IV. Ueber Glycerin als Unterscheidungsmittel geformter und ungeformter Fermente.

Von

Dr. Carl Weigert,

I. Assistenten am patholog. Institute zu Breslau.

(Schluss aus No. 40.)

Diese Vorsichtsmassregel erwies sich als sehr nothwendig. Nicht jedes Heuinfus ist nämlich durch sechsständiges Kochen zu desinficiren. Meine ersten Versuche gelangen vollkommen mit dem benutzten Heuinfus. Als aber mein Heuvorrath zu Ende war, und ich (im Winter 76/77) anderes Heu benutzte, gelang es mir niemals die Desinfection zu erzielen. Ich habe viel Zeit vergeudet, um nach den Fehlerquellen

in meinen Versuchen zu forschen und ich konnte dieselben absolut nicht entdecken, bis ich mir denn klar wurde, dass manche Heusporien eben durch so langes Kochen nicht absterben. Tyndall hat inzwischen ähnliche, systematisch durchgeführte Beobachtungen veröffentlicht. Beim Fleischextract habe ich darüber nie zu klagen gehabt. —

In diese vorbereiteten Kölbchen wurden nun die Sporen hineingebracht. Ich benutzte den Sporenbodensatz (von Heuinfus resp. Fleischextract) mit einer geringen Menge der ursprünglichen Nährflüssigkeit. Diese wurde mit 1, 2 oder 3 Theilen reinen Glycerins vom spec. Gewicht 1,242 vermischt, durchgeschüttelt und mindestens 4 Tage in einem wohlverschlossenen Fläschchen stehen gelassen.

Um nun diese Sporen in die Kölbchen zu bringen, wurde die Flüssigkeit durch eine ausgeglühte unter Glycerin aufbewahrte Glasröhre zunächst in ein Porzellantiëgelchen gebracht, welches ebenfalls ausgeglüht oder mit Glycerin ausgekocht und dann bis zum Gebrauche unter Glycerin aufbewahrt war. Das Aufsaugen geschah in der letzten Zeit immer durch die Wasserluftpumpe mit Hilfe eines Gummischlauches. Alle metallene Instrumente, die bei diesen Vorrichtungen zur Anwendung kamen, waren selbstverständlich unmittelbar vorher ausgeglüht und unter Glycerin zum Gebrauche bereit gehalten.

Das Einsaugen der Sporenmasse in die Kölbchen selbst geschah durch den negativen Druck der in ihnen befindlichen Luft. Hierzu wurde der freie Schenkel der Capillare unter das Niveau der sporenhaltigen Glycerinmischung in das Schälchen gesenkt, die Spitze derselben mit einer Scheere abgeschnitten, so dass die Keime eintreten konnten. Noch während dieses Einströmens, lange ehe die Flüssigkeit bis zur Capillaröffnung herabgesunken war, wurde am Knickungswinkel des capillaren Halses die Röhre abgeschmolzen, so dass auch nicht die geringste Spur von Luft eintreten konnte. Dann wurden die Kölbchen in den Brütöfen zurückgebracht. Einige wurden der Controle wegen abgeschmolzen, ohne dass Sporen in sie hineingebracht waren, oder es wurde reines, ausgekochtes Glycerin, oder Luft hineingelassen.

Dabei ergab sich folgendes:

Nach 1—2 Tagen bildete sich nach Anwendung der Glycerinsporenmischung, wenn von dem sporenhaltigen Bodensatz etwas eingedrungen war, regelmässig eine Trübung und oft gleichzeitig oder an den folgenden Tagen sogar ein zartes Häutchen an der Oberfläche, das zähe war und am Glase adhärirte. Mikroskopisch fand man dann bewegliche oder unbewegliche Bacillen oder die zugehörigen Leptothrixfäden, niemals aber andere Bacterienformen. Ein Theil der Sporen blieb in der Flüssigkeit am Boden liegen.

Reines Glycerin liess die Flüssigkeit unverändert; diese blieb es auch wenn das Kölbchen ohne Zusatz abgeschmolzen war.

Luft machte bald Bacillen- resp. Bacterienwucherung, bald nicht.

Nicht ganz sicher waren auch die Resultate, wenn man aus der oberen Glycerinschicht, in welcher die Sporen nur vereinzelt schwammen, etwas einströmen liess.

Diese Thatsachen, die ich ein ganzes Jahr hindurch sehr oft constatirte, um Zufälligkeiten zu entgehen, lassen sich nach den Ansichten, die gegenwärtig über Organismenentwicklung bestehen, nicht anders erklären, als dass die eingebrachten Keime trotz des Glycerinzusatzes ihre Lebensfähigkeit beibehalten hatten. Mit der in den Kölbchen eingeschlossenen Flüssigkeit kam nichts in Berührung, was nicht vorher wohl desinficirt resp. längere Zeit mit Glycerin behandelt war. Selbst von der Aussenfläche der capillaren Kolbenhälse konnten Keime, die etwa nicht gehörig mit Glycerin in Beziehung getreten waren, nicht mitgerissen sein, da ja auch sie längere Zeit in dieser Flüssigkeit gewesen waren.

Dass aber nicht etwa die ursprünglich in der lange gekochten Nährflüssigkeit vorhandenen Keime die Erzeuger der neuen Bacillengenerationen waren, geht daraus hervor, dass diese ja unter den für ihre Wucherung günstigen Bedingungen ihrer chemischen Umgebung und der Temperatur sich nicht vermehrt hatten. Diese Unfähigkeit zur Fortpflanzung war nicht etwa dadurch bewirkt, dass die Flüssigkeit durch das Kochen zur Ernährung untauglich wurde, denn noch so lange gekochte Fleischextractlösung liefert bei Zusatz einer minimalen Menge vermehrungsfähiger Keime die reichste Bacterienbrut. Sie steht dadurch im schroffsten Gegensatz zu einer stark mit Glycerin versetzten, ja auch nicht faulenden Flüssigkeit: Zu dieser kann man Keime hinzufügen, so viel man will, sie entwickeln sich nicht weiter.

Es folgt also daraus, dass die ursprünglich in der Flüssigkeit vorhandenen Keime durch das lange Kochen zerstört werden. Dass aber von der eingeführten Masse nur die Sporen, die also durch Glycerin nicht getödtet sein konnten, das zur Bacterienentwicklung geeignete Material abgaben, wird für jeden, der nicht an eine Generatio aequivoca glaubt, anzunehmen sein. Im Uebrigen lieferten auch die negativen Resultate des einfachen Glycerinzusatzes, ja das häufige Fehlschlagen beim Hinzufügen der sporenen oberen Flüssigkeitsschichten den Beweis, dass hier die chemische Veränderung

der ursprünglichen Nährflüssigkeit, die wir durch den Zusatz der Glycerinmischung bewirken, nicht die Ursache für die Bacillenentwicklung sein konnte.

Dass ein Theil der Sporen unentwickelt zu Boden sank, wird wohl am einfachsten so erklärt werden können, dass bei einer überreichlichen Zufuhr von solchen unter den immerhin nicht günstigen Ernährungsverhältnissen eben nur ein Theil zur Keimung gelangte und die Nahrung für seine Abkömmlinge in Anspruch nahm. —

Wie lange die Sporen ihre Keimfähigkeit behalten, kann ich nicht sagen. Vier Wochen lang bewahren sie dieselbe jedenfalls — das ist gewiss ein Zeitraum, in welchem etwaige „schädliche Einflüsse“ sich schon genügend geltend gemacht haben könnten.

Wenn demnach das Glycerin in den bei der Vaccinelymphe angewendeten Mischungsverhältnissen auch nur eine einzige Art von Bacterienkeimen zur Weiterentwicklung in einer geeigneten Nährflüssigkeit fähig erhält, so folgt daraus, dass dieses Reagens nicht verwendbar ist, um unter den oben erwähnten Umständen als Unterscheidungs-mittel geformter und ungeformter Fermente zu dienen. Wenn auch nur die entfernteste Möglichkeit vorliegt, dass die Fermentwirkung an ähnlich resistente Keime gebunden ist, so ist auch die Möglichkeit vorhanden, dass diese in Glycerin ihre Entwicklungsfähigkeit behalten. Diese Möglichkeit ist aber bei all den supponirten resp. noch nicht genau bekannten Infectionsorganismen vorhanden, und so müssen wir dann darauf verzichten, auf diese Weise zur Entscheidung über die schwebenden Fragen zu gelangen — vielleicht gelingt eine solche, bisher noch nicht vorhandene, auf anderen Wegen.

Es war nun interessant zu erfahren, wie denn das einzig bisher bekannte infectiöse Agens, dessen Sporen dargestellt sind, die Milzbrandbacillen, sich verhielten. Da ich selbst über ein derartiges Material nicht verfügte, so wandte ich mich an Herrn Kreisphysikus Koch in Wollstein und bat ihn in dieser Beziehung Versuche anzustellen. Er hatte die Freundlichkeit meine Bitte zu erfüllen und theilt mir dann mit, dass das Glycerin in den bei der Vaccinelymphe angewandten Concentrationen die Wirkung der Sporen nicht hindere, höchstens verlangsamt.

Damit scheint mir der Versuch in dem Glycerin ein sicheres Mittel zu sehen um alle Organismen bei einer Fermentirung unwirksam zu machen, nicht mehr haltbar zu sein. Ich begnüge mich vorläufig mit der Besprechung meiner eigenen Erfahrungen und der Erwähnung von Herrn Koch's Mittheilung, behalte mir aber vor nöthigen Falls eine kritische Besprechung im entgegengesetzten Sinne erfolgter Publikationen folgen zu lassen.

Berichtigung.

Am Schlusse des ersten Satzes dieses Aufsatzes (in No. 40) ist hinzuzufügen: „anscheinend ohne sich wesentlich chemisch zu verändern“.