

Zur Frage der Choleraelektivnährböden.

Von Prof. Dr. P. Esch, Oberarzt der Universitäts-Frauenklinik in Marburg.

Dieudonné gebührt unbestreitbar das große Verdienst, zuerst die Aufgabe gelöst zu haben, einen Choleranährboden zu finden, dem rückhaltlos die Bezeichnung „elektiv“ zuzuerkennen ist. Dem Dieudonné'schen Blutalkaliagar haftet allerdings der Nachteil an, daß die Platten erst einige Zeit nach dem Ausgießen gebrauchsfähig sind, weil bei sofortiger Verwendung jedes Bakterienwachstum unterdrückt wird. Er kann deshalb für die Diagnosenstellung „des ersten Falles von Cholera“ kaum in Frage kommen. Auch ist frisches Rinderblut, das zur Bereitung des Nährbodens erforderlich ist, nicht immer und nicht überall zu beschaffen.

Als Assistent von Geheimrat Loeffler habe ich seinerzeit auf seine Anregung hin, wie andere Autoren, vielfache Versuche angestellt, um durch eine Modifikation des Blutalkaliagars diese Nachteile auszuschalten¹⁾. Das Ziel wurde schließlich dadurch erreicht, daß das defibrinierte Rinderblut durch käufliches Pferdehämoglobin, welches von Merck (Darmstadt) bezogen wurde, ersetzt wurde.

Als Optimum des Nährbodens ergab sich, wenn ich 5 g Hämoglobin in 15 ccm Normalnatronlauge + 15 ccm Aqua destillata auflöste und von diesem Gemisch 15 ccm zu 85 ccm Neutralagar zusetzte. Nach Ausgießen dieses Nährbodens in Platten können diese sofort nach dem Abtrocknen verwendet werden. Dabei bietet dieser Hämoglobin-Natronagar für das Wachstum der Cholera-vibrien ein ebenso günstiges Nährsubstrat wie der Dieudonné'sche Blutalkaliagar, er hemmt allerdings nach meinen Erfahrungen die konkomitierenden Stuhl Bakterien nicht in so hohem Maße wie dieser. Jedoch blieb das Wachstum dieser Bakterien, selbst beim Vorhandensein des *Bacillus pyocyaneus*, der ebenfalls ja eine besonders hohe Alkalitoleranz aufweist, stets soweit zurück, daß es nie störend bei der Isolierung der daneben üppig wuchernden Cholerakolonien wirkte. Außerdem beseitigt diese Modifikation den zweiten Nachteil des Dieudonné-Agars, weil das Hämoglobin stets vorrätig gehalten werden kann.

Eine ausgiebige Nachprüfung meines Ersatznährbodens wurde im Flüggeschen Institut von Friedrichs²⁾ vorgenommen, um die Frage zu beantworten, ob der Nährboden für die amtliche Anleitung zur Choleradiagnose empfohlen werden könne.

Der genannte Autor stellte unter anderem Vergleichsversuche mit dem Dieudonné'schen Originalagar und mit dem Hämoglobin-Natronagar an. Neben anderen Versuchen setzte er zu diesem Zwecke Aufschwemmungen von Stuhl geringen Mengen von Cholera- und *Pyocyaneus*kultur zu; hiervon wurde je eine Oese mit Drigalskispatel auf je drei Platten der beiden Nährböden verrieben (die Platten des Dieudonné'schen Agars waren der Vorschrift entsprechend 24 Stunden alt, die des Hämoglobin-Natronagars wurden dagegen unmittelbar nach dem Erstarren besät). Nach 24stündigem Aufenthalt im 37°-Brutschrank zeigte sich folgendes Ergebnis:

1. „Nährboden nach Dieudonné: Die erste Platte enthält 13 erkennbare Cholerakolonien zwischen reichlich kleineren *Pyocyaneus*- und Kokkenkolonien, die weniger zahlreichen Kolonien von *Bacterium coli* sind gelblich-grau und ebenfalls leicht kenntlich.“

2. „Nährboden nach Esch: Die erste Platte zeigt 37 sofort erkennbare Cholerakolonien, im übrigen das Wachstum wie auf dem Dieudonné'schen Agar.“

Die sämtlichen fünf verschiedenen Cholerastämme des Institutes zeigten das gleiche Wachstum und Verhalten auf beiden Nährböden.

Vibrio finkleri und *Vibrio metschnikoffi* wuchsen auf beiden Nährböden in der für Cholera charakteristischen Art als wasserhelle, tröpfchenartige Kolonien. Wohl schienen die Kolonien dieser Vibrionen durchweg etwas kleiner zu sein als die der Cholera. Desgleichen entwickelten sich Typhusbazillen auf beiden Nährsubstraten als ganz feine, durchsichtige, wasserhelle Kolonien, während das *Bacterium coli* größere, trübe Kolonien bildete.

In Anbetracht der schon erwähnten Vorzüge des Hämoglobin-Natronagars gegenüber dem Dieudonné'schen Original-

agar kommt Friedrichs zu dem Schluß: „Der Hämoglobinagar nach Esch ist als elektiver Nährboden für Cholera den bisher gebräuchlichen Nährböden bei weitem überlegen.“

Dieudonné und Baerthlein¹⁾ berichten nun neuerdings, daß hinsichtlich der entwicklungshemmenden Eigenschaft gegenüber anderen Stuhlbakterien die mit Faeces darmlanker und gesunder Menschen beimpften Platten beim Dieudonné'schen Agar in 50–60 % und beim Esch'schen Agar in 5,7 % steril blieben. Diese Beobachtung deckt sich nicht mit den Untersuchungen von Friedrichs und mit meinen Erfahrungen. Friedrichs berichtet überhaupt über keine Unterschiede bezüglich der Elektivität zwischen den beiden Nährböden, und ich konnte nur geringe, belanglose Unterschiede feststellen.

Diese Differenz in den Versuchsergebnissen läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß der Hämoglobin-Natronagar in den Versuchen, auf die Dieudonné und Baerthlein fußen, nicht der Vorschrift entsprechend behandelt wurde. Die beiden Autoren geben nämlich an, daß dieser Nährboden, in Platten gegossen, nach kurzer Trocknung im Brutofen bei 60° verwendungsfähig sei. Bei meinen eigenen und den Friedrichs'schen Untersuchungen wurden die Platten aber nicht im 60°-Brutschrank, sondern bei Zimmertemperatur getrocknet. Genau wie der jedes Bakterienwachstum unterdrückende, noch unbekannte Faktor des frischen Dieudonné'schen Originalagars durch die Einwirkung des 60°-Brutschranks so weit gemildert wird, daß er dann nur mehr das Wachstum elektiv hemmt, ist es möglich, daß die optimale hemmende Eigenschaft des Hämoglobin-Natronagars durch den Aufenthalt im 60°-Brutofen allzusehr herabgesetzt wird. Desgleichen ließe sich eine weitere Differenz der Versuchsergebnisse durch diese Ungleichheit der Versuchsbedingungen erklären. Dieudonné und Baerthlein fanden, daß choleraähnliche Vibrionen auf dem Esch'schen Agar ebenso gut wie echte Cholera wuchsen, während sie auf dem Dieudonné'schen Originalnährboden spärlicher gediehen, was Friedrichs bei seinen Untersuchungen nicht feststellte.

Ausschließlich auf Grund ihrer Versuche ohne Berücksichtigung der Friedrichs'schen Nachprüfung kommen Dieudonné und Baerthlein deshalb zu dem Schluß, daß sich der Dieudonné'sche Originalagar am zuverlässigsten und besten bewährt habe. In Anbetracht der Tatsache, daß er nicht sofort, sondern erst etwa 18 Stunden nach dem Gießen der Platten gebrauchsfähig sei, empfehlen sie, für die Choleradiagnose bei den ersten verdächtigen Fällen zunächst eine der verschiedenen Modifikationen dieses Nährbodens zu benutzen, unter denen vor allen der getrocknete Dieudonné'sche Originalagar, aber auch die Modifikation nach Pilon und Esch als geeignet erscheinen. Für die Untersuchung der weiteren Fälle wäre indessen der Dieudonné'sche Originalnährboden angezeigt.

Mit dieser Anweisung für die Praxis kann ich nicht vollständig übereinstimmen, weil meine Modifikation vor dem getrockneten Dieudonné'schen Originalagar und dem Nährboden nach Pilon folgende Vorteile hat. Der nach Hoffmann und Kutscher getrocknete Blutalkaliagar bedarf vor seiner Verwendung einer Trocknung im Brutschrank bei 60°, ein Erfordernis, dem nur vereinzelte bakteriologische Laboratorien zu jeder Zeit gerecht werden können, während der Hämoglobin-Natronagar von dieser Vorbedingung unabhängig ist, weil er sofort nach dem Erstarren und Trockenwerden bei Zimmertemperatur benutzt werden kann. Dem Pilon'schen Nährboden haftet der Nachteil an, daß zu seiner Herstellung defibriniertes Schweineblut erforderlich ist, was nicht immer und nicht überall sofort zu beschaffen ist, während das zur Bereitung meines Nährbodens benutzte Hämoglobin, das die Aufbewahrung gut verträgt, stets vorrätig gehalten werden kann. Ferner sind die Pilon'schen Platten undurchsichtig, während meine durchscheinend sind. Außerdem muß bei einer Empfehlung der verschiedenen Modifi-

¹⁾ Diese Wochenschrift 1910, Nr. 12. — ²⁾ ebenda 1911, Nr. 4.

¹⁾ Münchener medizinische Wochenschrift 1912, Nr. 32.

kationen für die Diagnose des ersten verdächtigen Falles zugunsten des Hämoglobin-Natronagars ins Gewicht fallen, daß meine Versuchsergebnisse — abgesehen von den Nachprüfungen durch Dieudonné und Baerthlein, die keineswegs ungünstig ausgefallen sind — auch noch durch Friedrichs in ausgiebiger Weise nachgeprüft und vollauf bestätigt worden sind, während die anderen von Dieudonné empfohlenen Modifikationen meines Wissens von keiner anderen Seite eine Nachprüfung erfahren haben.

In Anbetracht der Empfehlung von Dieudonné und Baerthlein, bei der Untersuchung von weiteren verdächtigen Fällen den Dieudonné'schen Originalagar zu verwenden, möchte ich auf zwei andere Modifikationen dieses Nährbodens, die ich seinerzeit bei meinen Versuchen fand und die sich mir für die Isolierung der Vibrionen bewährten, nochmals bei dieser Gelegenheit aufmerksam machen, obgleich ich mich allerdings einstweilen nicht veranlaßt sehe, mich dieser Empfehlung im Hinblick auf meine eigenen und die Friedrichs'schen Versuchsergebnisse anzuschließen. Sie stellen wiederum einen Ersatz des Rinderblutes dar und kämen praktisch nur in Frage, wenn Rinderblut im gegebenen Falle nicht sofort zu beschaffen wäre. Ich löste in einem Aluminiumtopfe unter Erhitzen und beständigem Umrühren je ein Pfund mageres, zerkleinertes Rindfleisch oder in Würfel geschnittenes Hechtfleisch in verschiedenen Mengen von Normalnatronlauge auf. Die Auflösung erfolgte bei genügendem Zusatze von Natronlauge in 10—15 Minuten. Nach dem Erkalten wurde die Lösung durch ein feines Tuchsieb filtriert, um sie von geronnenem Fett, von Bindegewebsfasern bzw. Gräten zu reinigen. Hiernach wurde die Lösung eine Stunde lang im strömenden Dampfe sterilisiert und dann dem Neutralagar zugesetzt. Das Optimum dieser Fleisch-Natronnährböden erhielt ich, wenn ich je 500 g Fleisch in 250 cem Normalnatronlauge löste und diese Lösung mit Neutralagar im Verhältnis 3 : 7 mischte. Wurden solche Fleischnatronagar-Platten und Dieudonné'sche Platten, die beide eine halbe Stunde bei 60° abgetrocknet waren und danach 24 Stunden bei Zimmertemperatur offen gestanden hatten, mit gleichen Mengen Cholera-Pyocyaneus-Stuhl nebeneinander besät, so zeigte sich, daß die ersteren mit den letzteren konkurrieren konnten; es wuchsen zwar im allgemeinen etwas weniger (charakteristische) Cholera-kolonien auf ihnen, dafür wurde aber auch die Entwicklung des Pyocyaneus stärker zurückgehalten, sodaß die Platten außerordentlich sauber aussahen.

Bei Beurteilung dieser vergleichenden Versuche muß man den Schluß ziehen, daß eine allzugroße entwicklungshemmende Eigenschaft eines Nährbodens gegenüber den konkumitierenden Bakterien sich auch auf das Wachstum der Choleravibrionen geltend macht, sodaß dann der Vorteil der Elektivität hinsichtlich der Sicherheit der Choleradiagnose eine Einbuße erleidet. Der springende Punkt der Elektivität besteht eben darin, daß die anderen Bakterien soweit im Wachstum zurückgehalten werden, daß sie bei der Isolierung der Choleravibrionen nicht stören, und daß anderseits die Entwicklung der Cholerakolonien selbst nicht gehemmt wird.

Schluß. Nach wie vor bin ich der Ueberzeugung, daß der von mir angegebene Hämoglobin-Natronagar für die Diagnose des ersten Cholerafalles bei weitem der zweckmäßigste ist, daß er auch für die Isolierung der Vibrionen aus weiteren Fällen mit dem Dieudonné'schen Blutalkaliagar und dessen sonstigen Modifikationen konkurrieren kann und daß er ferner hinsichtlich der Einfachheit und Schnelligkeit seiner Zubereitung bzw. seiner Vorbehandlung bis zur Verwendungsfähigkeit alle anderen Nährböden übertrifft.