VII. Mittheilungen zur Cholera.

I. Ans dem Laboratorium des Städtischen Krankenhauses Moabit, Abtheilung des Herrn Direktor Dr. P. Guttman.

Können Cholera, Typhus und Milzbrand durch Bier übertragen werden?

Von Th. Weyl.

Die Frage, ob Cholera, Typhus und Milzbrand durch das Bier verbreitet werden können, liegt nahe genug, wenn man bedenkt, dass Bier mehr als 90% Wasser enthält, und dass gewisse Biersorten, namentlich die obergährigen, wie die verschiedenen Weissbiere und Ammenbiere häufig durch Zusatz von Wasser zur vergohrenen Bierwürze dargestellt werden.

Sterben die Keime der Cholera, des Typhus im Biere ab, wenn sie mit inficirtem Wasser beim Spülen der Biergefässe oder beim Zusatz von Wasser zur vergohrenen Würze oder durch die Hände der Brauer, Bierschenker oder Kellner in das Bier gelangen?

Diese Fragen beschäftigten mich schon vor mehreren Jahren. Bei ihrer Beantwortung hatte ich mich — leider nur für kurze Zeit — der Mitarbeiterschaft des Herrn Dr. Buchholtz zu erfreuen. In den letzten Wochen nahm ich meine Versuche von neuem an, da mir durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Direktor P. Guttman frische Typhus- und Choleraeulturen zur Verfügung standen, welche ich bei den Sectionen im Krankenhaus Moabit habe anlegen dürfen.

1. Cholera.

Die Choleraeaction.

Die Erkennung der Choleraeolonien auf der Gelatineplatte macht dem Geübten keine Schwierigkeit, solange die Colonien noch jung sind. Trotzdem wurde in den folgenden Versuchen nur derjenige Mikroorganismus als Choleraeolon angesehen, welcher neben allen anderen morphologischen Kennzeichen in einer 1 bis 2%igen Peptonbonillon die Choleraeaction ergab.

Diese „Choleraeaction“, welche von den der Cholera ähnlichen Mikroorganismen ausser dem Koch'schen Kommabacillus nur der hier nicht in Betracht kommende *Vibrio Metschnikowii* liefert, bezieht nach E. Salkowski's grundlegenden Untersuchungen bekanntlich auf der gleichzeitigen Entstehung von Indol und salpetrigsaurem Salz in den Culturen des Kommabacillus. Fügt man also zu der Cultur verdünnte¹⁾ — am besten 20%ige — Schwefelsäure, so entsteht eine rothe Lösung oder, falls sich viel von dem rothen Körper gebildet hat, ein rother Niederschlag, den man gewöhnlich als Nitrosoindol²⁾ bezeichnet.

Ich habe nun die Choleraeaction in 24–48 stündigen Bacillenculturen von Reinculturen der Kommabacillen bisweilen, wenn auch sehr selten vermisst und mir deshalb Mühe gegeben, diese auffallende Erscheinung anzuklären.

Ich habe mich auf's sicherste überzeugt, dass jede Choleraeacillencultur nach 24–48 stündigem Wachsthum die Choleraeaction giebt, sobald die benutzten Bacillen den richtigen Grad von Alkaleszenz besitzt.

Aus dieser Beobachtung folgt die Regel, dass man verdächtige Colonien nur mit Hilfe solcher Bonillon auf den Eintritt der Choleraeaction prüfen darf, in welcher eine unzweifelhafte Reincultur der Kommabacillen in einem Vorversuche die Choleraeaction auftreten liess.

Wird diese Vorsichtsmaassregel beachtet, so ist die Choleraeaction das sicherste Kennzeichen der Kommabacillen, resp. des *Vibrio Metschnikowii*, ein Kennzeichen, welches auch demjenigen, dessen morphologische Schulung oder Begabung zur Erkennung der jungen Colonien auf der Platte nicht ansreicht, die Diagnose auf Cholera asiatica gestattet.

Allerdings muss bei Anstellung der Choleraeaction noch ein Umstand beachtet werden, welcher dem Mediciner bei seiner meist mangelhaften chemischen Vorbildung leicht entgeht. Ich meine die chemische Reinheit der Schwefelsäure. Enthält nämlich dies Reagens salpetrige Säure³⁾, was nicht zu den Seltenheiten gehört, so ist der Trugschluss fertig. In diesem Falle nämlich wirkt die in der Schwefelsäure enthaltene salpetrige Säure auf das

Indol ein, welches bekanntlich durch eine grosse Zahl von Bacterienulturen gebildet wird.

Um in den erwähnten Fehler nicht zu verfallen, muss die Schwefelsäure auf die Anwesenheit von salpetriger Säure untersucht werden. Es geschieht dies genau so, wie man Wasser auf salpetrige Säure prüft. Man giesst also zu 80 ccm Wasser (nicht umgekehrt!) das von salpetriger Säure frei sein muss, 20 ccm reinste concentrirte Schwefelsäure, lässt das umgeschüttelte Gemisch vollständig erkalten und giesst zu einer Probe desselben eine verdünnte wässrige Lösung von Metaphenylendiamin. Tritt Gelbfärbung auf — Bildung von Triamidoazobenzol-Bismarckbraun — so war die benutzte Schwefelsäure mit salpetriger Säure verunreinigt und ist zur Anstellung der Choleraeaction unbrauchbar.

a. Versuche mit Weissbier¹⁾ (obergähriges Bier).

Das Weissbier kam für die folgenden Versuche in dreifacher Form zur Verwendung:

a) nicht sterilisirt, also in dem Zustande, in welchem es getrunken wird,

b) nach Sterilisation im Dampf,

c) ohne jeden Zusatz,

β) nach Zusatz von Soda bis zur alkalischen Reaction.

1. Versuche mit nichtsterilisirtem Bier.

In eine Reihe von Kolben mit je 100 ccm frischem, nichtsterilisirtem Weissbier wurden am 22. Februar 1891 je drei Oesen einer 24 stündigen Bonilloncultur geimpft. Sofort nach der Impfung wurden Gelatineplatten gegossen. Auf denselben erschienen am 28. Februar verdächtige Colonien. Dieselben geben, in Bonillon übertragen, nach 36 stündigem Wachsthum Choleraeaction und erweisen sich auch sonst als Choleraeolonien.

Dagegen enthalten die 24 und 48 Stunden nach der Impfung gegessenen Gelatineplatten keine Choleraeolonien mehr.

Dieser Versuch ist dreimal mit Laboratoriumscholera und mit Berliner Cholera mit dem gleichen Resultate wiederholt worden.

Nachdem ich gezeigt hatte, dass die Choleraeaspirillen im Weissbier schnell absterben, sollte, wo möglich, der Grund für diese keimtödtende Kraft des Bieres festgestellt werden.

Man konnte daran denken, dass die Choleraeaspirillen im frischen Biere durch die übrigen im Biere enthaltenen Mikroorganismen überwuchert würden. Hierüber mussten Versuche mit sterilisirtem Biere Anschluss geben.

Trug aber die saure Reaction des Bieres die Schuld an dem Absterben der Choleraeaspirillen, so war zu prüfen, ob die Kommabacillen im alkalisirten Biere besser gedeihen würden.

Stellte sich heraus, dass die Sterilisation des Bieres auf die Lebensdauer der Choleraeaspirillen im Biere keinen Einfluss ausübte, so musste es gleichgültig sein, ob das alkalisirte Bier sterilisirt oder nicht sterilisirt worden war.

Dies ist die Fragestellung, welche den nachstehend kurz mitgetheilten Versuchen zugrunde liegt.

2. Versuche mit sterilisirtem Bier.

a) Nicht alkalisirt.

Am 31. Januar 1891 wurden zwei Kolben zu je 150 ccm Bier einer eintägigen Agarcultur geimpft.

Der erste Kolben wurde 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Die am 1. Februar 1891 gegessenen Gelatineplatten waren noch am 7. Februar keimfrei. Auch blieb die Bonillon steril, welche am 1. Februar 1891 mit 1 ccm des Choleraeaspirillen geimpft worden war.

Der Versuch mit dem zweiten Kolben, welcher nach der Impfung 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatte, ergab 24 Stunden nach der Impfung lebende Choleraeaspirillen. Nach 48 Stunden dagegen waren die Choleraeaspirillen abgestorben.

β) Alkalisirt.

Der Versuch wurde ebenso wie mit dem nichtalkalisirten Biere angestellt.

Eine halbe Stunde nach der Impfung wurden mit dem geimpften Bier Platten gegossen. Auf denselben wuchsen die Choleraeolonien reichlich, welche wie üblich identificirt wurden.

In gleicher Zeit war eine Oese des Bieres in Bonillon übertragen worden. Nach 24 Stunden hatten sich reichlich Cholera-

¹⁾ Aus erklärlichen Gründen vermeide ich es, die Namen der Brauer im folgenden zu nennen.

¹⁾ Die Anwendung starker Schwefelsäure ist zu widerrathen, weil dieselbe mit Eiweissstoffen — wie längst bekannt — roth bis braun gefärbte Körper giebt und infolge dessen Irrthümer veranlassen kann. Bei Anwendung eines Ueberschusses 20%iger Schwefelsäure tritt die rothe Farbe rein hervor, bildet sich aber bisweilen erst nach einigen Minuten. Die schwache Rothfärbung, welche verdünnte (20%ige) Schwefelsäure in den Bonillonculturen vieler Mikroorganismen schnell beim Erwärmen, langsam d. h. bisweilen erst nach 24 stündigem Stehen hervorruft, hat mit der Choleraeaction nur die Farbe gemein.

²⁾ Dieser Körper ist wahrscheinlich kein Nitrosamin, da er die Liebermann'sche Nitrosoreaction nicht giebt. Vergl. Ber. d. Dtsch. chem. Ges. 23, 2302 b (1890).

³⁾ Technisch ausgedrückt: Nitrose, d. h. Oxydationsproducte des Stickstoffs.

colonieen entwickelt, die sie als solche durch Platten, Cholera-reaction u. s. w. erkennen liessen.

Auch 5 Stunden nach der Impfung liessen sich lebende Cholerakeime durch Platten u. s. w. nachweisen. Ebenso nach 24 und nach 48 Stunden. Erst nach 3 Tagen enthielt das alkalisirte und sterilisirte Weissbier keine lebenden Choleraspirillen mehr.

Diese Versuche wurden mehrfach, und zwar sowohl mit einer alten „Laboratoriumscholera“ als mit frischer Cholera (Moabit) wiederholt.

Das Resultat blieb immer das gleiche:

Im frischen nicht sterilisirten Weissbier sind die Choleraspirillen sicher nach 24 Stunden, wahrscheinlich schon früher abgestorben. Hierbei ist es gleichgültig, ob das geimpfte Bier bei gewöhnlicher Temperatur oder im Brutschrank gestanden hatte.

Im sterilisirten Weissbier dagegen verhalten sich die Choleraspirillen verschieden, je nachdem dasselbe alkalisirt oder nicht alkalisirt ist.

Ist das sterilisirte Bier nicht alkalisirt, so verhält es sich gegen die Choleravibrionen wie nicht sterilisirtes Bier; die Cholerakeime gehen in demselben sicher nach 24 Stunden zugrunde. Ist aber das sterilisirte Bier zugleich alkalisirt, so bleiben die Choleraspirillen in demselben ungefähr 3 Tage am Leben, falls das Bier bei gewöhnlicher Temperatur stand. Sie gehen dagegen bereits im Verlaufe von 24 Stunden zugrunde, wenn das Bier sich während dieser Zeit im Brutschrank befunden hatte.

b. Versuche mit billigen — nicht echten — in Berlin gebrauten Bieren¹⁾ (untergährige Biere).

Zu meinen Versuchen benutzte ich drei helle und drei dunkle Biere.

Die Versuche mit den billigen Berliner Bieren sind in gleicher Weise, wie dies bei den Versuchen mit Weissbier ausführlicher beschrieben ist, angeordnet worden.

Im nicht sterilisirten Bier waren trotz reichlicher Impfung 24 Stunden nach der Impfung lebende Choleraspirillen nicht mehr nachweisbar. Hierbei blieb es gleichgültig, ob das geimpfte Bier im Brutschrank oder bei Zimmertemperatur gestanden hatte.

Im sterilisirten Biere, welches alkalisirt worden war, hielten sich die Spirillen 72 Stunden. Später waren sie abgestorben. Durch Brutwärme wurde das Absterben der Kommabacillen im sterilisirten und gleichzeitig alkalisirten Biere nicht merklich beschleunigt.

Aus den angeführten Versuchen ergeben sich die folgenden Schlüsse:

1. Es ist wenig wahrscheinlich, dass die Cholera durch Bier übertragen werden kann, wenn die Kommabacillen längere Zeit mit dem Biere in Berührung gewesen sind. Nach 24 stündigem Verweilen im Bier sind dieselben sicher abgestorben. Aus diesem Grunde sollten Bierseidel in Cholerazeiten nur mit sterilisirtem Wasser, also mit gekochtem oder mit heissem Wasser gereinigt werden.²⁾

2. Die saure Reaction des Bieres ist der hauptsächlichste Grund, weshalb die Kommabacillen im Biere schnell absterben. Da aber die Choleravibrionen auch im alkalischen Biere nach einiger Zeit abgetödtet werden, müssen im Biere ein oder mehrere Cholera tödtende Stoffe enthalten sein. Man könnte an die aus dem Hopfen stammenden Materien denken. Doch stehen mir hierüber besondere Versuche nicht zur Verfügung.