

Uit het Hygiënisch-Bacteriologisch Laboratorium der Universiteit  
te Amsterdam. Directeur: Prof. Dr. R. H. SALTET.

## OVER DE BEWEGELIJKHEID VAN ANAEROBE BACTE- RIËN EN OVER EEN NIEUWE METHODE DEZE ZEER TE VERSTERKEN,

DOOR

Jonkvrouwe M. VAN RIEMSDIJK. *assistent.*

Wanneer men de „actieve” beweging in de natuur gadeslaat, dan treft het ons, dat hoe hooger het wezen georganiseerd is, des te samengestelder zijn bewegingen worden, des te grooter ook de *individueele bewegingsverscheidenheid*. De mensch, aan de spits staand, met zijn uiterst subtiele en fijne motiliteit, welke afhangt en geheel onder den invloed staat van zijn geestelijken aanleg, bezit deze *individueele* bewegingsverscheidenheid wel in de allerhoogste mate. Dalen wij af, dan zien wij, dat de bepaalde groepen van levende wezens ook „specifieke” bewegingen vertoonen, terwijl hoe lager men komt, des te eenvoudiger de bewegingsvormen worden, terwijl de individueele bewegingsverscheidenheid ook afneemt.

Bezien wij de ééncellige wezens te dien opzichte nader, dan heeft ook hier iedere groep haar typischen bewegingsvorm. Enkele voorbeelden ter toelichting bijv. uit de groep der Protozoen: de Amoebina met hun typische *amoëboïde* beweging; nooit zal men dezen bewegingsvorm verwarren met dien der *Flagellaten* (*Trypanosoma*, *Trichomonas*, enz.). Hoe geheel anders is deze wederom bij de Ciliaten (*Paramecium-Balantidium*, enz.).

Dalen wij af tot de allerlaagste groep der ééncelligen, nml. tot de bacteriën, dan zien wij hier dezelfde lijn. Worden hier de uitersten tegenover elkaar geplaatst, dan zou ik bijv. *Bac. Prodigiosus* willen noemen, met zijn uiterst zwakke eigen beweging — nauwelijks te onderscheiden van de beweging van BROWN — tegenover *Bac. Proteus*, die met zijn heftig schietende beweging ons dadelijk de vrijmoedigheid geeft daaruit reeds te besluiten met een *Proteus*-achtige te doen te hebben. De „vibrionen” (cholera, enz.) eveneens tot de sterke „eigen bewegers” behoorend, zullen met hun slangachtig kronkelende beweging echter nooit verwarring geven met het typische *Proteus*-beeld.

Ik zou kunnen voortgaan met voorbeelden; ieder, die het gebied der ééncelligen betreedt, is ten volle overtuigd van deze *groeps*-gewijze geordende bewegingsverscheidenheid. Wij weten, dat verschillende factoren op de actieve beweging der ééncelligen grooten invloed kunnen uitoefenen, met name: 1. ouderdom van de cellen; 2. temperatuur; 3. licht; 4. aard van den voedingsbodem, enz. Hoe het ook zij, al mag de beweging bij ééncelligen *groeps*-gewijze zeer verschillen, de individueele bewegingsverschillen in zoo'n

bepaalde groep zijn niet zoo heel groot; het geheele microscopische gezichtsveld geeft ons nagenoeg denzelfden bewegingsindruk.

Bij de bestudeering der Anaëroben (micro-aërophilen) trof mij echter als heel bijzonder, dat hier de *individueele* verschillen zoo heel groot waren; men kan hier als het ware alle bewegingsvormen in één gezichtsveld samen zien, van de meest acute-heftige beweging — tot volkomen bewegingloosheid toe — met daartusschen alle graden en vormen, een sterke „polymotiliteit” dus. Aangezien dit zich bij de andere bacteriën niet vertoonde, zelfs niet bij zeer groote exemplaren, en aangezien de natuur nooit „grillig” is, vroeg ik mijzelf af, of hier geen andere factoren in het spel konden zijn, welke deze bewegings-eigenaardigheid uitlokten. Dit zou dus niet een bewegingsvorm zijn gebonden aan het cellichaam als zoodanig, doch het gevolg van een minder normalen toestand. Het lag voor de hand hier aan de zuurstof te denken, te meer omdat de culturen van „schuin oppervlak” dit verschijnsel in hoogere mate vertoonden dan van vloeibaren bodem (lever-leverbouillon). De wijze, waarop het onderzoek naar de bewegelijkheid plaats vindt (hangende druppel), bewijst voldoende, dat in het kamertje steeds zuurstof aanwezig moet zijn.

Merkwaardig is het, dat men in geen der hand- of leerboeken een methode vindt voor de bestudeering der bewegelijkheid in een zuurstofvrij milieu. Men heeft dit niet noodig geacht, zich vergeenoegd met de enkele cellen, die zich levendig bewegen, de andere maar op den koop toenemend. Op deze wijze heeft de ontdekker der anaërobie echter nooit gearbeid; in „l'Etude sur la Bière”, waar de anaërobiontische boterzuurgisting door den grooten meester zoo prachtig wordt beschreven, staat reeds een afbeelding, hoe PASTEUR de bewegelijkheid van deze „Vibrions” bestudeerde, door middel van doorvoeren van een indifferent gas, gebruik makende van het CO<sub>2</sub> van de gisting zelve. De anaërobe levenswijze van dit organisme stond vast; het zou voor een onderzoeker als PASTEUR onlogisch geweest zijn een andere levensfunctie bij volle zuurstof te bestudeeren.

Nu is het doorvoeren van een gas door een microscopisch praeparaat geen eenvoudige zaak en wellicht alleen in handen van een PASTEUR met goed gevolg bekroond. Ik zocht daarom naar een methode, welke op eenvoudige wijze hetzelfde bereikte, nl. het in korten tijd verkrijgen van een zuurstof-vrijen „hangenden druppel”. Na eenig tobben kwam het volgende toestelletje tot stand, dat ik hier korthedshalve vluchtig zal beschrijven; voor een nauwkeurige detailbeschrijving verwijs ik naar mijn verhandeling in het *Zeitschrift für Hygiene und Infectiouskrankheiten*.

Midden op een voorwerpglas wordt een groote glasring, nadat deze in Natr. Silicat. *pur* (waterglas) gedoopt is, geplaatst. Een kleinere glasring wordt op dezelfde wijze midden in de groote glasringruimte geplaatst. Het geheel wordt bij 37° C. gedroogd of 24 uur bij kamertemperatuur. De ruimte tusschen grooten en kleinen glasring wordt door middel van gesmolten paraffine in een kleiner en grooter gedeelte gedeeld, waardoor een klein kamertje A ontstaat en een grooter kamertje B.

In kamertje A komen nu 3 dr. Acid. Pyrog. 22 pCt. (met 1 cM<sup>3</sup> pipet)  
in „ B 9 druppels KOH 10 pCt. met 1 cM<sup>3</sup> pipet.

De bovenrand van den grooten glasing wordt gelijkmatig bevochtigd met een laagje waterglas, en op een rein dekglas groot 24 x 24 m.M. wordt de hangende druppel spoedig vervaardigd, het dekglas omgekeerd op den glasing aangedrukt, zoodat de „hangende druppel” precies boven de kleine glasingruimte komt te hangen. Na eenige minuten is het dekglas volkomen aangedroogd (na te gaan door voorzichtig probeeren te verschuiven). Het Acid. Pyrogall. en de KOH worden nu voorzichtig bij elkaar geschud, totdat de kleur zwart-bruin is geworden. Het geheel komt nu voor 5 à 10 min. bij 37° C. Het toestelletje wordt onder het microscoop gelegd, het objectief juist gecentreerd op de heldere middenruimte; men arbeide met tamelijk sterk kunstlicht, de irisblende geheel open.

Na afloop van het onderzoek wordt het toestelletje geheel gedemonteerd, de ringen met schuurpapier schoongeschoord, opdat deze voor een volgend onderzoek wederom kunnen worden gebruikt.

De onlangs door mij beschreven Hydrophielgaas-Indicator 1) bewees, dat na ongeveer 10 minuten de zuurstof uit dit kamertje is verdwenen.

Op deze wijze nu werden een groot aantal typische Anaëroben op hun bewegelijkheid onderzocht, afkomstig van de schuine leveragar door mij beschreven, telkens een gewoon hangende druppel praeparaat (dus aëroob) ter controle en ter vergelijking erbij.

Onderstaande tabel spreekt eigenlijk reeds voor zichzelf.

„Aërobe”, Hangende druppel.	Bewegelijkheid.
Bac. Tetani .....	+
Bac. Botulinus I .....	+
Bac. Botulinis III .....	+
Bac. Oedematis maligni .....	+
Bac. Novy .....	+ + +
Bac. VON HIBLER .....	+
Bac. GHON SACHS .....	+
Bac. Saprogenes .....	+
Bac. Cadaveris sporogenes KLEIN.....	+
Bac. Phlegmones Emphysematosae .....	+
Bac. Butyricus (BEIJERINCK) .....	+ + +
Bac. Butyricus (GRASZBERGER en SCHATTENFROH)...	+ + +
„Anaerobe” Hangende druppel.	Bewegelijkheid.
Bac. Tetani .....	+ + +
Bac. Botulinus I .....	+ + +
Bac. Botulinus III .....	+ + +
Bac. Oedematis maligni .....	+ + +
Bac. Novy .....	+ + +
Bac. VON HIBLER .....	+ + +
Bac. GHON SACHS .....	+ + +
Bac. Saprogenes .....	+ + +
Bac. Cadaveris sporogenes KLEIN .....	+ + +
Bac. Phlegmonis Emphysematosae .....	+ + +
Bac. Butyricus (BEIJERINCK) .....	+
Bac. Butyricus (GRASZBERGER en SCHATTENFROH)...	+

1) M. VAN RIEMSDIJK, *Ned. tijdschr. voor geneeskunde*, 1ste Helft, no. 14, 1922,

Bij de meeste stammen werd de beweging door het anaërobiontisch milieu zeer versterkt; het groote individueele verschil in bewegingsintensiteit was nu ook zoo goed als verdwenen; de cellen vertoonden hetzelfde regelmatige bewegingsbeeld, dat de aëroben steeds te zien geven. Bac. Novy (een maligne oedeemsoort) schijnt zich echter van het al of niet aanwezig zijn van de zuurstof iets aan te trekken.

Toch moet nog op een zeer groote eigenaardigheid worden gewezen, die naar ik meen nog niet beschreven is, nl. dat Bac. Butyricus (BEYERINCK) en Bac. Butyricus (GRASZBERGER en SCHATTENFROH), de meest obligate onder de obligate-anaëroben, juist het omgekeerde beeld geven; zij bewegen zich met zuurstof oneindig beter dan zonder. Dit trof mij als een dusdanige merkwaardigheid, dat ik legio proeven deed, eer ik dit feit als juist heb durven aanvaarden, telkens de reinheid der culturen controleerend. De proef op de som was steeds, wanneer de cellen in het anaërobe toestelletje asphyctisch terneer lagen, het toetreden van lucht (door het wegschuiven van het dekglas) de cellen als het ware deed „bijkomen”; de beweging al sterker en sterker werd.

Hierdoet zich dus de merkwaardigheid voor, dat een gif (hier de zuurstof), hetwelk de groei van het organisme volkomen tegengaat, de beweging ervan *activeert*. Nu zijn er verscheidene voorbeelden in de literatuur bekend, dat giftige stoffen in niet te groote hoeveelheid op levensfuncties een prikkelenden invloed kunnen uitoefenen. Eenige voorbeelden ter verduidelijking: *Salvarsaan* in geringe concentratie verhoogt de bewegelijkheid der spirochaete *pallida*. *Arsenicum* prikkelt den miltvuurbacil tot het vormen van een kapsel (slijmomhulsel). RICHET vond, dat thalliumzouten de zuurvorming van melkzuurbacteriën zeer verhoogden. Bij Flagellaten werken *Narcotica* (alcohol-aether, enz.) mits in sterke verdunning, prikkelend op de beweging. Ook bij fermenten kan zich hetzelfde voordoen; zoo vond LAQUEUR, dat geringe concentratie chinine de werking van oxydase-katalase-pepsine versnelt.

Nog op een tweede merkwaardigheid, welke deze „bewegelijkheidsproeven” opnieuw aan het licht hebben gebracht, zou ik willen wijzen, nl. het groote individueele verschil, waarmede de celindividuen zich tegenover hun vergiften verhouden. De aërobe hangende druppel der anaërobe-bacillen bewijst dit voldoende; er zijn cellen, welke zich levendig bewegen, andere, welke reeds zeer spoedig afsterven. Deze zeer verschillende zuurstoftolerantie brengt m.i. eenig licht in de moeilijkheden, welke het kweken van anaëroben steeds met zich medebrengt. Duidelijk wordt nu ook de raad voor het nemen van *veel* materiaal voor de eigenlijke kweeking, nl. het verhoogden van het aantal zuurstof-resistente organismen, waardoor een overplanting alleen kans op slagen kan hebben.

Uit de voorafgaande proeven blijkt, dat het aanbeveling verdient niet alleen uit physiologisch, maar ook uit diagnostisch oogpunt, de bewegelijkheid der anaërobe-bacteriën in *zuurstofvrij milieu* na te gaan.