Beitrag zur bakteriologischen Differenzialdiagnose der Cholera.

Von

Dr. Max Bleisch,
Königl. Kreisphysikus zu Cosel, O./Schl.

Nachdem in Folge der epochemachenden Entdeckungen Koch's für die Differenzialdiagnose der asiatischen Cholera das Ergebniss der bakteriologischen Untersuchung der Dejectionen Choleraverdächtiger der endgültig entscheidende Factor geworden ist, ist zum Mindesten für Jeden, der sich mit derartigen Untersuchungen beschäftigt, die Kenntniss derjenigen Bakterienarten von Wichtigkeit, welche durch ihr Vorkommen und ihr morphologisches oder biologisches Verhalten zu Täuschungen Veranlassung geben können. Aus diesem Grunde glaube ich, im Folgenden mit der Beschreibung einer Bakterienart an die Oeffentlichkeit treten zu dürfen, die, bisher meines Wissens nicht beschrieben, zu dieser Kategorie gehört, zumal dieselbe aus den frischen Dejectionen eines nach prodromaler Diarrhoe binnen 24 Stunden unter choleraartigen Erscheinungen gestorbenen Mannes als einzige für die Diagnose eventuell in Betracht kommende isolirt wurde.

Der fragliche dünne Stuhl war von vorwiegend fäculenter Beschaffenheit und enthielt nur ganz vereinzelte weisse Schleimflöckchen. Die mikroskopische Untersuchung dieser Schleimflöckchen in mit Fuchsin gefärbten Trockenpräparaten ergab in überwiegender Anzahl Exemplare der in Frage stehenden Bakterienart, wie ein nachträglicher Vergleich der aufbewahrten Präparate mit solchen zeigte, die von den später gewonnenen Reinculturen angefertigt wurden; dagegen konnten Bakterien nicht aufgefunden werden, die auch nur mit Wahrscheinlichkeit als Choleravibrionen hätten angesprochen werden können.

Behufs weiterer Untersuchung wurden alsbald mehrere derartige Schleimflöckchen in mehreren Gläschen sterilisirter alkalischer Bouillon, bezw. Fleischpepton-Gelatine verrieben; die Bouillongläschen wurden hierauf im Brütofen bei 37° C. gehalten; von den Gelatinegläschen wurde in der üblichen Weise je eine Plattenserie angelegt; die Platten blieben bei Zimmertemperatur stehen.

Am anderen Morgen, nach Ablauf von ca. 12 Stunden, wurden zunächst die Bouillonculturen, an denen eine Häutchenbildung nicht zu bemerken war, mikroskopisch im gefärbten Trockenpräparat, sowie im hängenden Tropfen untersucht und, nachdem von mehreren derselben wiederum Platten angelegt worden waren, z. Th. auf die bekannte Cholera-rothreaction durch Hinzufügen von concentrirter Schwefelsäure geprüft.

Das Trockenpräparat zeigte die erwähnte Bakterie fast in Reincultur. Auch im hängenden Tropfen beherrschte dieselbe Bakterie das Feld. Die Cholera-rothreaction fiel jetzt und selbst nach 48 stündigem Aufenthalte der Bouillonculturen im Brütofen negativ aus; statt ihrer trat nach Zusatz von Schwefelsäure nur eine leichte Braunfärbung an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten auf.

Die am vorhergehenden Tage angelegten Fleischpepton-Gelatineplatten zeigten in den Originalplatten 14 Stunden nach der Anlegung eine deutliche Trübung. Mehrere Stunden darauf begannen die Originalplatten, und zwar am deutlichsten zuerst da, wo Schleimpartikel lagen, sich zu verflüssigen. In den ersten Verdünnungsplatten begannen zahlreiche der oberflächlich gelegenen Colonieen ca. 20 Stunden nach der Anlegung einzusinken, und es bildete sich in der Folgezeit ein Anblick heraus, der makroskopisch wenigstens ausserordentlich lebhaft an den einer Choleraplatte erinnerte. Alle diese verflüssigenden Colonieen, zwischen denen auch nicht verflüssigende lagen, gehörten, wie Controlpräparate erwiesen, ein und derselben Bakterienart, und zwar der oben erwähnten, an. Denselben Anblick gewährten nach entsprechender Zeit auch die von den Bouillonculturen gewonnenen Gelatineplatten; nur überwogen hier die meiner Bakterie angehörigen Colonieen bei Weitem.

Von diesen Colonieen legte ich nunmehr behufs weiterer Beobachtung neue Plattenreihen, ferner Gelatine- und Agarstiche, Milch- und Bouillonculturen, letztere auch im hängenden Tropfen, und Kartoffelculturen an. Ein Theil der Agar-, Milch-, Bouillon- und Kartoffelculturen wurde in den Brütschrank gebracht, ein anderer Theil ebenso, wie die Platten und Gelatinestiche, bei Zimmertemperatur gehalten. In gleicher Weise verfuhr ich, um geeignete Vergleichsobjecte zu gewinnen, mit einer Cholera-cultur, die ich der Güte des Königl. Regierungs- und Medicinalrathes Hrn. Dr. Schmidtman zu Oppeln verdankte, und die von einem der

beiden zu Suchan, Kreis Gross-Strehlitz, in diesem Herbste vorgekommenen Cholerafälle herstammte.

Das Ergebniss der vergleichenden Beobachtungen war folgendes:

Die von mir isolirte Bakterie ist ein Kurzstäbchen, bei üppigem Wachsthum ungefähr ebenso lang, wie unter gleichen Verhältnissen gewachsene Cholera Bakterien, aber etwas plumper und dicker als diese; die Enden sind leicht abgerundet. Ausnahmsweise bemerkt man an einzelnen Exemplaren im Trockenpräparat eine Krümmung, die sich aber bei genauem Zusehen durchweg als eine gegenseitige, durch eine leichte Einschnürung an der Stelle der stärksten Biegung gekennzeichnete Abknickung zweier mit einander verbundener Stäbchen charakterisirt. Unter Umständen, besonders in älteren Bouillon-, Agar- und Kartoffelculturen, begegnet man längeren und plumperen Fäden, die wohl auch manchmal hier und da eine Krümmung zeigen, nie dagegen Spirillenform aufweisen.

Wie die Cholera mikrobien, färben sich die fraglichen Stäbchen mit den bekannten Anilinfarben ohne Weiteres und entfärben sich, wie jene, bei Anwendung des Gram'schen Färbeverfahrens.

Im hängenden Bouillontropfen zeigen sie eine ausserordentlich lebhafte Eigenbewegung, die sehr an den „tanzenden Mückenschwarm“ der Cholera Bakterien erinnert; mit Vorliebe sammeln sie sich, wie diese, in Schwärmen am Rande des Tropfens an. Diese Eigenbewegung verdanken sie einer am Ende des Stäbchens anhaftenden Geissel, welche dieselbe peitschenartige Form besitzt, wie die der Cholera Bakterie, und sich auch in tinktorieller Beziehung von der der letzteren nur wenig unterscheidet. Zu ihrer Färbung mittels alkalischen Anilinwassers nach den Angaben von Löffler¹ bedarf es der vorherigen Behandlung mit Löffler'scher Beize, welcher 3 bis 4 Tropfen einer auf $\frac{1}{4}$ -Normalnatronlauge eingestellten Schwefelsäureverdünnung (auf 16^{grm} Beize) zugesetzt sind, während für die Geisseln der Cholera Bakterie nach Löffler² ein Zusatz von $\frac{1}{2}$ bis 1 Tropfen derselben Schwefelsäureverdünnung zu 16^{grm} Beize am geeignetsten ist.

Eine Neigung zur Sporenbildung zeigt meine Bakterie ebensowenig, wie die Cholera Bakterie; wenigstens gelang es mir mit den gebräuchlichen Hilfsmitteln nicht, eine solche zu erzielen.

Das Wachsthum meiner Bakterie geht auf allen von mir verwendeten Nährböden rascher und auch bei niedrigerer Temperatur vor sich, als das der Cholera vibriationen.

¹ *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*. 1890. Bd. VII. Nr. 20. S. 632 ff.

² *Ebenda*. S. 631.

Zeitschr. f. Hygiene. XIII.

Eine mit meiner Bakterie besäte Gelatine-Originalplatte zeigte je nach den Temperaturverhältnissen bereits 14 bis 20 Stunden nach der Aussaat die Trübung einer mattgeschliffenen Glastafel, während die gleiche Trübung an einer unter denselben Temperaturverhältnissen gehaltenen Cholera-platte frühestens 24 Stunden nach Anlegung derselben zu bemerken ist. Besonders im Anfange sind die Unterscheidungsmerkmale der Colonieen beider Bakterien nur ganz geringe und hauptsächlich durch die Verschiedenheit der Schnelligkeit des Wachstums bedingte. Hier wie dort treten die Colonieen unter dem Mikroskop zuerst als kleine mit leicht unebenem, später höckerigem Rande versehene Tröpfchen auf. Dagegen fällt die alsbald bei beiden eintretende Granulirung bei den Colonieen meiner Bakterie etwas gröber aus; auch ist die Lichtbrechung keine so auffallend starke, wie bei den Cholera-colonieen gleicher Grösse; dementsprechend sehen auch die Colonieen meiner Bakterie etwas dunkler aus, und ihr Saum ist weniger glänzend. Dagegen konnte ich an den oberflächlichen Colonieen auch meiner Bakterie, sobald sie sich zur Verflüssigung anschickten, oft den bekannten rosigen Reflex der Cholera-colonieen wahrnehmen. Die Verflüssigung der Colonieen in der Platte begann je nach der Aussentemperatur im Allgemeinen 5 bis 10 Stunden früher als diejenige der Colonieen einer gleich alten und unter derselben Temperatur gehaltenen Cholera-platte. Die in der Verflüssigung begriffenen Colonieen fallen auch makroskopisch gegenüber den im gleichen Stadium befindlichen Cholera-colonieen durch eine dunklere, mehr in's Bräunlichgelbe spielende Färbung auf; im Uebrigen ist der Verflüssigungstrichter ebenso scharf-randig, wie der der Cholera-colonieen, und hier wie dort folgt dem scharfen Rande nach innen zu eine grau getrübte Zone, welche die im Centrum des Trichters bei meiner Bakterie etwas dichter lagernden Haufen umschliesst. Noch später bildet sich ein feiner radiär gestrichelter Saum. Im Ganzen ähnelt die mit meiner Bakterie besäte erste Verdünnungsplatte bei eintretender Verflüssigung ausserordentlich einer entsprechenden Cholera-platte. Man erhält hier ebenfalls den Eindruck, als sei die Platte von zahlreichen Gasbläschen durchsetzt. Später sieht man beim Vergleich auch makroskopisch, dass die Colonieen meiner Bakterie den durchscheinenden grauweissen Cholera-colonieen gegenüber eine dichtere Fügung und eine mehr in's Gelbliche spielende Färbung besitzen.

Auch die Gelatinestichculturen beider Bakterienarten zeigen, wenn man von der auch hier hervortretenden grösseren Wachstumsenergie meiner Bakterie absieht, besonders im Anfange eine gewisse Aehnlichkeit, die zu Täuschungen vielleicht Veranlassung geben könnte. Allerdings pflegt die in Cholera-stichen erst nach 2×24 Stunden zu beobachtende Anschwellung des oberen Theiles des Stiches bei Reinculturen meiner

Bakterie schon nach 36 bis 40 Stunden sich geltend zu machen. Als bald bildet sich in Folge der beginnenden Verflüssigung der Gelatine eine leichte Einsenkung, die, nunmehr sich erweiternd und vertiefend, Ampullenform annimmt. Auch die in Cholerastichculturen im oberen Theile des Verflüssigungstrichters befindliche Luftblase vermisst man im weiteren Verlaufe nicht. Dagegen erreicht die Ampulle nie die schön geschwungene Form, wie man sie an gut gelungenen Cholerastichen entsprechenden Alters beobachtet; sie bleibt vielmehr etwas plumper, ihre obere Oeffnung erweitert sich rascher; meist wird auch der dicht unter der Ampulle befindliche Theil des Stiches nicht so ganz klar und bleibt der untere Theil desselben nicht so zierlich dünn wie bei Cholerastichen, vielmehr erhält der untere Theil des Stiches bald eine, wenn auch sehr schmale Hose von verflüssigter Gelatine, wie sie an Cholerastichen gewöhnlich nicht beobachtet wird. Später wird die Ampulle mehr trichterförmig und die Cultur ähnelt dann sehr der der Deneke'schen Spirille.¹ Die Verflüssigung schreitet später nicht allzurasch vorwärts, so dass selbst nach Ablauf von vier Wochen der Inhalt des Reagensgläschens noch nicht vollständig von derselben ergriffen ist. Häutchenbildung wird in alten Gelatineculturen meist beobachtet.

Auf Fleischpepton-Agar bildet sich, bei Brüttemperatur rascher als bei Zimmertemperatur, ein dünner, buchtiger, grauweißer Belag. Das Wachsthum zeigt hier weder in Platten noch in Stichen besondere Eigenthümlichkeiten.

Kartoffelculturen meiner Bakterie unterscheiden sich von Cholera-kartoffelculturen sehr wesentlich dadurch, dass meine Bakterie auch bei Zimmertemperatur auf der Kartoffel leicht angeht, was bekanntlich die Cholerabakterie nicht thut. Die entstehenden Beläge sind buchtig, compact und zunächst von blassgelber Farbe. Später nimmt der Belag eine Orangefärbung an, um zuletzt graubraun zu werden. Selbst bei Brüttemperatur wird der Rand der Kartoffel nach 14 Tagen noch nicht erreicht. Häufig sieht man die Oberfläche der Kartoffel im Bereiche der Cultur rinnenförmig einsinken. Genaue Vergleiche mit dem Aussehen bei Brüttemperatur gewachsener Cholerakartoffelculturen konnte ich im Uebrigen nicht anstellen, weil die in meinem Besitze befindliche Cholera-cultur auf den mir zur Verfügung stehenden Kartoffeln (Salatkartoffeln sind hier zu Lande nur schwer zu erlangen) selbst bei Brüttemperatur nicht anging, wenn auch die Aussaat sich durch längere Zeit lebensfähig erhielt. Ich muss es vorläufig dahingestellt sein lassen, ob diese auffallende Erscheinung in der Beschaffenheit der von mir als Nährsubstrat

¹ Vergl. Baumgarten, *Lehrbuch der pathol. Mykologie*. 1890. S. 789. Fig. 85.

benutzten Speisekartoffeln, oder in einem abweichenden Verhalten der in meinen Händen befindlichen Cholera-cultur zu suchen ist. (Vergl. damit das weiter unten erwähnte Ausbleiben der Häutchenbildung und der Cholerarothreaction bei meiner Cholera-cultur.)

In alkalischer Bouillon tritt, entsprechend dem rascheren Wachsthum meiner Bakterie, die Trübung rascher auf und ist erheblicher, wie in Cholerabouillon. Eine Häutchenbildung konnte ich nur hin und wieder und in ganz alten Culturen wahrnehmen. Hierbei kann ich nicht unterlassen, hervorzuheben, dass die von mir angelegten Cholerabouillonculturen selbst nach vieltägigem Aufenthalte im Brütoven eine Häutchenbildung bisher nicht gezeigt haben. Da Fränkel¹ an einer ebenfalls der diesjährigen Epidemie entstammenden Cholera-cultur die gleiche Beobachtung gemacht hat, so dürfte der Grund für diese Abweichung von den an der Laboratoriumscholera bisher gemachten Beobachtungen voraussichtlich nicht in einer abnormen Beschaffenheit des Nährbodens zu suchen sein. Bei Zusatz von Schwefelsäure zu selbst einige Wochen lang bei 37° C. gehaltenen Bouillonculturen meiner Bakterie erhielt ich niemals eine rothe, sondern immer eine bräunliche Färbung, während bekanntlich 12 bis 24 Stunden bei Brüttemperatur gehaltene Cholerabouillon nach dem gleichen Zusatz sich constant roth färben soll. Aber auch auf dieses Unterscheidungsmittel möchte ich irgend einen Werth nicht legen, da diese Reaction anscheinend ebenfalls kein so constantes Merkmal des Choleravibrios ist, wie man auf Grund der bisherigen Erfahrungen allgemein annahm. Wenigstens wollte es mir bisher nicht gelingen, die Reaction an den in meinen Händen befindlichen, aus der diesjährigen Choleraepidemie stammenden Cholerabouillonculturen in befriedigender Weise hervorzurufen, auch nicht nach 4 bis 5 tägigem Aufenthalte im Brütoven bei 37° C. Ich bin vorläufig geneigt, mit Fränkel,² der auch in dieser Beziehung analoge Beobachtungen machte, anzunehmen, dass die Cholerabakterie die dieser Reaction zu Grunde liegende Fähigkeit, Nitrate in Nitrite umzuwandeln, ebenso, wie die Fähigkeit zur Häutchenbildung, erst allmählich während ihres Aufenthaltes auf unseren künstlichen Nährböden erwirbt. Ich füge hinzu, dass alte Gelatinecholera-culturen derselben Herkunft im Oppelner bakteriologischen Institut s. Z., wie ich selbst gesehen, die Reaction deutlich zeigten, und dass ich in den allerletzten Tagen an Bouillonculturen, welche 6 Tage bis eine Woche im Brütschrank bei 37° C. gestanden haben, die ersten Anfänge der Reaction schwach angedeutet finde.

Mit meiner Bakterie geimpfte und darauf im Brütschrank gehaltene

¹ Fränkel, *Deutsche medic. Wochenschrift*. 1892. Nr. 9. S. 925.

² A. a. O.

Milch endlich zeigte sich 16 Stunden nach der Impfung z. Th. fest geronnen und sauer reagirend. In der Folgezeit war ein deutlicher Schwund der Gerinnung zu beobachten. Mit Cholerabakterien geimpfte und unter gleicher Temperatur gehaltene Milch zeigte dagegen trotz üppiger Proliferation makroskopisch keine Veränderung.

Gewiss besitzt nach Obigem die in Frage stehende Bakterie in mehr als einer Beziehung ein von dem der Choleraspirille so abweichendes Verhalten, dass eine Verwechselung beider Mikroben mit einander ausgeschlossen erscheint; wohl aber besteht die Gefahr, dass bei dem besonders im Anfang so ähnlichen Verhalten beider Organismen auf der Gelatineplatte etwa in der Platte in der Minderzahl gleichzeitig gewachsene Cholera-colonien übersehen werden. Gegen eine derartige Täuschung wird man sich indess dadurch schützen, dass man ein in Bezug auf das Vorhandensein von Choleramikroben negatives Untersuchungsergebniss zur Stellung der endgültigen Diagnose nicht verwerthet, bevor man sicher ist, auch wirklich alle auf den Platten vorhandenen, ihrem Anblick nach an Cholera-colonien erinnernden Ansiedelungen sachgemäss untersucht zu haben. Keinesfalls aber, das möchte ich noch einmal hervorheben, darf dem negativen Ausfall der Cholerarothreaction eine entscheidende Bedeutung beigemessen werden.