III. Zum mikroskopischen Nachweis von Cholera-bacillen in Dejectionen¹⁾.

Von Professor Dr. Max Schottelius.

In einer vor kurzem erschienenen Abhandlung „Ueber den augenblicklichen Stand der bacteriologischen Cholera-diagnose“²⁾ beschreibt R. Koch ein von mir im Jahre 1885 veröffentlichtes Verfahren zum Nachweis von Cholera-bacillen in Dejectionen³⁾ und weist der betreffenden Methode eine so hervorragende Bedeutung für die bacteriologische Diagnose der Cholera zu, dass mancher, der nicht sehr genau mit den einschlägigen Untersuchungsverhältnissen vertraut ist, dazu verführt werden könnte, von dem Ausfall dieser Art der bacteriologischen Untersuchung sein Urtheil vom Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Cholera abhängig zu machen.

Um einer Ueberschätzung der Tragweite der von mir eingeführten Untersuchungsmethode bei einer vielleicht schon in nächster Zeit uns drohenden Cholera-gefahr vorzubeugen, sehe ich mich nach dem Erscheinen der Koch'schen Arbeit schon jetzt veranlasst, einige weitere Angaben über die im Laufe der letzten Jahre eingetretenen Verbesserungen meiner Methode zu machen, Verbesserungen, welche theils auf Grund theoretischer, wissenschaftlicher Arbeiten im Laboratorium, andernteils während der letzten Cholera-epidemie im Eppendorfer Krankenhause zu Hamburg auf Grund praktischer Erfahrungen aufgesucht und geprüft wurden.

Es würde mir lieb gewesen sein, wenn ich mit dieser Veröffentlichung noch einige Zeit hätte zurückhalten können, denn auch heute erscheint mir die Methode noch nicht nach allen Richtungen hin genügend durchgearbeitet zu sein, um von Jedermann in praxi nutzbringend gehandhabt werden zu können. Inzwischen wird durch die Koch'sche Abhandlung der klare Einblick in die wissenschaftliche Bedeutung und in die historische Entwicklung der Frage des Nachweises von Cholera-bacillen in Dejectionen derart getrübt, dass ich es für meine Pflicht halte, schon jetzt in dieser Angelegenheit das Wort zu ergreifen.

Der Bericht, in welchem Koch zuerst auf das Vorhandensein von kommaförmigen specifischen Bacillen in den Dejectionen Cholera-kranker hinweist⁴⁾, datirt vom 2. Februar 1884. Zum Nachweise dieser in Dejectionen befindlichen Kommabacillen wurde neben der direkten mikroskopischen Untersuchung bekanntlich das Koch'sche Gelatineplattenverfahren empfohlen und in der nächsten Zeit ausschliesslich angewandt.

Im Herbst desselben Jahres sah ich mich während meiner zum Zwecke von Cholera-studien angestellten Reise nach Oberitalien unter dem Zwange äusserer Verhältnisse genöthigt, ein einfacheres Verfahren zu ersinnen, um die Cholera-bacillen in Dejectionen rasch nachzuweisen. Die Handhabe zur Entdeckung des neuen Verfahrens gab mir Pasteur's vielfach hervorgehobene Behauptung, dass feste Nährböden im ganzen ein Wachsthumshinderniss darstellen, und dass ein flüssiger Nährboden dem raschen Wachsthum von Spaltpilzen im grossen und ganzen bessere Bedingungen bietet. Des weiteren war durch die Koch'schen Untersuchungen die lebhafte Eigenbewegung der Cholera-bacillen und ihr intensives Bedürfniss nach freiem atmosphärischem Sauerstoff bekannt. Ebenfalls war bereits festgestellt, dass das Optimum für das Wachsthum von Cholera-bacillen etwa in der Höhe der Körpertemperatur liegt. Durch Combination dieser Factoren ergab sich dann das von mir in der Deutschen medicinischen Wochenschrift No. 14 vom 2. April 1885 veröffentlichte Verfahren, welches inzwischen vielfach nachgeprüft und praktisch brauchbar befunden ist⁵⁾.

Im Laufe der folgenden Jahre wurde namentlich von Gruber⁶⁾ eine Modification meines Verfahrens als Verbesserung empfohlen, und es findet sich seitdem die betreffende Untersuchungsmethode in der Litteratur vielfach unter dem Namen der Schottelius-Gruber'schen oder Gruber-Schottelius'schen Methode angeführt.

Wieso R. Koch auf p. 323 seiner oben erwähnten Abhandlung „Ueber den augenblicklichen Stand der Cholera-diagnose“ zu der Behauptung kommen kann, dass es „sich nicht immer mit Bestimmtheit sagen lässt, wem wir die Verbesserung des Verfahrens zur Abkürzung desselben zu verdanken haben“ — und dass „jene Verbesserungen bisher entweder gar nicht oder ungenügend bekannt geworden sind“ — das ist mir sowie vielen anderen — unverständlich.

¹⁾ Nach einem Vortrage, gehalten bei Gelegenheit des XIV. Ober-rheinischen Aerztetages in Freiburg i. B.

²⁾ Zeitschrift für Hygiene XIV 2, p. 319 ff.

³⁾ Deutsche medicin. Wochenschr. 1885 No. 14, p. 213.

⁴⁾ Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt III 1887, Anlage 2, p. 23.

⁵⁾ di Vestea, Sulla bontà di metodo Schottelius etc. Giornale internazionale del Scienze medic. 1887.

⁶⁾ Wiener medicin. Wochenschrift 1887 No. 7 u. 8.

Was die Gruber'sche Verbesserung meiner Methode betrifft, welche den Zweck hatte, durch die Stoffwechselproducte der Cholera-bacillen das gleichzeitige Wachsthum anderer Bakterien zurückzudrängen, und welche zu den Culturversuchen Proberöhrchen benutzte, so möchte ich nicht ohne weiteres diese Modification als eine Verbesserung zugeben, namentlich haben mir grosse und weite Gefässe in einem grösseren Procentsatz *ceteris paribus* positive Erfolge geliefert, als Proberöhrchen selbst bei Schräglage derselben. An Stelle der choleradurchwachsenen Peptonbouillon kann ebenfalls nach meinen Erfahrungen ohne Schädigung der Resultate jede andere, die nöthigen Nährwerthe enthaltende und bis zu 1 % durch Soda alkalisch gemachte Bouillon treten. Inzwischen scheint auch mir Gruber's Gedanke, die Stoffwechselproducte der Cholera-bacillen als Wachsthumshemmnisse für andere Bakterien zu verwerthen, ein äusserst glücklicher zu sein, und wird gewiss in einer oder anderer Form demnächst seine praktische Verwerthung finden.

Weiter machte die Untersuchung verdächtiger Dejectionen auf den Nachweis von Cholera-bacillen einen wesentlichen Fortschritt durch die zuerst von M. Dahmen¹⁾ gegebene Mittheilung, dass „eine Gelatine mit 1 % Soda“ die Lebensfähigkeit von Kommabacillen am intensivsten entfacht.

Die Richtigkeit dieser Angabe kann ich auf Grund einer grossen Reihe mit künstlichen Culturen angestellter und praktischer (mit den Dejectionen von Cholera-kranken direkt vorgenommener) Versuche bestätigen.

Ich selbst hatte den Grad der Alkalescenzen niemals in den Bereich meiner Experimente gezogen, sondern nur nach verschiedenen anderen, weiter unten zu beschreibenden Richtungen hin die äusseren Lebensbedingungen der Kommabacillen variiert, und war in hohem Grade erstaunt und freudig überrascht, in dieser von M. Dahmen zuerst angegebenen Modification des Nährbodens einen so mächtigen Factor für die rasche Entwicklung der Kommabacillen zu finden.

In einem späteren Stadium der Untersuchung, d. h. wenn es zu reichlicher Entwicklung von Cholera-bacillen bereits gekommen ist und diese demnach durch die mikroskopische Untersuchung nachgewiesen werden können, kann die sogenannte Cholera-roth-reaction zur weiteren Sicherstellung verwandt werden. Dieselbe wurde zuerst von O. Bujwid beschrieben im zweiten Bande der Zeitschrift für Hygiene 1887, p. 52, und nicht, wie Koch²⁾ meint, von Dr. Edward K. Dunham, welcher zwar in demselben Jahrgang der Zeitschrift für Hygiene, aber erst zu einer späteren Zeit seine Abhandlung „Zur chemischen Reaction der Cholera-bakterien“ niederlegte. Dunham selbst bezieht sich eingangs seiner Arbeit auf die Angaben von Bujwid, und es kann sonach kein Zweifel bestehen, wem das Prioritätsrecht der Entdeckung dieser Reaction zu wahren ist.

Was die von Koch citirte Arbeit von Hesse betrifft, an welcher „so überzeugend das sehr hohe Sauerstoffbedürfniss der Cholera-bakterien“ nachgewiesen wurde, so hat schon Bonhoff³⁾ darauf aufmerksam gemacht, dass über ein hohes Sauerstoffbedürfniss der Cholera-bakterien sich in dieser Arbeit überhaupt keine Angabe findet; es muss da also wohl irgend eine Verwechslung von Seiten Koch's vorliegen.

Wenn ich mir gestattet habe, einen kurzen Rückblick auf die geschichtliche Entwicklung der Methoden des Nachweises von Kommabacillen in Dejectionen zu geben, so geschah es, um zu zeigen, dass die ursprüngliche Methode der Cultivirung in „alkalischer Fleischbrühe“ oder „zehnfach verdünnter Fleischpepton-gelatine“⁴⁾ noch heute im Princip zu Recht besteht, und dass die litterarische Beurtheilung dieser Frage an der Hand unserer allgemein zugänglichen Fachzeitschriften jedem leicht ermöglicht ist.

Dass mir selbst daran gelegen sein musste, eine weitere Vervollkommnung meiner Methode, deren Mängel mir am wenigsten unklar waren, anzustreben, ist wohl verständlich, und so war mir namentlich die von Dahmen gemachte Angabe über das Optimum des Alkalescenzen der Nährböden für Cholera-bacillen von hohem Werthe. In der That liess eine Reihe von Fällen, in denen es sich um die Isolirung von Cholera-bacillen aus Bacteriengemischen handelte, positive Untersuchungsergebnisse erzielen, welche bei der geringeren Alkalescenzen der früher benutzten Nährböden ausgeblieben waren. Aber auch noch über eine andere Modification meiner Methode, welche seit längerer Zeit sich mir bewährt hat und wohl noch einer weiteren Vervollkommnung fähig ist, möchte ich bei dieser Gelegenheit berichten.

Bereits seit einigen Jahren wird am hygienischen Institut zu

Freiburg mit Infusen von menschlichem und thierischem Dünndarm-inhalt als Nährboden für Bakterien gearbeitet, und es hat sich gezeigt, dass derartige Dünndarminfus für viele Zwecke einen sehr geeigneten Nährboden darstellt.

Bekanntlich hat bereits Leubuscher¹⁾ über den Einfluss von Verdauungssecreten auf Bakterien gearbeitet und im allgemeinen gefunden, dass in den keimfrei entnommenen Darmsäften namentlich Cholera- und Typhusbacillen sich im allgemeinen gut entwickeln, dass die Fermente verdauender Natur keinen Einfluss auf die lebenden Organismen haben, und dass nur den freien Gallensäuren eine antimykotische Kraft zukommt.

Bei den von mir in Anwendung gebrachten Dünndarminfusen wünschte ich den verschiedenen hierhergehörigen Spalt-pilzen einen ihren für den Menschen in Betracht kommenden Lebens-äusserungen möglichst gut angepassten Nährboden zu verschaffen resp. die gleichen Bedingungen zu setzen, unter denen sie in der für den Menschen praktisch bedeutungsvollen Form und Menge auftreten.

Da ich für meine Zwecke eines sterilen Nährbodens nicht bedarf, indem es sich überhaupt nur um das Herauswachsen einer Art aus einem Bacteriengemisch handelt, so konnte die Methode der Gewinnung des Rohmaterials sich sehr einfach gestalten: Am besten eignen sich ganz frische menschliche Leichen von Personen, welche nachweislich nicht an Krankheiten des Tractus intestinalis zur Behandlung kamen. Diesen wird ein ungefähr 1 m langes Stück des Jejunum und oberen Ileum entnommen, und der breiige Inhalt desselben durch Ausstreichen in ein geeignetes Gefäss entleert. Gewöhnlich erhält man ungefähr 200 cem Darminhalt.

Diese Portion wird durch Wasserzusatz auf einen Liter gebracht, mit Soda soweit alkalisirt, dass eine 1 %ige Lösung entsteht, filtrirt und womöglich sofort benutzt.

Die filtrirte Flüssigkeit ist meistens weissgrau, milchig getrübt und enthält spärliche, mikroskopisch nachweisbare Darm-bakterien.

Dünndarminfuse, welche stark gallig gefärbt sind und klar filtriren, eignen sich weniger gut für unsere Zwecke als solche mit den erwähnten Eigenschaften.

Die Haltbarkeit dieser Darminfusnährböden ist natürlich eine zeitlich sehr begrenzte. Inzwischen kann man durch Anwendung niederer Temperatur die Infuse ganz gut 10–14 Tage in brauchbarem Zustande conserviren.

Ich hatte das Darminfus ursprünglich für Versuche mit Typhusbacillen und dem Bacterium coli commune hergestellt und zuerst von Jenniczewski in einer demnächst erscheinenden Abhandlung über einen Fall von Uebertragung des Thyphus auf den Fötus anwenden lassen, und bin erst im vorigen Sommer kurz vor Ausbruch der Hamburger Choleraepidemie dazu übergegangen, Darminfus auch als Nährboden für Cholera-bacillen, speciell zur Vervollkommnung meiner Methode zum Nachweis von Cholera-bacillen in Dejectionen zu verwerthen.

Dabei hat sich gezeigt, dass solches Darminfus in ganz hervorragender Weise das Wachsthum der Cholera-bacillen unterstützt, so dass selbst in Fällen, in denen die alte — neuerdings von Koch so warm empfohlene — Methode nicht ausreicht, noch positive Resultate erzielt werden. Die Cholera-bacillen „reichern sich“ (um mich dieses von Koch neu eingeführten Wortes zu bedienen) schneller an, als auf irgend einem anderen Nährboden, und der Ausdruck der „Anreicherung“ ist auch insofern ein modificirter, als gegenüber der Pepton-cultur schon früher charakteristische Spirillen auftreten, welche in Bündel mit einander verflochten ein höchst auffallendes mikroskopisches Bild darbieten.

An Stelle des menschlichen Dünndarminfuses lässt sich mit ähnlich gutem Erfolg auch Dünndarminfus frisch geschlachteter Schweine verwenden; es bietet sich dadurch die Möglichkeit, überall diesen Nährboden zum Nachweis von Cholera-bacillen in Dejectionen in Anwendung zu bringen.

Bei allen Vorzügen aber, welche die alte Methode und mehr noch die neue vor der alten hat, muss vor einer Ueberschätzung derselben gewarnt und dringend darauf hingewiesen werden, dass nur ein gewisser Procentsatz der zur praktischen Beurtheilung kommenden Fälle positiv reagirt, dass aber in einem anderen gewissen Procentsatz entweder gar nicht oder erst nach einigen (2–3) Tagen Cholera-bacillen an der Oberfläche des Nährbodens auftreten. Mit anderen Worten: diese Methode hat mit vielen anderen Untersuchungsmethoden das gemeinsame, dass sie nur eine relative, nicht aber eine absolute Gewähr bietet.

Vielleicht lassen sich noch weitere Verbesserungen ausfindig machen oder andere einfache Wege zur Sicherung der Cholera-diagnose ersinnen, vorläufig muss ich mich aber der Ansicht derjenigen anschliessen, welche der Meinung sind, dass unsere

¹⁾ Centralbl. f. Bacteriol. XII. No. 18, p. 620.

²⁾ l. c. p. 326.

³⁾ Berl. klin. Wochenschrift 1893 No. 24.

⁴⁾ Deutsche med. Wochenschrift 1885 No. 14.

¹⁾ Zeitschrift für klin. Medicin 1890, XVII, Heft V.

heutigen Mittel durchaus nicht in allen Fällen nach Ablauf der ersten 24 Stunden durch die bacteriologische Untersuchung die Choleradiagnose sichern.

Immerhin dürfte das beschriebene Verfahren einen brauchbaren und in den meisten Fällen zum Ziel führenden Weg darstellen, rasch die Cholerabacillen in verdächtigen Dejectionen nachzuweisen; um so mehr, als es ja gegenwärtig doch eine grosse Reihe tüchtig ausgebildeter Aerzte giebt, welche nicht nur mit der mikroskopischen Technik, sondern auch mit den praktisch wichtigen bacteriologischen Untersuchungsmethoden erfolgreich zu arbeiten wissen.

Schliesslich möchte ich noch auf einen Punkt aufmerksam machen, welcher zu falschen Schlussfolgerungen führen könnte:

Es werden vielfach, und zwar mit voller wissenschaftlicher Berechtigung, zur Förderung der in Rede stehenden Fragen künstlich gezüchtete Cholerabacillenculturen angewandt, und man ist leicht geneigt, die sich ergebenden Resultate wenigstens mittelbar auf die Praxis zu übertragen. Demgegenüber muss hervorgehoben werden, dass die Versuche mit wirklichen, direkt dem Kranken entnommenen frischen Choleradejectionen vielfach anders verlaufen, als man nach den angedeuteten Laboratoriumsversuchen erwarten sollte.

Man hat jedenfalls mehr Chancen, aus einem künstlich hergestellten Bacteriengemisch (beispielsweise aus einfach diarrhoischem Stuhlgang, welchem man eine Bouillonkultur von Cholerabacillen zugesetzt hat) die Kommabacillen herauszucultiviren, als es in praxi mit einem wirklichen Cholerastuhlgang der Fall ist. Dabei muss man überdies noch berücksichtigen, dass es sich bei den zur ersten Diagnosestellung eingesandten oder sonst zur Untersuchung kommenden Dejectionen nicht einmal immer um typisch ausgesprochene Cholerafälle handelt, und dass diese noch nicht ganz typischen Fälle solche sind, welche für die einzuschlagenden Vorbeugungsmaassregeln die grösste Bedeutung haben.

Im Eppendorfer Krankenhause, woselbst ich durch die freundliche Fürsorge des Herrn Direktor Rumpf und durch die lebenswürdige Unterstützung des Herrn Collegen E. Fraenkel in der Lage war, eine Reihe von Choleradejectionen in obigem Sinne zu untersuchen, ist es mir mehrfach vorgekommen, dass unter ganz gleichzeitig angesetzten Culturschalen, welche mit der Dejection eines und desselben typischen Cholerafalles beschickt waren, einige positiv, andre negativ reagierten, d. h. dass der mikroskopische Nachweis von Kommabacillen an einigen Schalen geführt werden konnte, an anderen dagegen ausblieb.

In praktisch wichtigen Fällen ist es daher dringend zu rathen, nicht nur eine, sondern eine grössere Reihe von Culturschalen anzusetzen.