

(FRA DEN KGL. VETERINÆR- OG LANDBOHØJSKOLES SERUMLABORATORIUM.)

## MUTATIONSAGTIGE ÆNDRINGER I GÆRINGSEVNE HOS PARACOLI- OG KØDFORGIFTNINGSBAKTERIER.

AF

M. CHRISTIANSEN.

I Aaret 1907 beskrev M. NEISSER (1) og MASSINI (2) et ejendommeligt biologisk Fænomen, som de havde iagttaget hos en af dem funden Bakterie hørende til Tyfus-Coligruppen, og som af dem tydedes som ægte Mutation efter HUGO DE VRIES. Som bekendt bestaar Fænomenet i, at den paagældende Bakterie, der oprindeligt ikke formaar at forgære Lactose, ved at vokse paa lactoseholdigt Substrat afspalter en Form, der er i Stand til at forgære nævnte Sukkerart, medens den iøvrigt i alle andre Henseender er fuldtud identisk med Stamformen. Paa fast Substrat manifesterer Fænomenet sig ved, at den lactoseforgærende („muterede“) Form efter nogen Tids Forløb optræder som smaa knopformede Dannelser paa de oprindelige, ikke lactoseforgærende Kolonier. Paa farvede Substrater, f. Eks. Agar tilsat Fuchsin (Endo's Agar), Lakmus o. lign., kommer der samtidig som Følge af Syredannelsen ved Spaltningen af Lactosen en Farvereaktion; særlig smukt ses dette paa Endo's Agar, hvor Knopperne præsenterer sig som smaa, fuchsinrøde Døtrekolonier paa den ufarvede Moderkoloni. Foretages Udsæd fra Knopperne fremkommer udelukkende lactoseforgærende Kolonier, og denne Egenskab er nu ganske konstant, idet den nedarves til alle Efterkommerne.

Kort efter beskrev BURK (3) og SAUERBECK (4) et Par ganske lignende Bakterier, og senere har BURRI (7) paavist, at samme

Forhold, men her over for Saccharose, fandtes hos en af ham fra gærende Græs isoleret Bakterie (*B. imperfectum*). Endvidere har REINER-MÜLLER (5, 6) fremført en Række Eksempler paa noget lignende mutationsagtige Fænomener hos en Række Former hørende til Tyfus-Coligruppen, og ikke alene over for Lactose, men ogsaa over for flere andre Sukkerarter. Saaledes fandt han, at *B. typhi* danner „Knopper“ paa isodulcitholdigt Substrat, og saa konstant er dette, at han holder det for et vigtigt diagnostisk Kendemærke for Tyfusbaciller. Imidlertid er dette dog ikke helt det samme, som det af MASSINI o. a. beskrevne, idet Bacillerne fra de knopformede Dannelser mangler Evnen til at forgære Isodulcit, hvorfor der selvfølgelig ej heller kommer nogen Farvereaktion. Men da de kun fremkommer paa denne ene Sukkerart og iøvrigt forholder sig analogt med de foran omtalte „Mutationer“, mener REINER-MÜLLER sig berettiget til at identificere dem med disse, idet han antager, at de i Realiteten betyder det samme, kun at Tyfusbakterierne paa anden Maade end ved Forgæring er i Stand til at udnytte Isodulcitten. Paa samme Maade fandt REINER-MÜLLER ved systematisk Efterforskning at et større Antal Bakterier forholdt sig, saaledes flere Dysenteristammer overfor Isodulcit og Paratyfus-B overfor Raffinose.

Det er saaledes et ret betydeligt Antal Bakterier, hos hvilke disse Fænomener er paavist; om disses egentlige Væsen er Anskuelserne imidlertid delte. Medens NEISSER og MASSINI, BURK samt REINER-MÜLLER har henført Fænomenet til ægte Mutationer, har BURRI paa Grundlag af Forsøg med den af ham fundne *B. imperfectum* bestridt denne Opfattelse og hævdede, at det ikke drejer sig om en pludselig opstaaet, springvis Nyerhvervelse af en Egenskab, men derimod om en ganske vist hurtig, men dog ganske gradvis Udvikling af et allerede tilstedeværende Anlæg.

Fra forskellig Side er det endvidere gjort gældende, at de omtalte Knopdannelse muligvis kunde skyldes, at de paa-

gældende Kulturer ikke har været Renkulturer. De af BURRI (7) og KOWALENKO (8) foretagne Forsøg med Kulturer isolerede efter Burris Tuschmetode (Encellekultur) har imidlertid godtgjort, at det ikke har drejet sig om Forureninger.

### Egne Forsøg.

Som bekendt forekommer der jævnligt hos Kalve en Form af Kalvedødelighed (Kalvediarrhoe), der forårsages af Bakterier, der staar Paratyfus- og Gärtner-Bakterierne meget nær; saaledes kan de næppe ved deres Gæringsforhold overfor Sukkerarter og polyvalente Alkoholier adskilles fra disse. Det er egentlig kun ved deres Agglutinationsforhold, at man kan paavise nogen Forskel. Disse Bakterier, som her hjemme er kendt under Navnet Paracolibaciller, giver hos Kalve Anledning til ofte dødeligt forløbende Enteriter og Septicæmier, ved hvilke man da i Reglen finder Bakterierne i Mængde. Igennem en Aarrække er der blandt de til Forsøgslaboratoriet og Serumlaboratoriet til Undersøgelse indsendte Kalve konstateret et meget stort Antal Tilfælde af Paracolibacillose, saaledes at det er et meget betydeligt Materiale af disse Former, som Laboratoriet har haft til Raadighed.

Under Forsøg med disse Bakteriers Gæringsevne overfor en Række forskellige Sukkerarter blev jeg opmærksom paa, at de forholdt sig paa en ret mærkelig Maade overfor Arabinose. Medens Sønderdelingen af alle de andre Sukkerarter, som disse Former er i Stand til at forgære, i Bouillon tilsat den paagældende Sukkerart stedse viste sig i Løbet af 24 Timer ved Luftudvikling og Syredannelse, var Forgæringen af Arabinosebouillonon særdeles inkonstant. I et ringe Mindretal af Tilfældene producerede Paracolibacillerne straks Luft og Syre ligesom i de andre Sukkeropløsninger; men fra langt det overvejende Antal Kalve isoleredes Bakterier, som først efter 4—7, ja endog først efter langt længere Tids Forløb efter Udsæden viste Tegn til, at de havde begyndt at spalte



Arabinosen. Da jeg i 1909 blev opmærksom paa MASSINIS Arbejde, fik jeg Formodning om, at det omtalte Forhold kunde skyldes lignende Aarsager, som de af MASSINI hos *Bacillus Coli mutabilis* beskrevne. Ved Udsæd af Paracolikulturer paa Endo's Substrat — kun selvfølgelig med den Modifikation, at Arabinose var sat i Stedet for Lactose — viste det sig ogsaa, at Antagelsen var rigtig. Ganske som Tilfældet var ved *Bacillus Coli mutabilis* voksede ogsaa i Begyndelsen alle Paracolikolonier ufarvede; men efter 5—6 Dages Forløb begyndte der at optræde Døtrekolonier, der præsenterede sig som smaa, knopagtige Dannelser paa Overfladen af den oprindelige Koloni, fra hvilken de skarpt fremhævede sig, navnlig da de snart antog en intens Fuchsinfarve. Foretoges Udsæd i Arabinosebouillon fra en saadan Knop, indtraadte der straks — i Løbet af 10—12 Timer — Luft- og Syredannelse, og ved Udsæd paa Endo's Agar med Arabinose fremkom straks intens fuchsinfarvede Kolonier, som ikke viste Tegn til Knopdannelse. Anlagdes Kulturerne derimod fra den ufarvede (knopfrie) Del af Moderkolonien, varede det ligesom før mindst 4—7 Dage, inden der kom Tegn til Forgæring i Sukkerbouillon, og paa Endo's Substrat voksede samtlige Kolonier ufarvede, indtil der efter nogle Dages Forløb atter viste sig røde, knopformede Døtrekolonier. Herefter var det ganske utvivlsomt, at Paracolibacillerne forholdt sig paa samme Maade overfor Arabinose som de af NEISSER, MASSINI og BURK beskrevne muterende Bakterier overfor Lactose. Ialt har jeg paa denne Maade undersøgt 52 Paracolikulturer stammende fra forskellige Tilfælde, og dels flere Aar gamle Agarkulturer, dels ganske frisk isolerede Kulturer. Alle disse Kulturer har udvist det ovenfor beskrevne Forhold.

I samtlige Forsøg har jeg benyttet Substrater fremstillet af Cibils Ekstrakt i Stedet for Kød for at undgaa den Dextrose, der ofte findes i sidstnævnte i saa stor Mængde, at den kan virke forstyrrende, naar det drejer sig om at undersøge Ind-

flydelsen af en anden Sukkerart. Arabinosetilsætningen har været fra  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  ‰. Til Bouillonkulturerne er anvendt enten almindelige Gæringskolber eller Reagensglas; i sidste Tilfælde er der i Bouillonon anbragt et noget mindre Glas i omvendt Stilling og fyldt med Bouillon; Forgæringens Indtræden ses da meget let, idet en Del af den dannede Luftmængde opsamles i det omvendt staaende Rør. Kulturerne paa den arabinoseholdige Fuchsinagar er anlagt som simple Pladespredninger, der turde være de bedst egnede, idet man paa denne Maade faar de enkelte Kim sikrest isolerede. Da det kun er paa Overfladekolonierne, at Mutationerne kan iagttages tydeligt, og da Kolonierne ikke maa staa for tæt, men være godt isolerede, maa man anlægge flere Fortyndinger (3 eller 4); men med lidt Øvelse lærer man let at anvende de passende Forhold. Udsæden er foretaget enten fra 24 Timer gamle Bouillonkulturer eller fra Skraaagarkulturer. Endelig er anvendt 15 cm. Petris Skaale, hvortil 15—20 ccm. Agar er mest passende. Af andre Substrater har jeg benyttet almindelig Agar, kun tilsat  $\frac{1}{2}$  ‰ Arabinose, endvidere Arabinose-Lakmus-Agar, samt et af DÆNNEMARK (9) angivet Substrat, der er tilsat affarvet „Reinblau“. Paa alle disse Substrater fremkom ganske tilsvarende „Knopper“ som paa Arabinose-Fuchsinagar.

Skønt Kulturerne gennem en Række Spredninger stedse forholdt sig uforandrede, kunde Muligheden af, at Knopperne kunde skyldes en Forurening med andre Bakterier, ikke helt udelukkes. For at opnaa fuldstændig Vished for Kulturernes Renhed anlagdes fra tre forskellige Stammer Encellekulturer ad modum BURRI (Tuschkulturer). De gennem denne overordentlig bekvemme og smukke Metode isolerede Kulturer viste imidlertid ganske de samme Egenskaber som Udgangskulturerne.

Foruden de nævnte 52 Paracolikulturer isolerede fra Kalve har jeg endvidere undersøgt en Del Stammer af Paratyfus-B-, Kødforgiftnings- og Svinepestbakterier. Imidlertid forgærer de allerfleste af disse Bakterier straks ved Udsæden Arabinosen.

Dette var saaledes Tilfældet med alle de undersøgte Paratyfus-B-Stammer (ialt 43), og af 19 undersøgte Kødforgiftningsstammer forholdt de 16 sig paa samme Maade, medens kun 3 ikke for-gærede Arabinosen. Disse tre Stammer, nemlig Haustedt (Fischer) og Hamburg (Abel) — begge overladt Institutet af Dr. Trautmann, Hamburg — samt Lêle (modtaget fra Prof. Klimmer, Dresden), forholdt sig imidlertid ved Udsæd paa arabinoseholdigt Substrat paa ganske samme Maade som Paracoliformerne. Derimod viste Svinepest-

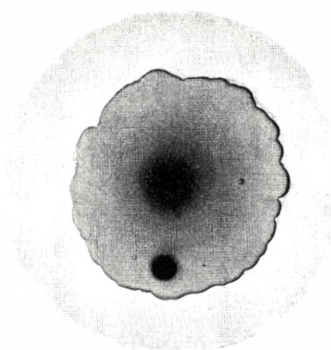


Fig. 1.  
Paracolikoloni. 5 Dage gammel.  
Begyndende „Knopdannelse“.  
(ca. 5 Gange forstørret).

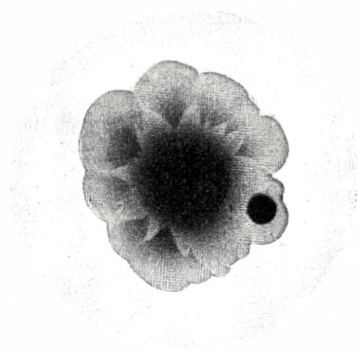


Fig. 2.  
Paracolikoloni. 7 Dage gammel med en  
24 Timer gammel „Knop“.  
(ca. 5 Gange forstørret).

bakterierne ingen Mutation<sup>1</sup>; tre ikke-arabinoseforgærende Stammer, der undersøgtes dels paa Arabinose-Fuchsinagar og dels paa Arabinosebouillon, vedblev stadig at holde sig uforandret.

Hvad iøvrigt „Knopdannelsen“ hos Paracoliformerne angaar, da afviger de i nogle Henseender fra de tidligere beskrevne. For det første optræder de temmelig sent; i Reglen er de jo ved Ophold ved 37° først synlige 6.—7. Dag, medens Bacillus Coli mutabilis og Burk's Bacil allerede bærer Knopper efter 2—3 Dage. Endvidere er det paafaldende, at kun et

<sup>1</sup> Ordet „Mutation“ bruges her og i det følgende for Kortheds Skyld, uden at der dermed tilsigtes nogen Identificering med Mutation hos højere Organismer.



temmelig ringe Antal af Overfladekolonierne paa en Plade bærer „Knopper“, og at disses Antal som Regel er ganske ringe; det hyppigste er 1 eller 2 (Fig. 1, 2). Kun ret undtagelsesvis kan man paa store Kolonier se op til en halv Snes „Knopper“ (Fig. 3, 4), der da kommer paa meget forskellige Tidspunkter. Det samme gælder „Knopperne“ paa de forskellige Kolonier. Muligvis skyldes det Forhold, at man ser saa faa „Knopper“, den relative Udtørring, som Pladen efterhaanden udsættes for. „Knoppernes“ Sæde er i Reglen

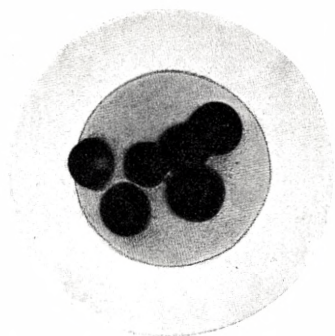


Fig. 3.  
Paracolikoloni. 12 Dage gammel.  
Multipel „Knopdannelse“.  
(ca. 6 Gange forstørret).

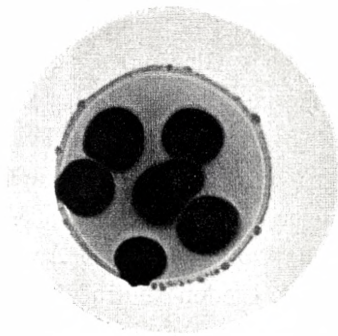


Fig. 4.  
Paracolikoloni. 14 Dage gammel.  
Store, stærkt røde „Knopper“.  
(ca. 6 Gange forstørret).

i Periferien af Kolonien, men de kan dog ogsaa opstaa i Midten af denne. I Begyndelsen præsenterer de sig som ganske smaa, næppe synlige Punkter i Moderkolonien; lettest er de at iagttage, naar denne ses halvt i Profil, idet de springer lidt frem over dennes Niveau; de er paa dette Tidspunkt ufarvede; men i Løbet af de næste 10—12 Timer forstørres de, og samtidig antager deres Centrum en mørkerød Farve. Senere forstørres de yderligere og fremtræder nu som helt mørkerøde Døtrekolonier, ofte med stærk Metalglans. Ved Udsæd fra Knopperne i Arabinosebouillon indtræder Forgæring som nævnt i Løbet af 12 Timer, medens den først kommer efter 4—5 Dages Forløb, naar Udsæden foretages fra

den ufarvede Del af Kolonien; ofte varer dette endog meget længere, 14 Dage—3 Uger eller endnu mere. Dette stemmer ganske med det tidligere nævnte, at forskellige Kolonier fra samme Sygdomstilfælde forgærer Arabinosen efter højst forskellig Tid. Denne Variabilitet skyldes sandsynligvis for en Del, at der indtræder Hæmninger for Mutationen, naar Kulturen har naaet en vis Alder, formodentlig paa Grund af Mangel paa Næringsstoffer. Den samme mærkelige Variation iagttager man nemlig, naar man fra een enkelt Koloni anlægger Kulturen i en Række Forgæringsglas med Arabinosebouillon. Forgæringen vil da indtræde højst variabelt i de forskellige Glas. Dette gælder saavel, naar Udsædsmaterialet er rigeligt (en hel Øse), som naar der kun er udsaaet ganske faa (3—4 Bakterier) i hvert Glas. Som Eksempel kan anføres Forgæringens Indtræden i nedenanførte 15 Glas, der alle er tilsaaet fra een enkelt Koloni. I hvert af Glassene er afmaalt 5 ccm.  $\frac{1}{4}$  % Arabinosebouillon. I de første 4 Dage efter Udsæden indtraf ingen Forgæring i noget af Glassene; men femte Dag indtraf Forgæring i to Glas, 6. Dag yderligere i et, 7. Dag i to o. s. v. (se nedenstaaende Skema).

Antal Dage efter Udsæden	Antal forgærede Kulturer
1—4	Ingen
5	2
6	1
7	2
8—9	Ingen
10	2
11	1
12	5
13—23	Ingen
24	2

Det fremgaar heraf, at der i nogle af Glassene har fundet en meget betydelig Hæmning Sted. Denne kan imidlertid



formindskes meget, hvis man anvender større Bouillonmængder. Anvender man f. Eks. 10 ccm. Bouillon, er Forskellen allerede betydelig mindre, og i 50 ccm. indtræder Forgæringen i de forskellige Glas kun med 2—3 Dages Variation. Dette taler jo i høj Grad for, at det er de daarligere Ernæringsforhold, der foraarsager Hæmningen, idet denne navnlig bliver fremtrædende i de smaa Bouillonmængder.

Anlægger man nu Spredninger paa Arabinose-Fuchsinagar fra en gammel Arabinose-Bouillonkultur, i hvilken paa viselig Forgæring endnu ikke er indtraadt, faar man udelukkende ufarvede Kolonier frem, der danner „Knopper“ paa sædvanlig Maade. Man kunde tænke sig, at de arabinoseforgærende Kim var blevet afspaltede paa sædvanlig Tid, men hæmmes i deres videre Vækst i den paa dette Tidspunkt jo allerede flere Dage gamle Kultur. Dette er imidlertid ikke Tilfældet. De vilde jo i saa Fald — hvis de da ikke var i saa ringe Mindretal, at de overhovedet ikke kom med paa Agarpladerne — præsentere sig som røde Kolonier paa disse; men endvidere ser man, hvis man i en gammel Arabinose-Bouillonkultur, der ikke har begyndt at forgære, udsaar en Øse af en meget stærkt fortyndet forgærende Kultur (1 Øse = 2—3 Bakterier), at de udsaaede 2—3 Kim i Løbet af 24 Timer fremkalder Forgæring. Det er altsaa selve Afspaltningen af den forgærende Form, der hæmmes; er Omformningen først sket, indtræder den „makroskopiske“ Forgæring meget hurtigt.

Den samme Hæmning kan ogsaa iagttages, naar Bakterierne paa anden Maade dyrkes under mindre gunstige Livsbetingelser. Anvendes saaledes Peptonvand tilsat Arabinose, sker der ingen, eller en meget sent — først efter Uger eller Maaned — optrædende Ændring i Kulturens Gæringsevne, for saa vidt Peptonmængden (Wittes Pepton) er under 1 0/0, selv naar Udsæden foretages i ret stor Mængde (100 ccm.) Peptonvand, og det til Trods for, at selve Væksten tilsyneladende ikke hæmmes meget i dette Substrat. Det samme gælder for

det tilsvarende faste Substrat, idet „Knopdannelsen“ udebliver herpaa. Paa samme Maade gaar det, hvis man med de sædvanlige Substrater anlægger anaërobe Kulturer, idet nemlig Formerne tilhørende saavel Paratyfus-B- som Paracoli- og B. enteritidis-Gruppen vokser temmelig daarligt anaërobt; der er en tydelig Hæmning af Væksten under disse Forhold. Dette gælder saavel Bouillonkulturer under Pyrogallol som Agarkulturer i høje Lag. I disse sidste ser man, naar man i Arabinose-Agar udsaar en rigelig Mængde (1 Øse Kultur til 30 ccm. Agar) ikke-arabinoseforgærende Bakterier, makroskopisk kun Vækst i en Zone, der indtager det øverste, knapt 1 mm. tykke Lag af Agarsøjlen; i hele den øvrige Del af denne kan man kun ved Hjælp af Lupe iagttage ganske fine Kolonier. Dette Forhold forbliver uforandret, selv om Kulturen staar nok saa længe, og hvis man — ved Udsæd fra forskellige Steder af Agarmassen i Arabinosebouillon — efter f. Eks. en Maanedes Forløb undersøger, hvorledes det er gaaet med Evnen til at forgære Arabinose, vil man finde, at kun i det øverste Lag har Omdannelsen fundet Sted; i hele den nederste, iltfattige Del er Bakterierne uforandrede. Her er det altsaa de anaërobe Forhold, der gennem de daarligere Livsbetingelser, de frembyder, har forhindret Afspaltningen af den arabinoseforgærende Form; hvis en arabinosespaltende Paracolibacil udsaaes anaërobt, indtræder Forgæringen straks uhindret.

Et særdeles vigtigt Spørgsmaal er dette, om det samme Forhold, som vi træffer overfor Arabinosen, ogsaa gælder for andre Sukkerarters Vedkommende, om vi med andre Ord her har med Bakterier at gøre, der i udstrakt Grad er i Stand til at ændre deres Gæringsevne — at mutere. Da disse Bakterier imidlertid er i Stand til at forgære de fleste Sukkerarter, bliver der kun temmelig faa tilbage, der i denne Forbindelse kan blive Genstand for Undersøgelse. Af disse har jeg undersøgt følgende fem: Lactose, Saccharose, Raffinose og Sorbose samt den polyvalente Alkohol Adonit, idet

alle de foran nævnte Kulturer er udsaaet paa Fuchsin-Agar, til hvilket der i Stedet for Arabinose var sat en Blanding af de nævnte fem Præparater, af hver  $\frac{1}{4}$   $\%$ . Efter Udsæd paa Petris Skaale anbragtes disse først 7 Dage i Thermostat ved  $37^{\circ}$  og dernæst 7 Dage ved Stuetemperatur; hos ingen af de ialt 49 undersøgte Kulturer kunde imidlertid paavises nogen-somhelst Omdannelse; det sandsynligste er da vel, at denne er et overfor Arabinosen specifikt Fænomen.

Under hvilke Forhold indtræffer nu denne Omformning, og hvad er Aarsagen dertil? For Plante- og Dyremutationernes Vedkommende er Aarsagen jo ganske ukendt. Forandringerne opstaar pludseligt uden nogen paaviselig Aarsag, og de nye Egenskaber er oftest af den Natur, at deres Nytte for Individet ikke er meget iøjnefaldende. Bakteriemutationerne forholder sig anderledes — rent bortset fra, at den vegetative Formering ikke uden videre kan jävnføres med den kønnede; Bakteriemutationerne adskiller sig navnlig derved, at vi vilkaarligt kan fremkalde dem, og at de under de givne Forhold betyder en værdifuld Forbedring af Individernes Livsvilkaar. Spørgsmaalet er nu, om det er den paagældende Sukkerart, der giver Anledning til Omændringen, eller om denne ogsaa kan fremkomme uden en saadan Paavirkning.

KOWALENKO (8) fremsætter den Formodning, at det er Stoffer i Substratet (Fuchsinet), der giver Anledning til Mutationen. At dette dog ikke kan være Tilfældet, fremgaar af den Omstændighed, at Mutationen jo ogsaa indtræffer paa almindelig Agar tilsat den paagældende Sukkerart.

For Paracolibacillernes Vedkommende synes Mutationerne ikke at paavirkes af den tilstedeværende Arabinosemængde, saaledes som det vil fremgaa af nedenstaaende Forsøg, i hvilket en ikke-arabinoseforgærende Paracolikultur er udsaaet i to Glas med 50 ccm. Bouillon tilsat henholdsvis  $\frac{1}{4}$   $\%$  og 2  $\%$  Arabinose. Ved daglig Titring og Spredning paa Arabinose-Fuchsinagar kontrolleredes Tidspunktet for Syredannelsen i



Boullonen og Fremkomsten af de arabinoseforgærende Former, saaledes som Skemaet viser.

$\frac{1}{4}$   $\frac{0}{0}$  **Arabinosebouillon.**

	Titer <sup>1)</sup> (med Phenolphtaleïn)	Spredning paa Arabinose- Fuchsinagar.
Ved Udsæden . . . . .	0,2	
Efter 24 Timer . . . . .	0,2	Kun ufarvede Kolonier.
— 48 — . . . . .	0,2	do.
— 3 Dage . . . . .	÷ 0,2	do.
— 4 — . . . . .	0,8	Mange røde Kolonier; i Forhold til de ufarvede ca. 3:1.

**2**  $\frac{0}{0}$  **Arabinosebouillon.**

	Titer (med Phenolphtaleïn)	Spredning paa Arabinose- Fuchsinagar.
Ved Udsæden . . . . .	0,2	
Efter 24 Timer . . . . .	0,2	Kun ufarvede Kolonier.
— 48 — . . . . .	0,2	do.
— 3 Dage . . . . .	÷ 0,2	do.
— 4 — . . . . .	1,2	Mange røde Kolonier; i Forhold til de ufarvede ca. 5:2.

Det fremgaar endvidere heraf, at Syredannelsen og Fremkomsten af de arabinoseforgærende Kolonier følges ganske ad; saa snart de sidste er afspaltede, indtræder Syredannelsen. Ved Udsæd paa fast Substrat kunde der heller ikke iagttages nogen Forskel i „Knoppernes“ Udseende eller Tidspunktet for deres Optræden, hvad enten der var tilsat  $\frac{1}{4}$  eller 2  $\frac{0}{0}$  Arabinose.

Som allerede nævnt træffer man i sjældnere Tilfælde Paracoliinfektioner hos Kalve, hvorfra man direkte kan isolere Bakterier, der i alle Henseender forholder sig som de ovenfor

<sup>1</sup> Titeren angives her ved den Mængde  $\frac{1}{10}$  normal Natronopløsning der kræves tilsat for at faa svag Rødfarvning med Phenolphtaleïn. At Titeren er 0,2 vil altsaa sige, at der skal tilsættes 0,2 ccm.  $\frac{1}{10}$  normal Natron, og ÷ 0,2 betyder, at Kulturen er alkalisk, saa der maa tilsættes 0,2 ccm.  $\frac{1}{10}$  normal  $H_2SO_4$  for at naa Neutralgrænsen.

nævnte, ved „Knopdannelsen“ fremkomne arabinoseforgærende Kulturer. Det ligger nær at antage, at disse spontant forekommende, arabinoseforgærende Former stammer fra oprindelig ikke-arabinoseforgærende, fra hvilke de paa en eller anden Maade, under særlige Forhold er afspaltede, analogt med, hvad vi kunstigt kan fremkalde, naar vi dyrker Bakterierne paa arabinoseholdigt Substrat. Men i saa Fald maa denne supponerede „naturlige“ Omdannelse højst sandsynligt foregaa uden nogen Paavirkning af Arabinose, da Bakterierne sikkert meget vanskeligt vil kunne komme i Berøring med denne Sukkerart ude i Naturen. Alle Forsøg paa at faa Omdannelsen frem uden Arabinosens Medvirkning er imidlertid mislykkedes. Saaledes er prøvet Indflydelsen af en Række forskellige Sukkerarter, idet Paracolibaciller er udsaaet i Bouillon tilsat disse; saadanne over 1 Aar gamle Kulturer forholdt sig imidlertid paa ganske samme Maade overfor Arabinose som før Udsæden. Endvidere kunde det tænkes, at Omdannelsen uden Arabinose kunde foregaa i den dyriske Organisme, i Tarmen eller i Vævene. Der er derfor paa forskellige Dyr foretaget Infektionsforsøg ved Fodring samt ved subkutan og intraperitoneal Injektion; men ogsaa alle Forsøg paa ved Dyrepassage at fremkalde en Omdannelse af den omtalte Art er faldet negativt ud.

To ca. 2 Maaneder gamle Kalve fodredes hver med 2 ccm. 24 Timer gammel Bouillonkultur af en ikke-arabinoseforgærende Paracolistamme; de døde af Paracolibacillose efter henholdsvis 6 og 15 Dage. Fra Milt og Blod anlagdes ti Spredninger paa Arabinose-Fuchsinagar; men til Trods for, at en Mængde Kolonier iagttoges, fandtes udelukkende samme Type som Udgangskulturen. Endvidere inficeredes en Del andre Dyr paa forskellig Maade; der anvendtes hertil 1 Døgn gamle Bouillonkulturer af en ikke-arabinoseforgærende Paracolistamme, og fra de døde Dyr anlagdes Spredninger fra Blodet paa Arabinose-Fuchsinagar. Resultaterne vil fremgaa af omstaaende Tabel.

Dyrets Art	Infektionsmaade	Infektionsdosis	Død efter	Undersøgelse paa Arabinose-Fuchsinagar
Marsvin . . . .	subkutan	1,0 ccm	10 Dage	Udelukkende ufarvede Kolonier.
— . . . .	intraperit.	0,5 ccm.	1 Dag	—
Broget Rotte	subkutan	1 ccm.	12 Dage	—
— . . . .	intraperit.	0,5 ccm.	4 Dage	—
Vandrotte . .	subkutan	0,5 ccm.	2 Dage	—
— . . . .	intraperit.	0,25 ccm.	2 Dage	—
— . . . .	Fodring	10 ccm.	5 Dage	—
— . . . .	—	10 ccm.	5 Dage	—
Hvid Mus . . .	subkutan	0,1 ccm.	5 Dage	—
— . . . .	—	0,1 ccm.	5 Dage	—
— . . . .	intraperit.	0,1 ccm.	10 Timer	—
— . . . .	Fodring	10 ccm.	10 Dage	—
— . . . .	—	10 ccm.	9 Dage	—
— . . . .	—	5 ccm.	8 Dage	—
— . . . .	—	5 ccm.	10 Dage	—

Endvidere forsøgte ved at indlægge Kolodiumsække med frisk tilsaaede Bouillonkulturer i Bughulen paa Kaniner, om en længere Tids Kontakt med den dyriske Organisme var i Stand til at fremkalde Mutationen. Imidlertid fandtes Bakterierne efter to Maaneders Forløb ganske uforandrede.

Af andre Undersøgere har KOVALENKO (8) ment at kunne fremkalde Mutation hos *Bacillus Coli mutabilis* ved intraperitoneal Indsprøjtning paa Mus, idet han efter Injektion af den ikke-lactoseforgærende Form fra nogle af de døde Mus fik baade hvide og røde Kolonier paa Endo's Agar ved Udsæd direkte fra Hjerteblodet. Da de røde Kolonier imidlertid ikke er nærmere undersøgt og identificerede, kan de ikke tjene som Bevis for, at der er foregaaet Mutation; snarere maa man antage, at det drejer sig om Colibakterier, der sekundært er indvandret fra Tarmen. Hos Paracoliformerne har det i hvert Fald, som det fremgaar af det foran anførte, ikke været muligt at fremkalde Mutationerne uden Tilstedeværelse af Arabinose.

Har Bakterierne først faaet Evnen til at forgære Arabi-



nosen, saa er den konstant, idet Efterkommerne, saa vidt man kan se, vedbliver at være arabinoseforgærende. Helt at afgøre dette Spørgsmaal er imidlertid umuligt, idet det jo kun er et meget ringe Mindretal af Efterkommerne, man er i Stand til at undersøge; men Tilbageslag er ikke nogensinde iagttaget. Saaledes fandtes gennem 20 Generationer ved skiftevis Spredning paa Arabinose-Fuchsinagar og Udsæd i almindelig Bouillon udelukkende arabinoseforgærende Kolonier, og i en næsten 2 Aar gammel Stikkultur i almindelig Agar (uden Arabinose) fandtes de enkelte Bakterier at have bibeholdt deres arabinoseforgærende Evne uforandret. Heller ikke ved at lade Bakterierne passere forskellige Dyr lykkedes det at føre dem tilbage til den oprindelige Form. De nærmere Enkelt-heder ved disse Forsøg vil fremgaa af nedenstaaende Tabel.

Dyrets Art	Infek-tions-maade	Infek-tions-dosis	Død efter	Undersøgelse paa Arabinose-Fuchsinagar
Marsvin . . . .	subkutan	1 ccm.	12 Dage	Udelukkende røde Kolonier.
— . . . .	intraperit.	0,5 ccm.	10 Dage	—
Broget Rotte	subkutan	1 ccm.	7 Dage	—
—	intraperit.	0,5 ccm.	6 Dage	—
Vandrotte ..	subkutan	0,5 ccm.	1 Dag	—
— ..	intraperit.	0,25 ccm.	1 Dag	—
— ..	Fodring	10 ccm.	6 Dage	—
— ..	Fodring	10 ccm.	7 Dage	—
Hvid Mus . . . .	subkutan	0,2 ccm.	3 Dage	—
— . . . .	subkutan	0,2 ccm.	4 Dage	—
— . . . .	intraperit.	0,1 ccm.	2 Dage	—
— . . . .	intraperit.	0,1 ccm.	4 Dage	—
— . . . .	Fodring	5 ccm.	8 Dage	—
— . . . .	Fodring	5 ccm.	11 Dage	—

Udover Forskellen paa Arabinosen kunde der ikke paa-vises nogen Forskel mellem de to Former; deres Voksemaade og deres Gæringsevne er ganske ens, og heller ikke ved deres Agglutinationsforhold frembyder de nogen Uoverensstemmelse indbyrdes. Til Agglutinationsforsøgene anvendtes Serum fremstillet paa Kaniner ved Hjælp af to Stammer,

nemlig en ikke-arabinoseforgærende, isoleret fra Kalv (Encellekultur), og en fra en „Knop“ fra samme Stamme isoleret arabinoseforgærende Kultur. De to Sera's Titer var henholdsvis 1:2500 og 1:1000. Overfor begge disse forholdt de to Kulturer sig ganske ens, og paa samme Maade forholdt sig en direkte fra Kalv isoleret arabinoseforgærende Stamme. Ogsaa overfor Paratyfus B- og Gärtner serum forholdt disse tre Kulturer sig ens, idet de ikke paa virkedes af førstnævnte og agglutineredes ganske svagt (1:100) af sidstnævnte. — De tre foran nævnte Kødforgiftningsbakterier agglutineres alle af Gärtner serum.

Hvorledes skal nu disse Ændringer i Gæringsevnen opfattes? Det er foran nævnt, at Anskuelserne herom er afvigende. Medens de første Undersøgere har opfattet Fænomenet som en virkelig ny Egenskab, der er opstaaet pludselig og springvis og herfor identificerer det med Mutation hos højere Organismer, har navnlig BURRI i et for nylig offentliggjort Arbejde (7) hævdet en ganske anden Opfattelse. Grundlaget herfor er en Række Forsøg, som han har foretaget med en af ham fra gærende Græs isoleret colilignende Bakterie, der ved at vokse paa saccharoseholdigt Substrat gaar over fra at være ikke-saccharoseforgærende til at blive en typisk Saccharoseforgærer. Forsøgene, der navnlig tager Sigte paa at vise, hvorvidt denne Omdannelse sker pludseligt, er udført med en noget anden Teknik end den almindelig anvendte. BURRI anvender nemlig saakaldte „Schüttelkulturer“, det vil sige almindelige anaërobe Spredninger i høje Lag. Udsaar han nu en stor Mængde af den nævnte Bakterie paa denne Maade i Saccharose-Pepton-Agar, vil Kolonierne i den anaërobe Del af Kulturen i de første Dage holde sig makroskopisk næsten usynlige; men efter 4—5 Dages Forløb opstaar der enkelte synlige Kolonier rundt i Agarmassen, og samtidig tilkendegiver disse ved Luftudvikling, at de er i Stand til at

spalte Saccharosen. BURRI har nu fra en Række saadanne samtidig anlagte Kulturer med en eller  $\frac{1}{2}$  Dags Mellemrum fremstillet nye lignende „Schüttelkulturer“, og han fandt da, at den Hurtighed, hvormed de synlige Kolonier opstod, eller med andre Ord, hvormed Forgæringen indtraf i de nye Kulturer, rettede sig efter, hvor gamle de til Udsæden benyttede Kulturer havde været, altsaa efter den Tid, de udsaaede Bakterier i Forvejen havde været i Berøring med Saccharose; jo længere denne Tid var, des hurtigere skete Udviklingen af de saccharoseforgærende Kolonier. Heri behøvede der jo i og for sig ikke at være noget mærkeligt; men det interessante var, at de saaledes overfor Saccharose „præparerede“ Bakterier vedblev at forgære denne Sukkerart paa samme Maade, selv om de i nogle Generationer havde vokset paa saccharosefrit Substrat. BURRI slutter da heraf, at Omdannelsen fra ikke-forgærende til typisk forgærende Form ikke sker pludseligt, springvis, men relativt langsomt og under Dannelsen af en Række Melleformer, der ganske jævnt danner Overgangen mellem de to Ekstremer. Endvidere opstiller han den Anskuelse, at Evnen til at forgære Saccharose stadig har været til Stede, men hidtil i latent Form, sandsynligvis som Følge af, at Bakterierne ikke før har haft Lejlighed til at træffe sammen med denne Sukkerart. Først efter nogen Tids Forløb faar de den rette „Øvelse“ i at sønderdele den, idet de under dens Indflydelse udvikler Evnen til at udskille det Enzym (Invertase), der er nødvendigt, for at Sønderdelingen af Saccharose skal finde Sted. Det, der er sket, er altsaa efter BURRI kun en gennem Sukkerets Indvirkning fremkaldt Udvikling af en allerede i Anlæg tilstedeværende, men endnu ikke udøvet Funktion; dette skulde gælde ikke alene Burris Bakterie, men ogsaa alle de som muterende beskrevne.

Delvis med den af BURRI anvendte Teknik har jeg forsøgt, om man hos Paracolibacillerne kunde paavise lignende Melleformer mellem arabinoseforgærende og ikke-arabinoseforgæ-



rende. Imidlertid foregaar jo som tidligere anført Omdannelsen hos disse Bakterier ikke anaerobt; af den Grund maatte BURRI's „Schüttelkulturer“ opgives. I Stedet for har jeg da anvendt almindelig Bouillon tilsat  $\frac{1}{2}$  ‰ Arabinose. Fra en saadan Kultur er der da, fra Udsæden og til Gæringen i den er indtraadt, hver 12. Time udsaaet 1 Øse i et andet Glas, og de saaledes tilsaaede Glas er da med 12 Timers Mellemrum nøjagtigt undersøgt med Hensyn til eventuel Luft- og Syredannelse. I samtlige Glas er der anvendt 50 ccm. Bouillon for at undgaa den tidligere nævnte Hæmning, der finder Sted, hvis mindre Mængder anvendes. Bouillonkulturer har den Fordel ved disse Forsøg, at man ved at titrere en mindre Mængde (5 ccm.) med langt større Nøjagtighed kan bestemme Tidspunktet for Gæringens Indtræden, end naar man som ved faste Kulturer maa rette sig udelukkende efter Luftudviklingen.

Nedenstaaende Skema giver en Oversigt over et af disse Forsøg. Fra det med A betegnede Glas, der indeholder 50 ccm.  $\frac{1}{2}$  ‰ Arabinosebouillon og er tilsaaet med en ikke-arabinoseforgærende Paracolibacil, er der med Intervaller paa 12 Timer udsaaet en Øse i de følgende. Det første Glas (B) er tilsaaet fra A, da denne var 12 Timer gammel; det næste (C), da den var 24 Timer o. s. v., indtil Forgæringen i A efter 4 Døgns Forløb indtraadte. 0 betyder ingen Forgæring; + Luft- og Syredannelse.

Kulturen A's Alder ved Ud- sæden i B—I	Glassets Mærke	12 Tim.	24 Tim.	36 Tim.	48 Tim.	2 $\frac{1}{2}$ Dg.	3 Dg.	3 $\frac{1}{2}$ Dg.	4 Dg.	4 $\frac{1}{2}$ Dg.	5 Dg.	5 $\frac{1}{2}$ Dg.	6 Dg.
12 Timer . . . . .	A	0	0	0	0	0	0	0	+				
24 — . . . . .	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
36 — . . . . .	C	0	0	0	0	0	0	0	0	+			
48 — . . . . .	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+		
2 $\frac{1}{2}$ Dag . . . . .	E	0	0	0	0	0	0	0	+				
3 — . . . . .	F	0	0	0	0	0	0	0	0	+			
3 $\frac{1}{2}$ — . . . . .	G	0	0	0	0	0	0	+					
4 — . . . . .	H	0	+										
	I	+											

Som det fremgaar af Skemaet, kunde der ikke paavises nogen Forkortelse af Latenstiden; selv den Kultur (G), der er anlagt fra den 3 Dage gamle Arabinosekultur, bruger  $3\frac{1}{2}$  Dag om at forgære Arabinosen. Ret interessant forholder ogsaa Kulturen H sig. Den er anlagt fra A efter  $3\frac{1}{2}$  Dags Forløb paa et Tidspunkt, hvor der ved Titring ikke kunde paavises nogen Syredannelse i A; alligevel har denne dog indeholdt arabinoseforgærende Celler, idet Forgæringen i H indtraadte inden 24 Timers Forløb. Mellemformer, som de af BURRI beskrevne, kunde altsaa ikke paavises. Hvis der i det hele taget fandtes hurtigt forgærende („sensibiliserede“) Bakterier, maa man dog gaa ud fra, at de lige saa vel i Bouillon som i „Schüttelkultur“ vilde komme til at præge Kulturen, noget som BURRI for Resten selv udtrykkelig hævder.

Samtidigt med de ovennævnte Arabinosebouillonkulturer anlagdes fra A tilsvarende Kulturer paa Skraaagar uden Arabinose. BURRI fandt jo nemlig, at de hurtigere forgærende Mellemformer beholdt denne Evne ogsaa paa sukkerfrit Substrat. Disse Skraaagarkulturer udsaaedes saa samtidigt i Arabinosebouillon (50 ccm.), saaledes som man vil se af følgende Skema. Af dette vil det fremgaa, at der heller ikke her fandtes nogen Slags Mellemformer, idet de 6 Kulturer, der stammede

### Skraaagarkulturerne udsaaet i Arabinosebouillon.

Skraaagar- kulturerne anlagt fra A efter:	Glassets Mærke	12 Tim.	24 Tim.	36 Tim.	48 Tim.	$2\frac{1}{2}$ Dg.	3 Dg.	$3\frac{1}{2}$ Dg.	4 Dg.	$4\frac{1}{2}$ Dg.
direkte fra A . . . . .	A <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	+		
12 Timer . . . . .	B <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	+	
24 — . . . . .	C <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	+	
36 — . . . . .	D <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	+
48 — . . . . .	E <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	+			
$2\frac{1}{2}$ Dag . . . . .	F <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	+			
3 — . . . . .	G <sub>1</sub>	0	0	0	0	0	0	0	+	
$3\frac{1}{2}$ — . . . . .	H <sub>1</sub>	+								
4 — . . . . .	I <sub>1</sub>	+								

fra Udgangskulturen A, inden Forgæringen indtraf i denne (indtil  $3\frac{1}{2}$  Dag), forholder sig saa at sige ens og som ikke-forgærende Paracolibaciller, medens de to sidst anlagte Skraa-agarkulturer er typiske Arabinoseforgærere. Glassene er betegnede  $B_1$ — $I_1$  svarende til de i forrige Skema opførte Kulturer B—I.

Selv om disse Forsøg intet direkte beviser med Hensyn til Spørgsmaalet Mutation eller ikke, saa viser de dog, at det hos Paracolibakterierne drejer sig om noget andet end hos de Bakterier, som BURRI har arbejdet med, og at man derfor næppe ud fra de Resultater, som han er kommet til, kan drage videregaaende Slutninger angaaende Forholdet hos andre Bakterier. Det synes, som om den store Variation, som vi paa saa mange Omraader træffer indenfor Tyfus-Coligruppen, ogsaa paa dette Omraade gør sig gældende. Men i det hele taget vil det jo være overordentlig vanskeligt for ikke at sige umuligt at komme til nærmere Kendskab om de Forhold, hvorunder Omdannelsen foregaar. Den Hurtighed, hvormed Delingen af Cellerne og de nye Individuers Opstaaen foregaar, gør det jo umuligt for os at følge de enkelte Celler; det, vi iagttager, er Resultatet af en uhyre Mængde Cellers Stofskifte; de enkelte Cellers Egenskaber faar vi intet at vide om, og dette turde være særdeles vigtigt for at kunne drage sikre Slutninger om Forhold, der som de nævnte synes at være saa nøje knyttet til de enkelte Celler. Saa vidt man imidlertid kan se, taler de her refererede Forsøg i høj Grad for, at det virkelig — i hvert Fald hos Paracoli- og Kødforgiftningsbakterierne — drejer sig om Fremkomsten af en helt ny Evne. At det her skulde være en Aktivering af en latent Tilstand, synes lidet sandsynligt. Imod denne Antagelse taler ikke alene det, at Mellemløbet som de af BURRI beskrevne ikke lader sig paavise; men hele den Maade, hvorpaa Fænomenet præsenterer sig, peger i anden Retning. Saaledes tyder „Knop-



dannelserne“ i høj Grad paa, at det kun er et meget ringe Antal af de Celler, der danner en Koloni, hos hvilke den nye Evne kommer frem. Hvis det drejede sig om en simpel Aktivering af en latent Gæringsevne, skulde man tro, at samtlige eller i hvert Tilfælde et meget større Antal Celler maatte blive paavirkede. Hvis man vil opretholde Theorien om den latente Gæringsevne, maa man i hvert Tilfælde antage en overordentlig stor Variation i de enkelte Cellers Evne til at lade sig aktivere. Endvidere kan det Forhold, at Omdannelsen i saa høj Grad hæmmes af mindre gunstige eller usædvanlige Livsvilkaar (Peptonvand; anaërob Vækst) ogsaa vanskeligt bringes i Samklang med Theorien om, at Bakterierne blot skal „vænnes“ til den paagældende Sukkerart for at kunne spalte den. Hvorvidt Fænomenet lader sig indordne under Begrebet Mutation, saaledes som vi kender det fra de højere Organismer, er med vort nuværende Kendskab vanskeligt at afgøre. Principielt synes der ikke at være noget til Hinder derfor udover det, at man jo vanskeligt direkte kan sammenstille en rent vegetativ Formering med Formering gennem Køns-celler; men den nye Egenskabs pludselige Opstaaen er dog i begge Tilfælde det centrale. At Omdannelsen hos Bakterierne kun synes at fremkaldes af et bestemt Stof, og at den nye Evne er af saa stor Betydning for de paagældende Individuer, kan næppe berettige til af den Grund ikke at henhøre Fænomenet til Mutation, saalænge vi intet kender til de ægte Mutationers Aarsagsforhold. Man vilde da med lige saa stor Ret kunne tage det Forhold, at Omdannelsen hos Bakterierne saa let paavirkes af Livsvilkaarene, til Indtægt for ægte Mutation; thi det eneste, vi egentlig kender til Mutationernes Aarsagsforhold, er, at de oftest synes at optræde hos Individuer, der lever under gode Ernæringsvilkaar.

Hvorledes man imidlertid vil opfatte Bakteriemutationerne, er det for den almindelige Biologi en meget vigtig Kendsger-

ning, at vi ser Bakterier i Stand til, som det synes pludseligt, at erhverve en ny Egenskab og straks at kunne overføre denne til alle Efterkommere.

---

### Litteratur.

- 1) Neisser: Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. 38.
  - 2) Massini: Arch. f. Hygiene. Bd. 61.
  - 3) Burk: Archiv f. Hygiene. Bd. 65.
  - 4) Sauerbeck: Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale. Bd. 50.
  - 5) Reiner Müller: Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42.
  - 6) — — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale. Bd. 58.
  - 7) Burri: Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28.
  - 8) Kowalenko: Zeitschr. f. Hygiene. 66. Bd. 1910.
  - 9) Denmark: Deutsche med. Wochenschr. 1911.
-