[Aus dem pathologischen Laboratorium-Cambridge University.]

Bemerkungen zur Mittheilung des Hrn. Dr. H. Bitter:

„Ueber die bakterienfeindlichen Eiweisskörper des Organismus.“

Von

E. H. Hankin,

Chemical Examiner, Analyser and Bacteriologist to the North-West Provinces and Oudh-Agra-India.

Hr. Bitter hat in jüngster Zeit meine Arbeit über Alexinlösungen controlirt(1), ohne jedoch gleiche Resultate zu bekommen. Der Widerspruch, der zwischen unseren Ergebnissen besteht, beruht auf einfachen Gründen.

Wie aus meinen Arbeiten(2) hervorgeht, besitzen die Alexinlösungen, aus normalen Kaninchen- oder Hundemilzen hergestellt, nur eine vorübergehende bakterientödtende Kraft. Mit der Plattenmethode findet man, dass nach einer halben Stunde, wenn nicht die Hälfte, doch mindestens ein grosser Bruchteil der Bakterien untergegangen ist. Mit concentrirten Alexinlösungen ist nach einer Stunde eine weit kleinere Menge entwicklungsunfähig geworden. Mit verdünnten Lösungen ist der bakterienfeindliche Einfluss zu dieser Zeit schon verschwunden. Nach anderthalb Stunden ist fast stets eine Zunahme der Bakterienzahl zu constatiren.

Bitter nun hat immer die erste Platte 2 bis 4 Stunden nach der Controlplatte angefertigt, d. h. zu einer Zeit, wo das Absterben der Bakterien schon vorbei ist. Dies ist eine Abweichung in der Versuchsanordnung, die an und für sich genügend ist, die Verschiedenheit unserer Resultate zu erklären.

Jedoch die Frage drängt sich auf, ob eine so geringe transitorische Abnahme der Colonieenzahl als definitiver Beweis einer bakterientödtenden Kraft angesehen werden kann, und nicht durch etwaige unvermeidliche Fehlerquellen bedingt sei. Was den zweiten Punkt betrifft, so muss ich

hervorheben, dass ich in einer langen Reihe von Versuchen immer dasselbe Resultat bekommen habe. Es giebt zwei Bedingungen, unter welchen positive Resultate nicht zu erwarten sind: erstens wenn die Lösung getrübt ist, zweitens wenn sie durch Mikroben verunreinigt ist. Bitter erwähnt, dass seine Plattenculturen gewöhnlich viele Saprophyten enthalten haben. In meinen Versuchen ist dies nur ausnahmsweise der Fall gewesen. Ich habe neulich ausführlichere Angaben über meine Methode, die Alexine zu gewinnen und zu prüfen, veröffentlicht.⁽³⁾ Wenn Bitter sich meiner Methode bedient hätte, so würde es auch ihm gelungen sein, sterile Alexinlösungen „nach meinem sehr complicirten Vorgange“ zu bekommen. Bitter spricht weiter die Meinung aus, dass diese Ansiedelung von Mikroben für sich schon einen Beweis gegen die bakterientödtende Kraft liefere. Nissen u. A. jedoch haben gezeigt, dass die bakterientödtende Eigenschaft des Serums sich nur gegen einige Bakterienarten äussert. Viele Bakterien, pathogene sowohl als auch saprophytische (z. B. *Bacillus fluorescens* und *Staphylococcus*) sind von Natur gegen diesen Einfluss resistent. Es ist immerhin möglich, dass die Saprophyten, die Bitter in seinen Platten beobachtet hat, zu dieser Kategorie gehört haben.

Wie in der oben erwähnten Mittheilung beschrieben ist, habe ich statt der Platinnadel stets eine feingraduirte Capillarpipette benutzt, um die Impfungen zu machen. Dadurch wird die Plattenmethode viel genauer, so dass die Differenz der Colonieenzahl in meinen Versuchen kaum innerhalb der Grenzen von Versuchsfehlern fällt.

Wie auch Bitter, haben Roux und ich gefunden, dass ein einfaches Na_2SO_4 -Extract der Kaninchen- bzw. Rattenmilz keine bakterientödtende Kraft besitzt. Diese Kraft äussert sich nur, wenn das in diesem Extracte enthaltene Alexin weiter gereinigt wird. Warum dies der Fall ist, bin ich nicht im Stande zu erklären; möglicherweise ist es durch das Vorhandensein allerlei Arten von Zellzerfallproducten bedingt, welche die bakterienzerstörende Wirkung der Alexine hemmen, wie nach Buchner es auch mit gefrorenem und wieder aufgethautem Blute der Fall ist. Wenn nun durch das Vorhandensein solcher Stoffe die Bakterientödtung aufgehoben wird, in reinen Lösungen jedoch zu Tage tritt, wenn auch nur vorübergehend, so könnte man leicht denken, dass dieses Absterben durch die Armuth an Nährstoffen verursacht sei. Diese Annahme ist jedoch nicht im Stande, die Befunde völlig zu erklären. Dies erhellt u. A. aus der Thatfache, dass frische Milzbrandbacillen keineswegs durch ein halbstündiges Verweilen in physiologischer Kochsalzlösung beschädigt werden.

Dass meine Resultate nicht auf „Selbsttäuschung“ beruhen, wie Bitter annimmt, wird durch folgende Versuche weiter bestätigt. Ich habe

dieselben neulich schon anderswo beschrieben (4), und werde deshalb hier nur eine ganz kurze Uebersicht derselben geben. Ich wurde zu diesen Versuchen durch den folgenden Gedankengang gelenkt.

Ich nahm an, dass die Alexine im gesunden Thierkörper vorkommen und globulinartige Substanzen sind, die die blutgerinnende Eigenschaft des Fibrinfermentes besitzen (5). Nun giebt es einen weitverbreiteten Glauben, dass im Körper von Thieren und Menschen, die von einem Blitzschlag getödtet sind, das Blut nicht gerinnt, und solche Leichen mit grosser Schnelligkeit verwesen. Es scheint, als ob der Blitz das Fibrinferment und ähnliche Substanzen (Alexine) zerstört habe. Wenn dies wirklich der Fall ist, so kann man leicht verstehen, warum die Blutgerinnung ausbleibt und das Verwesen nicht wie gewöhnlich durch das Vorhandensein von Alexinen verlangsamt wird. Diese etwas wilde Vermuthung war eine der Ideen, die mich ursprünglich auf den Gedanken lenkten, einen bakterientödtenden Eiweisskörper unter den dem Fibrinfermente ähnlichen Stoffen zu suchen. Ich habe nun auch Thatsachen für die Richtigkeit meiner Vermuthung gefunden. Anstatt des Blitzschlages benützte ich die Funken einer grossen Holz'schen Inductionsmaschine. Ich fand nach vielen unzweideutigen Versuchen, dass die bakterientödtende Eigenschaft einer reinen Alexinlösung durch das Durchleiten einiger Funken völlig aufgehoben wird. Z. B. eine Lösung aus der Milz eines Hundes nach meiner gewöhnlichen Methode hergestellt, wurde in 2 Hälften getheilt, und durch die eine (B) einige 8 bis 12^{cm} lange Funken geleitet, während die andere (A) zur Controle diente. Beide wurden nun unter gleichen Bedingungen mit Anthraxbacillen auf ihre bakterientödtende Kraft geprüft, und zwar mit folgendem Ergebniss.

	Controlplatte	Platte nach $\frac{1}{2}$ Std. ausgegossen	Platte nach 1 Std. ausgegossen
A = normale Lösung	194	11	8
B = elektrisirte Lösung	120	226	746

Nach einer halben Stunde sind somit schon 94.3 Procent der Bakterien in einer normalen Alexinlösung getödtet, während in der „elektrisirten“ Lösung die Bakterien sich sofort vermehren, ohne auch im Mindesten durch einen Wechsel des Nährmediums geschädigt zu sein. In anderen Versuchen, sowohl mit Milzbrandbacillen als auch mit *Vibrio Metschnikovii* angestellt, habe ich immer genau dieselben Resultate bekommen, worüber Ausführlicheres in der oben erwähnten Arbeit zu finden ist.

Die Thatsache, dass die Bakterien in einer „elektrisirten“ Alexin-

lösung sofort und gut gedeihen, liefert den Beweis dafür, dass ein Mangel an Nährstoffen nicht vorhanden ist.

Resumé: Sowohl in diesen als auch in anderen Versuchsreihen habe ich eine bakterientödtende Wirkung in Alexinlösungen, nach meiner Methode hergestellt, stets gefunden. Diese Erscheinung ist so klar und constant, dass eine „Selbsttäuschung“ nicht vorliegt. Meine Methode ist sehr complicirt und ohne eine gewisse Uebung nicht erfolgreich durchzuführen. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass die so erhaltenen Lösungen die Alexine in einem Zustande von relativ grosser Reinheit enthalten. Ausser den Alexinen werden nur Spuren anderer Eiweisskörper durch die verdünnte Na_2SO_4 -Lösung aus den Milzzellen ausgelaugt. Durch Alkohol-fällung werden verschiedene Extractivstoffe (Kreatin u. s. w.) entfernt, und andere Eiweisskörper wahrscheinlich dauernd unlöslich gemacht, und wir dürfen deshalb wässrige Extracte eines solchen Alkoholniederschlages als ziemlich reine Alexinlösung ansehen.

Litteratur.

1. *Diese Zeitschrift.* Aug. 1892. Bd. XI.
 2. On a bacteria-killing Globulin. *Proceedings of the Royal Society of London.* 21. Mai 1890. Bd. XLVIII. p. 93. — On the conflict between the Organism and the Microbe. *British Medical Journal.* July 12. 1890. — Ueber den schützenden Eiweisskörper der Ratte. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1891.
 3. On the mode of testing the bactericidal action of Alexin-solutions. *Journal of Pathology and Bacteriology.* 2. October 1892. Bd. I.
 4. On the bactericidal action of Alexins. *British Medical Journal.* October 1. 1892.
 5. A. a. O. Vortrag über Immunität, vor dem internationalen Congress für Hygiene und Demographie gehalten. London, Aug. 1891. — Ueber die Nomenclatur der schützenden Eiweisskörper. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* October 1891.
-