spørgsmaal om, hvor mange Kim der, indeholdt i et bestemt Rumfang Luft, kan komme til Udvikling i et bestemt Næringssubstrat. Nogen *absolut* Bestemmelse af Lufts, Vands og Jords Kimindhold kan man nemlig ikke udføre. Det er jo allerede vist, hvorledes nogle Bakterier kun kommer til Udvikling, naar Luftens Ilt er til Stede, andre kun naar den er udelukket. Men mellem Aerobionter og Anaerobionter staar fakultative Aerobionter, som udvikler sig i Ilt men ogsaa kan undvære den — de bliver altsaa let Gengangere paa Pladerne. Men hertil kommer, at nogle Kim kun kan udvikle sig paa én Næringsbund, andre kun paa en anden, men atter andre paa begge; og det samme gælder om Forholdet til Temperatur. Med videnskabelig Sikkerhed kan man derfor slet ikke bestemme Antallet af Kim. Man kan altsaa kun bestemme, hvor mange af de Kim, der, indeholdte i en bestemt Mængde Luft, kan komme til Udvikling i en bestemt Næringsvædske.

For nu at bestemme dette, maa man lade Luften passere gennem en Vædske eller smeltet Gelatine, der skal tilbageholde Kimene. Naar Luftens Volumen maales, Vædskens

Mængde er bestemt, og en vis Del af den føres over i en Petri-Skaal med Gelatine, kan man altsaa tælle, hvormange Kim der kommer til Udvikling, og deraf beregner man Luftens Indhold af spiredygtige Celler.

Man gaar gerne frem paa følgende Maade: En enhalset Wulfisk Flaske med Udløbshane fyldes helt med Vand; i Tubus findes en gennemboret Kautschukprop med fastsluttende Glasrør med Gummislange. Denne Del af Apparatet er Aspiratoren. Dernæst har man f. Ex. et stort Blancardpilleglas med en dobbeltgennemboret Kautschukprop, hvori er stukket to Glasrør, af hvilke det ene naar helt ned til Bunden og i denne Ende er udtrukket til en Spids med fin Aabning, hvorimod det andet kun gaar gennem Proppen. Begge Rør kan foroven lukkes med Gummihætter eller Gummislanger med Glasprop. Der paafyldes nu Vædske; oftest benyttes Vand, men man anvender med større Fordel Næringsvædske, der bevirker en bedre Udvadskning af den gennemboblede Luft. Efter en Times Sterilisering i Damp og Afkøling vejer man Vadskeflasken, hvis Nettovægt man kender, og man har Vægten af den indeholdte Næringsvædske efter Sterilisationen. Derpaa forbinder man Vadskeflasken med Aspiratoren, tager Gummihætten eller Glasproppen af, aabner Aspiratorens Hane og lader Vandet *ganske langsomt* løbe ud. Under hele Gennem sugningen ryster man Vadskeflasken, for at de Kim, der findes i Luftblærens Indre — Luftbobler vadskes som bekendt kun paa deres ydre Flader — kan sætte sig fast paa Vadskeflaskens fugtige Sider (ogsaa her spiller Næringsvædskens Adhæsionsevne en Rolle), naar de har forladt Vædsken, og inden Luften forlader Flasken. Til yderligere Sikkerhed mod at Kim forlader Vadskeflasken, kan man i Afgangsrøret indskyde en lille steril Bomuldsprop og efter endt Gennemledning støde den ned i Flasken med de Kim, den maatte have optaget; dog har denne Forsigtigheds-

foranstaltning en Ulempe, den nemlig, at det ikke er utænkeligt, at Bomulden, i Stedet for at afgive de Kim, der maatte være tilbageholdt i den, snarere yderligere fastholder nogle af de Kim, der findes i Vædsken, og saaledes gør denne kinfattigere. — Naar man har afsluttet Gennemledningen, maaler man den aftappede Vandmængde og har dermed Maalet for den gennemsugede Luft; for Beregningens Skyld staar man sig altsaa ved at aftappe f. Ex. 1—2 Liter Vand. Man udtager nu med en steril, inddelt Pipette — man erindre sig Næringsvædsken Vægtfylde og gør ikke Cubikcentimeter simpelthen til Gram — f. Ex. 1 C³ Vædske og fortynder denne op til 100 C³ med steril Vand. Af denne Fortynding udsaar man da f. Ex. $\frac{1}{10}$ eller $\frac{1}{100}$ C³ i en Petri-Skaal med Gelatine, idet man hælder den smeltede Gelatine op i Skaalen og i denne tilblander den bestemte Mængde af Fortyndingen; herved undgaar man Celletab i den Flaske, hvori Gelatinen smeltedes.

Til Næringsgelatine kan man bruge humlet Urt-Gelatine (Urten købes paa et Bryggeri), hvis man foretager Analysen i bryggeriteknisk Øjemed, Valle-Gelatine med Kridt, hvis Øjemedet er mælkeriteknisk, neutral Bouillon-Gelatine, hvis man vil undersøge Luften i Sygeværelser etc.

Ad den her angivne Vej kan man foretage ret tilforladelige sammenlignende Luftanalyser, f. Ex. at undersøge om Forbedringer i Luftventilationsforhold har frugtet eller for at komme paa Spor efter, om en teknisk eller medicinsk Infektion skyldes Luften.

Vandanalyser. Vandanalyser foretages dels for at bestemme Kimenes Antal (f. Ex. for at kontrollere Vandværkernes Filtre) og deres Art, saavidt det sidste er gørligt. Lider man i en teknisk Bedrift, hvor Vand benyttes, af Driftsforstyrrelser, og man ved Analyser har faaet Sygdomskimenes Art bestemt, gælder det om at finde Smittekilden og faa den tilstoppet, og

man gaar da tidt ikke forgæves, naar man anlægger sin Analyse paa Vandet. Dog maa man selvfølgelig sørge for, at man ikke i Stedet for at analysere selve Vandet analyserer Ledningerne, idet det jævnlig hænder, at det slet ikke er Vandet fra Kilden men kun Rørene, der er smittede; man maa derfor foretage en Dobbeltprøve, dels af Vandet som det bruges dagligt, dels af dets Udspring.

Analysen foretages som ovenfor angivet for Luftanalyse. Vandet fortyndes med sterilt Vand før Udsaaningen foretages.

Kan man ikke paabegynde Analysen paa det Sted, hvor man faar Vandprøven, men skal have sig denne tilsendt, maa den emballeres i Is for at forringe Formeringen paa Rejsen; men selv paa denne Maade kan man faa et meget misvisende Resultat, da særlig Bakterierne kan formere sig stærkt endog ved 0°.

„Drikkevands-Epidemier“ er jo — og med Rette — frygtede af mange. Desværre ejer man ikke, som i den kemiske Analyse, bestemte Reagenser for de forskellige Bakterier, saa man ved en Spredning og Udtagning af Kolonier strax kan afgøre, om man har Kolera-, Tyfus eller visse andre Bakterier for Haanden. Man er henvist til at foretage en besværlig Række Forsøg for at fastslaa Tilstedeværelsen, Forsøg, der som Regel maa afsluttes med Indpodning paa Dyr. Af Sygdomsbilledet og Bakteriernes Findested efter Obduktionen afgør man da den pathogene Bakteries mulige Tilstedeværelse i Vandet. Men Gennemførelse af hele dette Forsøgsapparat kræver foruden den rent lægevidenskabelige Forudsætning en saa betydelig bakteriologisk Øvelse og Erfaring, at saadanne Analyser som Regel kun kan udføres paa de bakteriologiske Laboratorier, der sidder inde med hele det vidtløftige Apparat til dette Brug.

Jordanalyser udføres ved, at Prøven rystes godt med lidt sterilt Vand og derefter føres over paa Gelatine, med hvilken

den atter rystes godt, hvorpaa man hælder det hele op i en Petri-Skaal til Afkøling og Tælling.

Ogsaa for Jordanalyser gælder det, at de maa tages under Behandling hurtigst mulig; hængaar der ret lang Tid, faar man at aldeles fejlagtigt Resultat.

Bedst anvender man Agar til Undersøgelsen, og Prøven vejes eller maales efter Forgodtbefindende.

— — —
Jævnlig forekommer det, at man under Analyse af Luft, Vand og Jord ønsker at lære en Mikroorganismes Formerings-evne ved en bestemt Temperatur at kende. Man kan da bære sig saaledes ad: Paagældende Art udsaas i Næringsvædske, og af denne Infektion udtages en afmaalt Prøve, som udsaas i Næringsgelatine. Man tæller senere de fremkomne Kolonier og beregner sig til Kimindholdet i et bestemt Vædskerumfang. Derpaa hensætter man den inficerede Næringsvædske til Dyrkning ved den ønskede Temperatur og følger Udviklingen ved Udsaaning paa Gelatine og Tælling. Men selvfølgelig maa man huske paa, at to og flere Celler kan klumpe sig sammen og kun give én Koloni, saa noget absolut udtømmende Resultat faar man ikke.

Er det en Gær, hvis Formeringsevne man vil kontrollere, benytter man sig jævnlig af et Tælleapparat, det saakaldte Objekt-Nætmikrometer. Det ligner et Ranviers-Kammer, men Nedslibningen af den Del, hvorpaa Vædskedraaben anbringes, er foretaget saa akkurat, at naar der anbringes et nøjagtig planslebet Dækglas over Draaben, er dennes Tykkelse $\frac{1}{10}$ mm. Den nedslebne Flade er endvidere inddelt i 400 Kvadrater, hver paa $\frac{1}{400}$ Kvadratcentimeter. Rumindholdet af det Antal Kvadrater, man vil tælle, lader sig da let udregne.

Man foretager Tællingen paa følgende Maade:

1 C³ af den inficerede Næringsvædske fortyndes op til

100 C³ med 10 % Svovlsyre, og man pisker Fortyndingen kraftigt for at faa Cellerne skilt ad. Medens Vædsken endnu er i Bevægelse, tager man med et Haarrør en lille Draabe og anbringer den i Kamret, det planslebne Dækglass lægges paa, og man tæller Cellerne i alle eller et bestemt Antal Kvadrater. Derpaa renser man Kamret, pisker igen Vædsken, udtager atter Prøve og tæller. Naar man har foretaget en halv Snes Tællinger, foretager man en Gennemsnitsudregning. — Med nogen Øvelse kan man faa Resultaterne af de forskellige Tællinger til at passe nogenlunde sammen; hvis man derfor i to Tællinger finder f. Ex. 23 og 6 Kim, maa man gaa ud fra, at man har glemt at piske Vædsken, før den sidste Prøve blev tagen, og at Cellerne derfor delvis var sunket til Bunds i Glasset.

Antiseptik.

Det er foran vist, hvorledes man ved Sterilisering gør Instrumenter og Apparater *aseptiske*, d. v. s. gør dem kimfri, saa de, beskyttet mod Smitte fra Luften, vedblive uden videre Foranstaltninger at være kimfri.

Antiseptiken derimod gaar ud paa at gennemtrænge et Stof, et Væv eller lign. med et Middel, der, saalænge det uforandret er til Stede, forhindrer at tilstedeværende eller senere tilkommende Mikroorganismer kan udvikle sig.

Saadanne antiseptiske Midler kan virke paa to Maader: De kan enten stanse paagældende Mikroorganismer i deres Udvikling uden at dræbe dem, eller de kan virke ved at dræbe saavel de forhaandenværende som efterhaanden tilkommende Kim.

De sidstnævnte antiseptiske Midler er de værdifuldeste. Idet de førstnævnte nemlig kun virke ved at være hæmmende for Organismernes Væxt, vil der mulig efterhaanden ophobes en ret betydelig Samling Kim, som i samme Øjeblik, det antiseptiske Middel undergaar en Forandring og helt eller delvis mister sin antiseptiske Evne, med større eller mindre Kraft vil kaste sig over det Stof, Væv o. s. v., der er inficeret.

Men da Antiseptiken særlig spiller en Rolle i Lægeviden-

skaben, stiller man til Antiseptika den Fordring, at de foruden i smaa Doser at være dræbende for Mikroplanterne, tillige helst skal være uden Reaktion paa Mennesker og Dyr.

Disse to Fordringer maa man altsaa stille til et godt Antiseptikum, men at ikke alle Fabrikanten af Antiseptika har Øje herfor, ser man maaske ogsaa af den Hurtighed, hvormed nye Midler komme paa Markedet og forsvinde igen.

Det er imidlertid ikke nok, at et Antiseptikum er sikkert dræbende; det maa ogsaa være hurtigt dræbende. Naar man derfor skal foretage en Undersøgelse af et antiseptisk Middels Virkning, maa man indrette sin Analyse paa at kunne gennemføre den saa hurtig, at man faar en paalidelig Tidsmaaling, d. v. s. man maa, naar Midlet har virket f. Ex. i et Minut, strax kunne slippe for dets videre Indvirkning paa Organismen.

Tidligere brugte man meget og bruger endnu i mange Tilfælde at dyppe smaa Stykker sterilt Filtrerpapir eller Silkesnor i Kulturen og lade dem lufttørre under en Glasklokke. Efter fuldstændig Tørring blev Prøvestykkerne dyppet paa Tid i den antiseptiske Vædske, strax afskyllet i Vand eller en Vædske, der ophævede det antiseptiske Middels Virkning (f. Ex. efter Behandling med Sublimat Afskylning først i Svovlammonium og derefter Vand). Men det er paa Grund af Papirets og Snorens Porøsitet vanskeligt at faa en øjeblikkelig Standsning af det antiseptiske Middels Virkning, og man er derfor mere og mere gaaet over til at anvende smaa Dækglass i Stedet for porøse Stoffer.

Da Dækglassene næsten altid er lidt fedtede, renser man dem først ved Overhældning med stærk Saltsyre, derefter Ud-kogning med Soda og sluttelig stærk Afskylning med destilleret Vand, hvorefter man lader dem dryppe af og tørre paa Filtrerpapir under en Glasklokke. De saaledes rensede Dækglass steriliseres i en Petri-Skaal ved tør Varme.

Dækglassets Præparation med den Mikroorganisme, man vil prøve overfor et Antiseptikum, sker paa den Maade, at man lægger Glassene paa Filtrepapir og med et Haarrør anbringer en lille Draabe af den opslemmede Mikroorganisme paa hvert Glas. Med en Platintraad fordeler man derefter Draaberne over Glassenes hele Overflade og lader dem saa rolig henstaa under en Glasklokke til fuldstændig Lufttørring.

Ønsker man nu f. Ex. at prøve Desinfektionsmidlets Virkning i to forskellige Tidsrum, f. Ex. i 1 og 5 Minutter, maa man have færdigpræpareret mindst 9 Dækglas, idet man for Kontrollens Skyld benytter mindst 3 Glas til hver Tidsperiode, og man til Kontrolforsøg med Vand anvender samme Antal Dækglaspræparater. — De 6 Dækglas maa ikke indføres i samme Beholder med den antiseptiske Vædske, men til hvert Glas skal man have en Beholder med Vædske — ligeledes med Vand — og disse Beholdere og Indhold maa være steriliseret i Vanddamp, og Beholderne lukkede med Vatpropper.

Naar Dækglaspræparaterne har været i det foreliggende Antiseptikum, afskylles de, om muligt først i en steriliseret Vædske, der ophæver Desinfektionsvædskens Virkning uden at have nogen Egenvirkning, derefter i Vand. Denne Afskylning maa foretages saaledes, at man har en eller to steriliserede Skyllskaale til hvert Dækglas.

Efter Afskylningen kommes Glassene i Petri-Skaale med en Næringsgelatine, som er passende for paagældende Mikroorganisme, man knuser Glasset med Pincetten og omryster godt, for at Dækglasstumperne kan blive godt fordelt, og hensætter derpaa til Dyrkning.

Fra det Resultat, man opnaar, maa man imidlertid ikke slutte til paagældende Antiseptikums Virkning paa alle Mikroorganismer. Et Antiseptikum kan nemlig virke bedre paa én Art end paa en anden, ligesom ogsaa Temperaturen spiller en

væsentlig Rolle. Endvidere kommer hertil som en betydelig Faktor den Modstandsdygtighed, Prøvekimene sad inde med under Forsøget, og som kan være meget forskellig efter Cellernes Alder og de forudgaaende mer eller mindre hyppige Opfriskninger. Og endelig maa man tage Kimmængden, der skal dræbes, med i Betragtning.

For at naa til et Resultat, der dog siger saa meget som muligt, vælger man til Forsøgsmikroorganismer saadanne Typer, som er særlig resistente, f. Ex. Miltbrand-, Hø- og Jordbakterier i Sporestadiet. Dog maa man heller ikke anse Sporerne af samme Art for at være lige modstandsdygtige til enhver Tid; Miltbrandssporers Modstandsdygtighed er saaledes forskellig under forskellige Sygdomstilfælde (Esmarch); Høbacillens Sporer variere meget i Modstandsdygtighed, og med Jordbakteriernes er det endnu værre, fordi det ikke her drejer sig om en Renkultur, men om en tilfældig Blanding af forskellige Bakteriesporer.

Høbacillens Sporer, der forøvrigt har historisk Interesse, fordi de er de første Bakteriesporer, som er bleven paavist (Cohn 1877), har man imidlertid let Adgang til, idet man kan fremstille en Kultur paa følgende Maade: Lidt ituklippet Hø overgydes med ganske lidt Vand og sættes i Thermostat ved 36° i 4 Timer, derpaa gyder man Udtrækket af (filtrerer ikke, men neutraliserer med Na_2CO_3 , hvis det er for surt), fortynder til Vægtfylde 1,004, steriliserer i 1 Time i strømmende Vanddamp, hensætter atter i Thermostat ved 36° , og efter et godt Døgn vil der paa Vædskens Overflade være dannet en Hinde af sporebærende Høbaciller.

— Foruden den her fremstillede Methode til Undersøgelse af et Antiseptikums Virkning har man mange andre, tillempet saavel efter Mikroorganismer som Antiseptika. Blandt disse regnes f. Ex. Sollys, Elektricitet, Ozon. For at prøve disse

Agenziers Virkning paa bestemte Former maa man selvfølgelig have en modificeret Fremgangsmaade, men foruden allerede udarbejdede Methoder, som det vilde blive for vidtløftigt at referere her, kan enhver selv lægge sin Arbejdsplan, ordnet efter de Oplysninger, man vil have til Resultat af sine Undersøgelser.

— — —

De antiseptiske Midlers Tal er stort, og det vil ikke være muligt her at levere en udtømmende Fortegnelse over dem. Kun i store Træk kan den planlagte Begrænsning for denne Bog tillade en Omtale af de forskellige Grupper af Antiseptika, som findes paa et Apothek.

Af *Hallogenerne* spiller Klor og Jod en betydelig Rolle i Praxis paa Grund af selve Grundstoffernes store antiseptiske Værd; Jodets Anvendelse som Jodoform er som bekendt betinget af Grundstoffets Frigørelse af dets Forbindelse under Resorptionen af det dyriske Væv.

Af *Metallerne* virke Kviksølv, Sølv og Guld antiseptiske; selv det rene Metal, f. Ex. et lille Guldstykke lagt paa en Gelatineplade, forhindrer Udvikling i et Bælte udenfor dets Omkres. Praktisk Anvendelse finder dog kun Saltene.

Sublimatets desinficerende Virkning er overordenlig stærk, men den svækkes, naar det er et æggehvideholdigt Stof, der skal desinficeres. Behring har saaledes fundet, at for i Løbet af faa Minutter at dræbe vegetative Miltbrandbakterier krævedes en Opløsning af Sublimat i

Aq. destill. 1 : 500,000
Bouillon 1 : 40,000
Blodserum 1 : 2,000

Ligeledes virker Klorider hæmmende paa Sublimatets Virkning. Miltbrandssporer blev udsat i 6 Minutter for Sublimatvand og derefter foretoges Udsæd:

Uden Klornatrium kom kun 8 Kolonier til Udvikling.

Med 1 Del do.	—	32	—	—
— 2 Dele do.	—	124	—	—
— 4 — do.	—	382	—	—
— 6 — do.	—	803	—	—
— 10 — do.	—	1087	—	—

I Praxis anser man en 2 ‰ Sublimatopløsning for at være sikker desinficerende overfor sporefri, pathogene Bakterier (Tuberkulose, Tyfus, Difteritis o. s. v.). Om den Tid, Sublimatvand af forskellig Styrke skal være i Berøring med Miltbrandsporer ved 18° for at dræbe dem, har Paul og Krönig givet os følgende Tabel:

1,7 ‰ Hg Cl	12—14	Minutter
0,84 —	24—30	—
0,42 —	45—60	—
0,22 —	60—80	—
0,11 —	over 2	Timer

Af Sølvforbindelser skyldes Nitrats store Anvendelse dets overordenlige antiseptiske Virkning; Behring angiver saaledes, at Miltbrandsporer ikke kan udvikle sig i Blodserum, der indeholder

Sølvnitrat	1 : 30,000
Sublimat	1 : 10,000
Natronlud	1 : 1,500
Karbolsyre	1 : 500
Thymol	1 : 250
Alkohol	1 : 15
Klornatrium	1 : 15

Af andre Sølvforbindelser er Protargol, Itrol, Argentamin o. s. v. kendt fra Apotheket som meget anvendte. Argentum colloidal er af Credé foreslaaet anvendt ikke alene til antiseptisk Saarbehandling men endog til Indsprøjtning under Huden — eventuelt opløst i Serum til Forstærkning af dets Virkning — for at gøre selve Legemet infektionshæmmende. Blandt andre uorganiske Antiseptika maa nævnes manganoversur Kali, Borsyre, Arsensyring, Svovlsyring. De stærke uorganiske

Syrer og Baser har derimod kun ringe antiseptisk Virkning, en Erfaring, man har fra Apotheket, hvor man f. Ex. let faar Skimmeludvikling i 10 % Svovlsyre.

Af *organiske* Antiseptika indtager Karbol- og Salicylsyre en fremragende Plads. Karbolsyren virker bedst i vandig Opløsning (5 % Karbolvand regnes for sikkert desinficerende mod vegetative pathogene Bakterier), hvorimod Karbololie og Salve kun er af ringe Virkning. — Salicylsyre virker kun antiseptisk i fri Tilstand; bundet til Alkalier er den uvirk-som. 0,2—1 Gram Salicylsyre er nok til at forhindre Gæring ved alm. Temperatur i 10 Liter Vin, Øl o. lign. og i 1 Liter Saft. — Salicylsur Natron, der paa Grund af den lette Opløse-lighed og derfor større Optagelighed anvendes mere end Salicylsyre i Lægevidenskaben, omsættes med de betændte Vævs Syre til fri Salicylsyre og faar dennes Virkning.

— — —

Endnu har man en Række Antiseptika, som blandt den nyere Tids Bakteriologer er Genstand for det ivrigste Studium. Der er tidligere bemærket, at Mikroorganismernes Stofskifte-produkter er hæmmende, ja endog dræbende for selve Orga-nismen. Dette Forhold er f. Ex. kendt fra Apotheket paa en ret illustrerende Maade. Under Fremstillingen af Calciumlactat efter Ph. Dan. 68 til Lactas ferrosus foretog man daglig en Neutralisation af den dannede Mælkesyre, indtil en vis Mængde Alkali (tvekulsurt Natron) var forbrugt. Grunden til denne daglige Neutralisation var, at naar 0,8 % Mælkesyre var dannet, standsede Gæringen: Mælkesyrebakterien kunde ikke udvikle sig i en Vædske, der indeholdt mere af dens Stofskifteprodukt i uomsat Stand.

Det tilsvarende Forhold kender man f. Ex. ogsaa i Tek-niken fra Alkoholgæren, der standser sin Udvikling, naar der

er dannet en vis Mængde Alkohol; dog svinger Alkoholmaximumet med de forskellige Racer.

I Lægevidenskaben kalder man de udskilte Stofskifteprodukter, der kan være af en saa heftig Virkning paa Mennesker og Dyr, for Toxiner. Men de angrebne dyriske Celler udskiller igen Stoffer, som virke som Modgift mod Toxinerne og kaldes Antitoxiner, og som ikke maa forvexles med de Stoffer, der, udsondrede af de dyriske Celler og navnlig de hvide Blodlegemer, dræber og opløser Legemets Bakterier, kaldes Alexiner og kan betragtes som Legemets Beskyttere mod Infektion.

Paa Forholdet mellem Toxiner og Antitoxiner grunder sig Serumbehandlingen.

Indsamling af Materiale til Studiet.

Det er en Nødvendighed for enhver Gæringsfysiolog at skaffe sig en god Samling Mikroorganismer. Under Studiet fremkommer der stadig nye lagttagelser, som maa jævnføres med tidligere, og da er det nødvendigt at kunne foretage denne Sammenligning.

Samlingen maa jo bestaa af Renkulturer, og derfor maa Begynderens første Arbejde være at tilegne sig Øvelse i disses Fremstilling.

Men forinden man kan paabegynde Rendyrkningsforsøgene, maa man have sine Næringsvædske og sit øvrige Materiel i Orden. Hermed begynder man derfor sit gæringsfysiologiske Arbejde, og naar man har Næringsvædske og Gelatiner i Oplag, den sterile Kasse, Præparernaale etc. anskaffet, tager man fat paa Rendyrkningen; det drejer sig jo kun om manuel Færdighed, og den tilegner man sig uden synderlig Vanskelighed. Lettest skaffer man sig Materiale ved at købe et Stykke Pressegær og rendyrke denne. Stammer Gæren fra en Spritfabrik, har man nu skaffet sig en Renkultur af denne Fabriks Sprit- og Pressegær, og man signerer den med Fabrikens Navn. Man forøger Samlingen med en Bryggeri- Over- og Undergærtype, skaffer sig Gærtyper fra gærende friske eller

tørrede Frugter (de sidste kan man knuse, paahælde noget sterilt Vand og hensætte til Gæring i Thermostaten). Paa tørre Frugter, som Rosiner og Svedsker, der henlægges i en Petri-Skaal paa fugtigt Filtrepapir og henstilles i Thermostat, vil man ofte kunne faa *Schizosaccharomyceter*. Skummet Mælk koaguleres med Løbe, og den fugtige Ostemasse henstilles til Gæring ved Stuetemperatur; den udvikler da jævnlig en stærk Lugt af Eddikeæther, som skyldes en Gær af ejendommelig Form; man kan let isolere den.

Saaledes kan Begynderen fortsætte; efterhaanden kommer Øvelsen, og imedens har han faaet sig en lille Samling forskellige Gærtyper.

Indsamlingen af Skimmelsvampe kan nu paabegyndes. Der gives overalt rigelig Lejlighed til at faa Kultur af den blaagrønne *Penicillium glaucum*. Fra ægte Rochefort- eller Gorgonzolaost kan man foretage Udsæd paa Gelatine og, naar man er heldig, finde en anden *Penicillium*, som giver Ostens stærke ammoniakalskkrydrede Gæring og er graablaa i Farven. Paa Hestepærer findes *Mucortyper*, paa Vægge i fugtige Kældere *Aspergillus* og *Cladosporium*, paa Malt den røde *Fusarium* o. s. v.

Efterhaanden erhverver Begynderen sig saa megen Øvelse i Rendyrkning af de større Mikroorganismer, at han kan gaa over til Indsamling af det bakteriologiske Materiale. Inden han paabegynder dette Arbejde, maa det dog tilraades ham at erhverve sig fornøden Øvelse i at skelne Bakterier fra Udskilninger i Vædsken — det er ikke altid let for Begynderen. Ret god Øvelse faar man ved at paaskænke en Haandfuld Korn (Hvede, Havre, Rug o. s. v.) lidt almindeligt Vand og hensætte det under jævnlig Omrystning i Thermostat. I Løbet af et Par Dage vil man have en meget stærk Udvikling af forskelligartede Bakterier, og da Vædsken samtidig er rig paa

Udskilninger, vil man have tilstrækkelig Anledning til Sammenligninger. Særlig maa man studere Forskellen mellem de levende Cellers og Udskilningernes Brydningsevne.

Ved Luft- og Vandanalyser gives der Lejlighed til at erhverve en smuk Samling Bakterietyper, af hvilke særlig Farvebakterierne kan afgive det prægtigste makroskopiske Billede. — Fra en Betændelse med gul Materie kan der meget let isoleres en pathogen Bakterie, den bekendte *Micrococcus pyogenes aureus*; lidt af Materien opslemmes i Vand og spredes paa Bouillon-Gelatine.

— — —
Naar der er skaffet til Veje en nogenlunde righoldig Samling Gær, Skimmelsvampe og Bakterier, kan man paabegynde det Studium, der for Farmaceuten har en væsenlig Interesse: Hvorledes forholde disse almindeligste Mikroorganismer, som han altsaa særlig maa støde paa under Lægemidlernes Tilberedning og Opbevaring, hvorledes forholde de sig f. Ex. til Varme og Kulde? Han skal undgaa, at hans Safter gære, at hans Urter og Ekstrakter skimle o. s. v. Han bør derfor rent experimentelt kunne skaffe sig dén fysiologiske Viden om Mikroorganismene, som han behøver.

Noget særlig vidtløftig Arbejde er det ikke for Farmaceuten ved Selvsyn at underbygge sin praktiske Viden med theoretisk Bevis. Naar han har denne foreløbige Samling Mikroorganismer, kan han ved Udsaaning i Næringsvædske og Opvarmning til forskellige Temperaturer momentant eller paa Tid skaffe sig Bevis for, om de paagældende Temperaturer har formaaet at dræbe Mikroorganismen, eller om der kommer Udvikling i Kolben ved Henstand. Af Hensyn til eventuel Infektion efter Opvarmningen nøjes man selvfølgelig ikke med en enkelt Kolbe men fører flere Kontrolkolber. Og paa samme

Maade kan man overbevise sig om, hvorvidt lave Temperaturer formaa at hindre eller blot forhale Udviklingen.

Efter saaledes at have indøvet sig i dette Arbejde, kan Farmaceuten gaa over til Studiet af de Forhold, hvorunder Lægemidler fremstilles ved Hjælp af Mikroorganismer eller undergaa Forandring, f. Ex. under deres Opbevaring, og han kan lade dette Studium resultere i en Afgørelse af de Vilkaar, hvorunder Mikroorganismernes Arbejde fremmes eller deres Angreb afværges — det Resultat, Farmaceuten skal høste af sit gæringsfysiologiske Studium, til hvilket denne kortfattede Vejledning i Tekniken skulde give ham Anvisning paa de nødvendigste Manipulationer.

Pathogen Teknik.

Det er gentagende fremhævet, at ved Artsbestemmelse af pathogene Bakterier ser Forløbet af Analysen i de fleste Tilfælde saaledes ud: Indledende mikroskopisk Undersøgelse — Renkultur — Vækstsymptomer i Gelatine og paa andet fast Substrat — Farvningsejendommeligheder — Dyreforsøg med Sygdomsbillede.

Det sidste Led i Kæden — og det er i Reglen det afgørende under Analysen — kan Farmaceuten ikke gennemføre; naar her alligevel skal fremstilles nogle Væxtbilleder fra Gelatine og nogle Farvningsmetoder, sker det særlig for gennem disse Exempler at oplyse om andre Artsbestemmelsesmetoder end dem, der er omtalt foran under Behandlingen af den tekniske Bakteriologi.

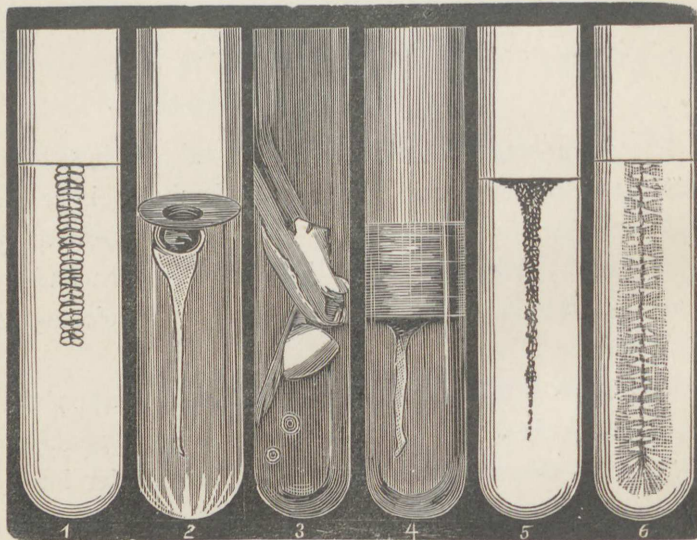
— — —

Ved Dyrkning paa Gelatine giver flere Bakterier sig allerede til Dels til Kende. Det er omtalt, hvorledes man ved Spredning af Mælkesyrebakterier allerede makroskopisk kan kende deres Kolonier paa Kridt-Gelatine.

I den lægevidenskabelige Bakteriologi anvender man Stikkulturer til Hjælp ved Artsbestemmelsen, og de Vækstsymptomer,

man opnaar i Reagensglas, kan ogsaa være i højeste Grad karakteristiske.

Stikkulturen fremstilles som angivet Pag. 44, idet man enten tilsteder Luften Adgang til Reagensglasset ved kun at lukke med en Vatprop, eller man anvender den anaerobe Dyrkning. Efterhaanden som Udviklingen skrider frem, ser man da de ejendommelige Artsegenskaber under Væksten. Paa



ovenstaaende Billede efter Flügge, Holst og Salomonsen vil man finde dette anskueliggjort.

1) er en Gærsvamp, 2) er Koleraspirillen; Stikket er 4 Dage gammelt; øverst i Gelatinen udvikler Spirillen som en Artsejendommelighed en lille Luftblære. 3) er den almindelige Tarmbakterie, *Bact. coli commun*; udvikler Luftblærer langs Stikk kanalens Sider. 4) en af de hyppigste Betændelsesbakterier, *Micrococcus (Staphylococcus) pyogenes aureus*; gør Gelatinen

flydende efterhaanden som den voxer nedad. 5) Miltbrand-bacillen. 6) Museseptikæmi.

— — —

Foruden Væxtfænomenerne i Gelatine-Stikkulturer, benytter man ogsaa Udviklingsejendommelighederne paa Gelatineplader til Bestemmelse. F. Ex. voxer *Bact. typhi* (Tyfusb.) ud til overordenlig tynde, gennemsigtige Hinder (Kolonier) med Perlemoderglands. Men det gør ogsaa en anden Tarmbakterie, den ovenfor omtalte *Bact. coli*. Foretager man nu imidlertid en Udsaaning af de to Bakterier paa en sur Kartoffeloverflade, voxer *Bact. typhi* hurtigt ud over hele Fladen, uden at man kan se denne undergaa anden Forandring end, at den bliver ubetydelig fnugget og lidt fugtig; *Bact. coli* forandrer derimod Kartofflens Overflade saaledes, at den ser ud, som var den gullakeret.

Ogsaa rent kemiske Forhold kan anvendes til Artsadskillelse; f. Ex. forgærer *Bact. coli* Mælkesukker til Mælkesyre og danner det exkrementlugtende Indol i Pepton; *Bact. typhi* forgærer ikke Mælkesukker og danner som Regel ikke Indol.

— — —

Under Artsbeskrivelser i den systematiske Bakteriologi vil man finde anført de Ejendommeligheder overfor Væxtbund og kemiske Prøvemidler, der benyttes ved Artsbestemmelsen af phathogene Bakterier sammen med Dyreforsøget og *Farvnings-methoderne*.

Disse sidste har til Formaal enten at farve Bakterierne med et Farvestof, som en Type optager eller afgiver lettere end andre lignende Typer, hvorved man faar et Reagens paa den, eller blot at farve de i det dyriske Væv vanskelig paa-viselige Bakterier med et Farvestof, som de ikke igen afgiver under en paafølgende Affarvning af selve Vævet; de blive

derved synlige. Den første Methode kaldes Dækglasfarvning (Dækglaspræparater), den anden Snitfarvning (Snitpræparater).

Dækglaspræparaterne fremstilles paa følgende Maade: Med en Platintraad eller med et Dækglas fordeles lidt af det bakterieholdige Stof — Materie, Sputum o. s. v. — i et ganske tyndt Lag paa Dækglasset, hvorefter man lader det tørre; derefter hærdes det, d. v. s. ved at trække Glasset 3—4 Gange gennem en Spritflamme (med den præparerede Side opad) eller ved at lægge det i absolut Alkohol eller en Blanding af absolut Alkohol og Æther, bringer man Materialets Æggehvite til at koagulere, hvorved Bakterierne bindes fast til Glasset og ikke skylles af under Farvningen.



For ikke under denne og efterfølgende Operationer at knuse Glasset med Pincetten saavel som ogsaa for at gøre det mindre anstrængende at holde det, benytter man med Fordel en Cornets Pincet.

Snitpræparaterne kan man fremstille af Vævene ved Hjælp af en Barberkniv, dog at man helst indsmelter Vævet i Paraffin og, hvis det er meget blødt, fryser det. Det er imidlertid ikke let at fremstille tilstrækkelig fine Snit med en Barberkniv, og man benytter derfor i Almindelighed en Mikrotom, som kan indstilles til en bestemt Snittykkelse, og paa hvilken man samtidig kan foretage Frysningen af Præparatet. — Som underholdende Øvelse kan Farmaceuten godt fremstille saadanne Snitpræparater og foretage Farvninger. Vævsmaterialet, som maa være hærdet i absolut Alkohol mindst to Dage, før man vil bruge det, kan let skaffes gennem en Dyrlæge.

Farvningen foregaar saaledes, at man lader Dækglasset med den præparerede Side ned ad falde oven paa Farvevædsken, som man har i et Urglas eller en Farvekop, eller man holder Glasset med en Cornets Pincet og drypper med en Øjenpipette saa megen Farvevædske paa Glasset, som man kan have, uden at Vædsken flyder over.

Snitpræparaterne farves lettest saaledes, at man med Præparernaal og Nysølvsspatel flytter Snittet forsigtigt fra Kop til Kop med Farvevædske og videre til Udvadskningskopperne. Til sidst udvaskes hurtigt og fuldstændigt for Vand i absolut Alkohol.

Saa vel Dækglas som Snitpræparater lægges bedst i Kanada-balsam. Man har da samtidig et udmærket Opbevaringspræparat.

— Et Par Farvemethoder, af hvilke den sidste kan anvendes som Universalmethode til Farvning af Bakterier, er følgende:

Grams Methode. 5 C³ mættet Gentianaviolet (25 Gram af Anilinen, 100 Gram absolut Alkohol, filtr.) blandes med 100 C³ Anilinvand (5 Dele Anilinolie, 100 Dele Vand, filtr.); der farves i denne Blanding i 1—3 Minutter; derefter mindst lige saa længe i Jod-Jodkalium (Jod 1, Jodkalium 2, Vand 300), Afvadskning i absolut Alkohol, til Præparatet er aldeles af-farvet, og efter Tørring nedlægges i Kanadabalsam. Af Mikrokokkerne farves Micrococcus Gonorrhoeae *ikke* efter Grams Methode, som derfor har faaet en stor klinisk Betydning ved Undersøgelse af mistænkeligt Sekret; for dog at kunne se Gonokokken foretager man efter Præparatets Affarvning i Alkohol og Tørring en kortvarig Farvning med en vandig Opløsning af Bismarckbrunt, frisk tilberedt; derefter Afskylning i Vand.

Gonokokkerne er da brune, medens Diplokokker, hvor-med de let forvexles, er violette.

Karbol-Fuchsin-Methoden: 1 Del Fuchsin, 10 Dele Alkohol, 100 Dele 5 % Karbolvand; heri lægges Præparatet 3—5 Minutter (Dækglas) eller et Kvarter (Snit), Afskylning i Vand, derefter i absolut Alkohol til lyserød Farvning.

Naar man efter Farvningen i Karbol-Fuchsin dypper Præparatet et Par Sekunder i 25 % Svovlsyre, affarves alle Bakterier uden Tuberkel- og Leprabakterier. Efter Afvaskning i 60 % Alkohol og Udvadskning i Vand for Spor af Svovlsyre, kan man kontrafarve i $\frac{1}{2}$ —1 Minut i en mættet Opløsning af Methylenblaat (25 Anilin, 100 Vand, filtr.), Afskylning i 60 % Alkohol, Afvanding i absolut Alkohol, Tørring og Nedlægning i Kanadabalsam; man har da de rødfarvede Tuberkelbakterier liggende i det blaatfarvede Præparat.

Udførlige Anvisninger til Bakteriefarvning findes i Prof. Salomonsens Teknik.

INDHOLDSFORTEGNELSE.

	Pag.
1. Kapitel: Laboratoriet	5
2. — Renkulturer.....	15
3. — Rendyrkningens Teknik	23
4. — Kulturers Anvendelse i Praxis	31
5. — Næringssubstrater	39
6. — Undersøgelsesmetoder.....	43
7. — Luft-, Vand- og Jordanalyser	47
8. — Antiseptik	53
9. — Indsamling af Materiale til Studiet	61
10. — Pathogen Teknik.....	65

Literaturfortegnelse.

Literaturfortegnelse.

- Beijerinck, M. W.:* Ueber die Einrichtung einer normalen Buttersäuregärung. Centralbl. f. Bakteriologi u. Parasitenkunde. 2 Abt. 1896.
- Benecke, W.:* Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. (Jahresb. f. wissensch. Botanik, Bd XXVIII 1895.
- Biernacki, E.:* Über die Eigenschaft der Antiseptika, die Alkoholgärung zu beschleunigen. Pflügers Archiv XLIX.
- Buchner, Ed.:* Fortschritte in der Chemie der Gärung. Tübingen 1897.
- Buchner, H.:* Über den Einfluss des Lichtes auf Bakterien und über die Selbstreinigung der Flüsse. Archiv f. Hygiene. 1893.
- Centralblatt für Bakteriologi, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.* Jena.
- Fischer, Alfr.:* Vorlesungen über Bakterien. Jena 1897.
- Flügge:* Die Mikroorganismen. Leipzig. 3 Aufl. 1896.
- Fraenkel, C.:* Grundriss der Bakterienkunde. Berlin. 3 Aufl. 1890.
- Gruber, M.:* Gesichtspunkte für die Prüfung und Beurteilung von Wasserfiltern. Centralb. f. Bact. u. Parasit. 1893.

II

Über die Methoden der Prüfung der Desinfektionsmittel. Centralb. f. B. u. P. 1892.

Hansen, Emil Chr.: Organismer i Øl og Ølurt. Kbhvn. 1879.
Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustri. 2 Hefter 1895 og 1902.
Meddelelser fra Carlsberglaboratoriet 1879 og fremdeles.

Holm, J. Chr.: Über die Aufbewahrung der Hefe in Saccharoselösung. Centralb. f. B. u. P. II. 1896.
Sur les méthodes de culture pure et, spécialement, sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette methode. (Medd. fra Carlsberggl. 1891.)

Holst, Axel: Oversigt over Bakteriologien for Læger og Studerende. Christiania 1901.

Hueppe, F.: Die Methoden der Bakterienforschung. Wiesbaden. 5 Aufl. 1891.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. — A. Koch. Braunschweig 1891 o. fr.

Jørgensen, A.: Die Mikroorganismen der Gärungsindustri. Berlin. 4 Aufl. 1898.

Klöcker, A.: Die Gärungsorganismen in der Theori og Praxis. Stuttgart 1900.

Kramer: Die Bakteriologi in ihre Beziehungen zur Landwirtschaft. Wien 1900.

Lafar, F.: Technische Mykologie. Jena 1897.

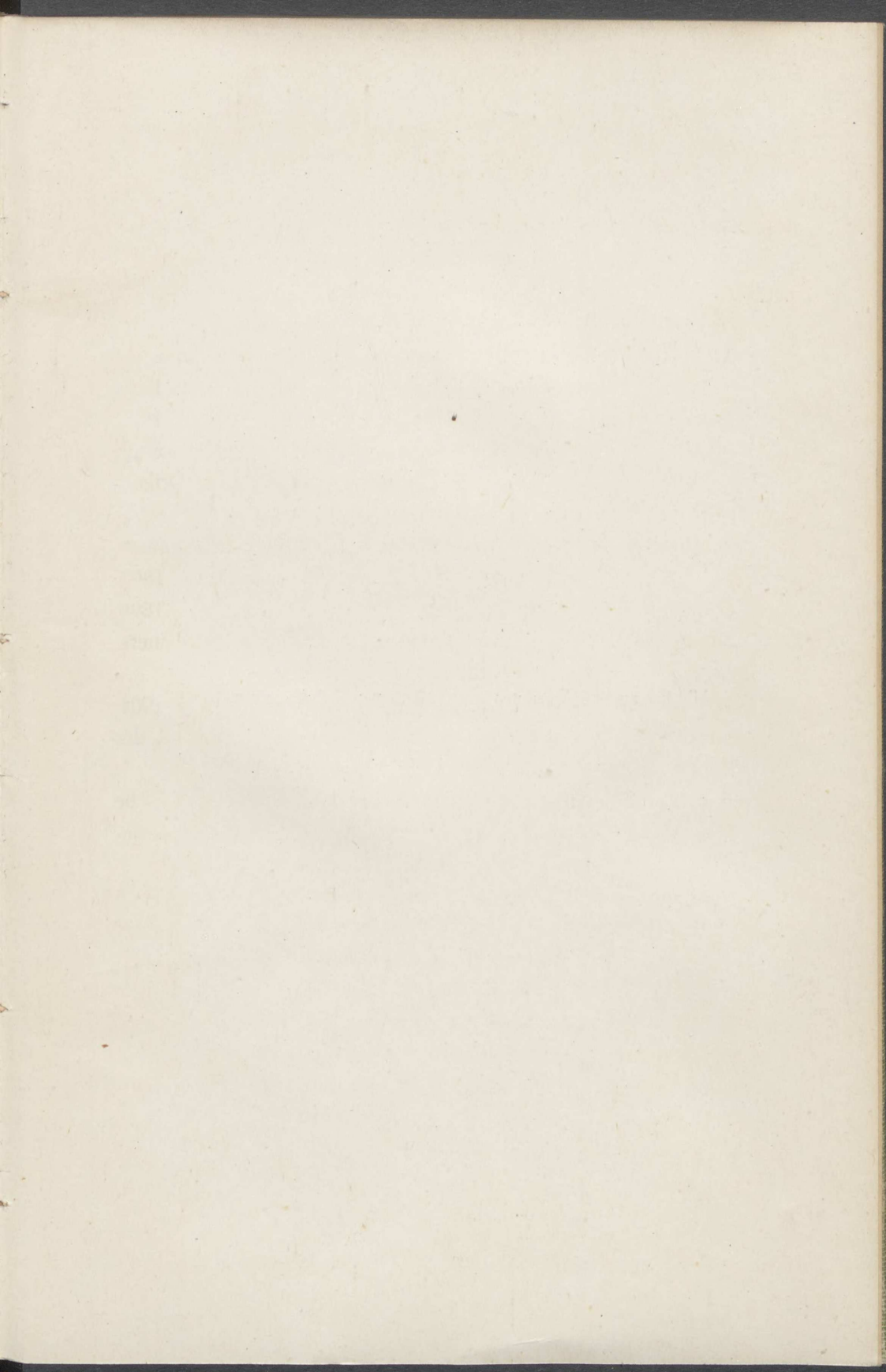
Lehmann & Neumann: Atlas und Grundriss der Bakteriologi. München 1896.

Lindner, P.: Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin 2 Aufl. 1898.

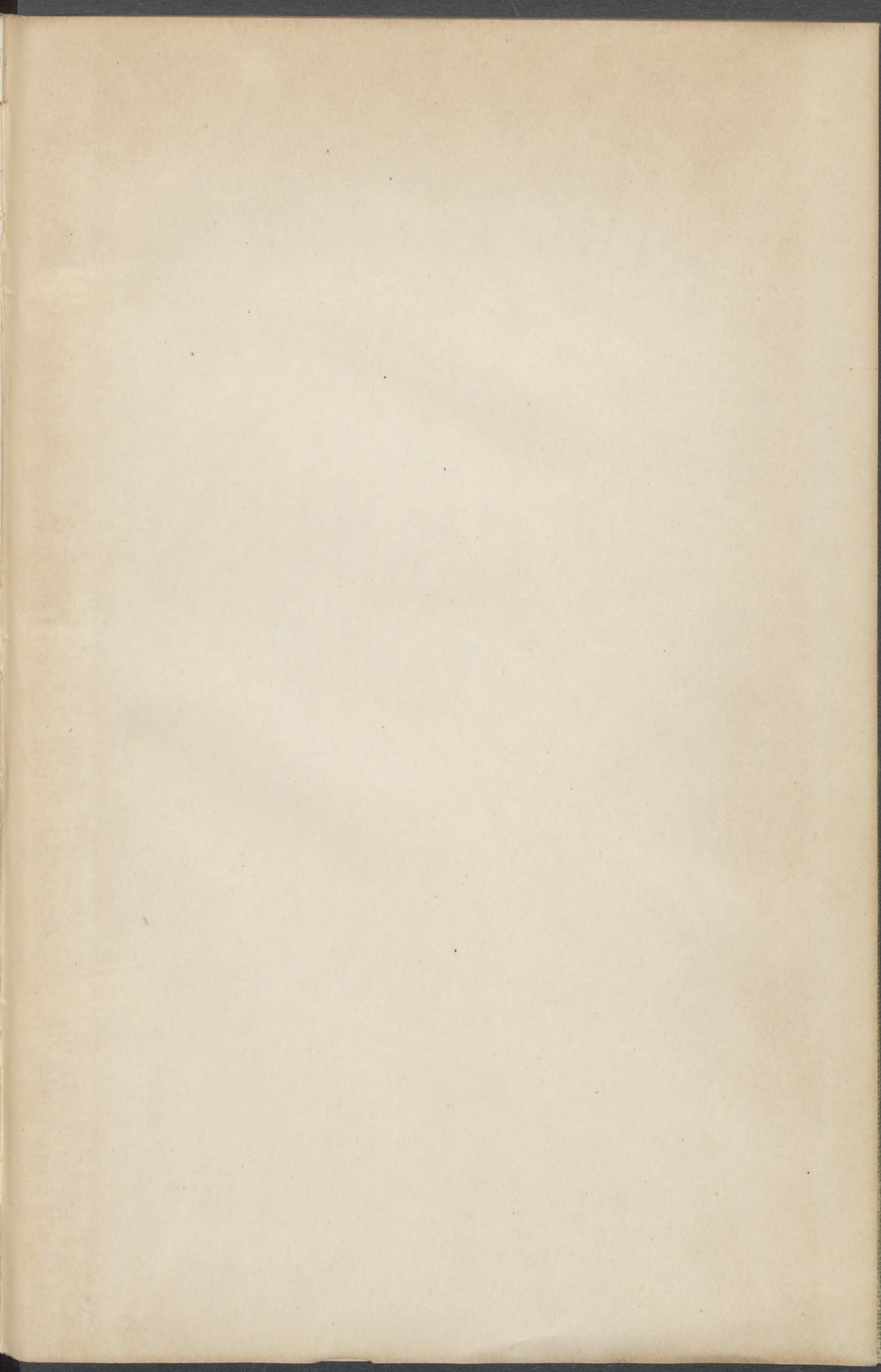
Lintner, C. J.: Handbuch der landwirtschaftliche Gewerbe. Berlin 1893.

III

- Marpmann, G.:* Bakterienbefunde im Leipziger Fluss und Teichwasser und im Roheis. Bericht der Pharmaceut. Gesellsch. 1893.
- Migula:* Bakteriologisches Praktikum. Karlsruhe 1892.
- Miquell:* Dixième memoire sur les poussières organisées de l'air et des eaux. Annuaire de Montsouris. Paris 1888.
- Mayer, Adolf:* Die Gärungschemi. Heidelberg. 4 Aufl. 1895.
- Nielsen, H. A.:* Om Bakterierne i Drikkevand med særligt Hensyn til Formerne i Københavns Drikkevand. Kbhvn. 1890.
- Nordtmeyer, H.:* Über Wasserfiltration durch Filter aus gebrannter Infusorienerde. Zeitschr. f. Hygiene. 1891.
- Olsen, Johan:* Gjæring og Gjæringsorganismer. Christiania 1890.
- Salomonsen, C. J.:* Bakteriologisk Teknik for Medicinere. Kbhvn. 3. Opl. 1894.
- Schmidt, Johs. og Fr. Weis:* Bakterierne. Kbhvn. 1899—1901.
- Storch, V.:* Untersuchung über Butterfehler und Säuerung des Rahmes. Milchzeitung 1890.
- Wehmer, C.:* Einige vergleich. Versuche über das antiseptische Verhalten der Benzoesäure und ihrer drei isomeren (Mono-) Oxysäuren. Chem. Zeit. 1897.
- Weis, Fr. og Johs. Schmidt:* Bakterierne. Kbhvn. 1899.
- Zopf, W.:* Die Pilze in morphologischer, physiologischer, biologischer und systematischer Beziehung. Breslau 1890.
-



Alle her anførte Apparater faas i H. Struers Laboratorium, København.



Aug. Andersen. København.