Aus der Kölner Akademie für praktische Medizin,
Abteilung des Herrn Prof. Dr. Hochhaus.

Ueber die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbacillus.²⁾

Von G. Liebermeister.

M. H.! Schon lange ist es aufgefallen, daß man in manchen tuberkulösen Herden und manchmal auch im Sputum keine Tuberkelbazillen findet, bei Fällen, in denen es sich sicher um Tuberkulose handelt. Nun haben vor kurzem Much³⁾ und nach ihm einige andere Autoren verschiedene Arbeiten veröffentlicht, in denen nachgewiesen wird, daß es eine Form des Tuberkelbacillus gebe, die sich nicht nach der Ziehl'schen Methode, sondern nach Gram darstellen läßt. Much stellt eine besondere „granuläre Form des Tuberkelbacillus“ auf und glaubt, daß die nach Gram färbbaren Tuberkelbazillen und besonders deren Granula diagnostisch verwertbar seien. Er unterscheidet drei verschiedene Formen von Tuberkelbazillen:

1. in Körner zerfallene Bazillen,
2. äußerst feine, nur nach Gram darstellbare Stäbchen,

1) cf. Schmidt-Rimpler, Ophthalmomalacie für Graefe-Saemisch, Handb. d. ges. Augenheilkunde, 2. Aufl., 2. T., Bd. 6, Kap. 7.

2) Nach einem in der 17. Versammlung der Rheinisch-westfälischen Gesellschaft für innere Medizin und Nervenheilkunde am 21. März 1909 in abgekürzter Form gehaltenen Vortrag. — 3) Die Literatur seit Erscheinen der Much'schen Arbeiten siehe bei Weiss, Münchener medizinische Wochenschrift 1909, No. 9, S. 443 ff.

3. säurefeste, mit einer Fettsäuresubstanz imprägnierte Stäbchen.

Da ich seit längerer Zeit mit Untersuchungen über latente und atypische Tuberkulose beschäftigt bin und da ich bei diesen Untersuchungen häufig durch das Tierexperiment Bazillen nachweisen konnte, deren Auffindung im Ausstrich- und Schnittpräparat nicht gelungen war, so interessierte mich die Much'sche Entdeckung außerordentlich. War sie richtig, so war damit ein großer Fortschritt auf dem Gebiet der Tuberkulosediagnose gemacht, und ich hoffte, auch für meine eigenen Untersuchungen wesentlich dadurch gefördert zu werden. Ich beschäftigte mich daher mit der Frage der „Much'schen Granula“ um so lieber, als mir die Fragen der Bakteriengranula von früher her nicht fremd waren.

Die Tatsache, daß junge Tuberkelbazillen sich zuweilen nicht nach Ziehl färben, wohl aber mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen darstellbar sind, ist schon länger bekannt.¹⁾ Auch kennt man schon länger die Granula der Tuberkelbazillen. Diese entsprechen in allem den Babes-Ernst'schen Körnchen.^{2) 3)} Solche Körnchen finden sich normalerweise nicht nur in Tuberkelbazillen, sondern auch in allen möglichen anderen Bakterien, z. B. Lepra (v. Behring), Choleravibrionen (Pfeiffer), Smegma-, Milzbrandbazillen, auch Milzbrandvaksin I und II, Diphtherie-, Typhus- und Kolibazillen, Pyocyaneus, Megatherium. Sie scheinen bei den anaëroben Arten des malignen Oedems und Rauschbrands, auch bei anaërob gezüchtetem Milzbrand zu fehlen.²⁾

Diese Granula sind gegen alle möglichen chemischen und physikalischen Einwirkungen außerordentlich widerstandsfähig, sie sind bei guter Abblendung in vielen Bakterienarten und auch in jungen Tuberkelbazillen schon im ungefärbten Präparat zu erkennen. Sie färben sich mit Sudan III schwach orange bis rosarot, geben die Naphtholblaureaktion, schwärzen sich aber nicht in Osmiumsäuredämpfen; sie lassen sich mit Alkohol, Aetheralkohol, Aether, Chloroform und Benzin nicht ausziehen und widerstehen auch länger dauernder Verdauung mit Pepsin, Trypsin und Papayotin. Sie lassen sich in vielen Bakterienarten mit verschiedenen Färbemethoden mehr oder weniger leicht nachweisen.²⁾

Ein Beispiel sei herausgegriffen: In vielen Bazillen lassen sich die Granula mit der Ernst-Neisser'schen Methylenblau-Bismarckbraunmethode darstellen, die ja speziell für die Diphtherie zu einem differentialdiagnostischen Verfahren geworden ist. Die Ernst-Neisser'schen Granula der Diphtheriebazillen lassen sich nun mit einer etwas modifizierten Grammethode leicht darstellen; sie sind im allgemeinen etwas größer als die Tuberkelbazillengranula. In alten Diphtheriekulturen, die nicht mehr überimpfbar sind und mit dem typischen Neisserverfahren keine oder nur vereinzelte blauschwarze Körnchen erkennen lassen, sind die Körnchen mit der modifizierten Grammethode noch nachweisbar. Sie sind hier zum Teil noch kettenförmig angeordnet, an anderen Stellen lassen sie die Stäbchenform nicht mehr erkennen. Trotzdem werden wir solche körnchentragende Diphtheriebazillen und die nach Zerfall der Bazillen frei werdenden Körner nicht als eine besondere Form des Diphtheriebacillus ansehen dürfen. Ich zeige Ihnen hier je ein Präparat von körnchenhaltigen Tuberkelbazillen und freien Granula, desgleichen von Diphtheriebazillen und von einem nicht genauer bestimmten körnchentragenden Luftkeim, der auf Schrägagar üppig gewuchert ist, alle nach einer modifizierten Grammethode gefärbt (die Tuberkelbazillen nach der Much'schen Grammethode II, die anderen nach der gleichen Methode, nur mit etwas kürzerer Vorfärbung dargestellt).

Auch beim Tuberkelbacillus sind normalerweise im Bazillenleib Körnchen enthalten.^{4) 2)} Daß man mit der gewöhnlichen Ziehl-Färbung diese Granula nicht nachweisen kann, hat seinen Grund darin, daß die Ziehlmethode die wachshaltige Membran der Tuberkelbazillen darstellt und infolgedessen den Inhalt des Bazillenleibes verdeckt. Es

1) Marmorek, Zeitschrift für Tuberkulose 1900, Bd. 1, S. 444. — 2) A. Dietrich und G. Liebermeister, Zentralblatt für Bakteriologie 1902. Originale Bd. 32, S. 858 ff. Dasselbst auch frühere Literatur. — 3) v. Behring, Tuberculosis 1907, Bd. 6, S. 435. — 4) Ernst, Zeitschrift für Hygiene 1888, Bd. 5, Tafel V, Fig. 10.

liegt kein Grund vor, eine besondere „granuläre Form des Tuberkelbacillus“ aufzustellen.

Sind nun die in Ketten angeordneten Granula normale Bestandteile des Tuberkelbacillus, so stellen die freien Granula den chemisch resistantesten Teil der Bazillen dar, der bei dem Zerfall der Bazillen am längsten erhalten bleibt. Man kann diesen Vorgang im Reagenzglas verfolgen, wenn man Tuberkelbazillen oder tuberkulöses Gewebe der Autolyse überläßt. An geeignetem Material lassen sich auch in einem und demselben Präparat alle Uebergänge von granulahaltigen Bazillen zu freien Körnchen beobachten. Die chemische Natur der Granula ist noch nicht sicher festgestellt. Färbemethoden und mikrochemische Reaktionen legen die Annahme nahe, daß sie aus einem hochmolekularen — etwa der Gruppe der Nukleoalbumine angehörigen — Eiweißkörper bestehen, der wahrscheinlich auch eine Kohlehydrat- und eine Lipoidgruppe enthält.

Mit den Spenglerschen Splittern haben die Granula nichts zu tun. Eine Verwechslung ist nur insofern möglich, als die Gram-Methode — auch in ihren verschiedenen Modifikationen — häufig nicht bloß die Granula, sondern auch Bestandteile des übrigen Bazillenleibes und somit zuweilen auch „Splitter“ färbt. Die Färbemethoden sind ja vielfach keine chemischen Methoden, die bestimmte chemische Substanzen elektiv färben. Ich möchte noch ausdrücklich betonen, daß die Granula mit Sporen nichts zu tun haben; sie lassen sich z. B. bei den sporenbildenden Milzbrandbazillen neben den Sporen nachweisen und finden sich auch in sporenfreien Milzbrandbouillonkulturen und in dem keine Sporen bildenden Milzbrandvakzin I und II, ebenso in vielen anderen sporenlosen Bakterienarten.

Was nun an den Muchschen Untersuchungen von großer praktischer Wichtigkeit werden kann, ist der Umstand, daß die Tuberkelbazillen und ihre Granula sich nach Gram färben können, auch wenn sie die Färbbarkeit nach Ziehl verloren haben, daß also die nach Ziehl darstellbare Wachshülle der Tuberkelbazillen verloren gehen kann, während die Bazillen und ihre Granula erhalten bleiben, und daß die Granula — chemisch — so widerstandsfähig sind, daß man sie noch findet, wenn Stäbchen nicht mehr nachweisbar sind. Ich habe das durch viele Untersuchungen bestätigen können.

Es erhebt sich die Frage, ob die Gram-Färbung in ihren verschiedenen Modifikationen in solchen Fällen praktisch gute Resultate gibt, wo die Ziehl-Methode versagt. Das hat Much für gewisse Fälle schlagend bewiesen. Erst ganz neuerdings hat auch Weiss (l. c.) in käsig-kreidigen Lymphdrüsen mit der modifizierten Gram-Methode Tuberkuloseerreger nachgewiesen, die sich bei Ziehlfärbung dem Nachweis entzogen.

Einer praktischen Verwendung der Methode stehen bis jetzt noch mannigfache Bedenken in allen den Fällen entgegen, in denen die Anwesenheit anderer Bakterien nicht mit Sicherheit von vornherein auszuschließen ist, so vor allem im Sputum und in älteren Zerfallsherden. Wir haben gesehen, daß nicht nur die Tuberkelbazillen, sondern auch eine ganze Reihe anderer Bakterien Granula enthalten, die nach Gram darstellbar sind. Es wird im Einzelfall sehr schwierig sein, den Nachweis zu erbringen, daß man nicht Granula anderer Bakterien gefärbt hat. Ferner darf man nicht einzelne Granula für sich als beweisend gelten lassen, sondern nur solche, die zu mehreren kettenförmig aneinandergereiht die Bazillenform erkennen lassen; diese letzteren haben ein recht charakteristisches Aussehen. Wollte man dagegen einzelne Granula — für sich und in Haufen — ohne erkennbare Bakterienform als beweisend ansehen, so würde man sich großen Irrtümern aussetzen, weil solche einzelne Gebilde nicht von Körnchen anderer Bakterien, Kernzerfallsprodukten, Kohlepartikelchen und Niederschlägen zu unterscheiden sind. Vollends wird man nicht auf die „staubförmigen“ Gebilde, die nur in tuberkulösem Käse zu erkennen sein sollen, eine sichere Diagnose gründen können. Endlich ist die Färbung und die Differenzierung eine recht schwierige und gibt nur bei sorgfältigster Ausführung einwandfreie Resultate (s. a. Weiss l. c.)

Sicher ist der von Much betretene Weg sehr aussichtsreich, und wir werden weiter suchen müssen, die Tuberkelbazillen mit anderen als den bisher gebräuchlichen Methoden nachzuweisen. Wenn man alle die eben angeführten Schwierigkeiten kennt und sorgfältig berücksichtigt, so ist das Verfahren schon jetzt in vielen Fällen, z. B. bei Tumor albus, bei käsig-kreidigen Lymphdrüsen, recht brauchbar; es ist aber zu hoffen, daß die Färbemethoden, die bisher keine gleichmäßigen Resultate ergeben, noch in irgendeiner Weise ausgebaut und einfacher und sicherer gestaltet werden. Vor allem wird darauf geachtet werden müssen, daß die Granula anderer Bakterien nicht zu Verwechslung mit den Tuberkelbazillengranula führen.

Zusammenfassung. 1. Die Tuberkelbazillen enthalten in der Regel Granula, und diese Granula sind so widerstandsfähig, daß sie erhalten bleiben können, auch wenn der Nachweis der Stäbchen nicht mehr gelingt.

2. Nicht bloß Tuberkelbazillen, sondern eine ganze Reihe anderer Bakterien enthalten Granula; daher ist eine Verwechslung von Tuberkelbazillengranula mit solchen anderer Bakterien möglich.

3. Die Bakteriengranula sind chemischen und physikalischen Einwirkungen gegenüber außerordentlich widerstandsfähig. Ihr Nachweis beweist nichts für die Virulenz oder Vermehrungsfähigkeit der sie enthaltenden Bakterien. Es ist nicht berechtigt, die Granula als eine besondere Form der Tuberkelbazillen anzusehen. Die freien Granula und besonders die „staubförmigen“ Granula diagnostisch zu verwerten, halte ich zurzeit noch für sehr gewagt, da sie außerordentlich leicht zu Verwechslungen Anlaß geben können. Dagegen werden Gram-positive Stäbchen und granulierten Stäbchen diagnostisch verwertbar sein, wenn die Anwesenheit anderer Bakterien ausgeschlossen ist.