

Zur Frage der biologischen Bekämpfung pathogener Darmbakterien durch apathogene.

Von

Dr. Heinrich Prell,
zurzeit Stuttgart, Res.-Lazarett I.

Die alltägliche Beobachtung, daß eine Bakterienart durch eine andere in oder auf einem Nährmedium überwuchert werden kann, findet zunächst vor allem deshalb Beachtung, weil nicht selten in Kulturen irgendwelcher Bakterien, sei es durch Überwiegen schon von Anfang an darin enthaltener weiterer Bakterienarten, sei es durch nachträgliche Verunreinigung mit fremden Bakterien, die ursprünglich gesuchte oder fortgezüchtete Art unter der Fülle der Eindringlinge verschwindet. Nur dann, wenn die überwuchernde Art gerade die gesuchte ist, bietet dieser Verdrängung ihrer Konkurrenten sogar manchmal eine Möglichkeit, eine Art aus einem Gemische zu isolieren.

Ausgehend von der Voraussetzung, daß die verschiedene Leistungsfähigkeit des Darmes bei verschiedenen Personen, wie sie etwa in der Neigung zu Obstipationen ihren Ausdruck findet, nur eine Funktion der biologischen Leistungsfähigkeit des Colistammes sei, welcher als „Individualstamm“ den Darm der betreffenden Person bewohnt, wurde weiterhin der Versuch gemacht, dieses Überwuchern für die Praxis auszuwerten und therapeutisch zu verwenden (Roos¹). Es galt also, den Individualstamm einer Person mit einwandfreier Darmfunktion zu übertragen auf eine andere mit weniger befriedigender Darmtätigkeit, um so die Leistungsfähigkeit dieses Darmes zu erhöhen. Dies konnte geschehen und geschah so, daß zunächst der Individualstamm der gesunden Person isoliert und auf künstlichen Nährböden stark vermehrt wurde. Das erzüchtete Bakterienmaterial wurde lebend per os auf den Patienten übertragen. Daß

¹ E. Roos, Zur Behandlung der Obstipation. *Münchener med. Wochenschrift*, 1900. Bd. XLVII. Nr. 43. S. 1481—1485. — Derselbe, Zur Frage der intestinalen Autointoxikation und ihrer Bekämpfung. *Med. Klinik*. IX. Jahrg. II. Nr. 44. S. 1793—1796.

entsprechende Versuche von Roos und anderen außer mit *B. coli* auch mit sonstigen Bakterien angestellt wurden, wie das bei der von Metschnikoff in diesem Sinne gedeuteten Joghurttherapie der Fall ist, sei nur nebenbei erwähnt. Von einer Wiederholung des Verfahrens einerseits und von der Überwucherungstendenz des eingeführten Bakters andererseits konnte man erwarten, daß sie das Bakter in dem Darne zur Alleinherrschaft bringen und damit die Darmstörungen beheben würden.

Von ähnlichen Überlegungen ging Nissle¹ aus, als er den Versuch machte, die Verpflanzung von Colistämmen zur Verdrängung pathogener Darmbakterien zu verwenden, also eine regelrechte biologische Bekämpfung der pathogenen Bakterien durch die apathogenen einzuleiten. Dabei veränderte er das Verfahren der früheren Untersucher in mehrfacher Hinsicht. Als technische Verbesserung führte er ein, die Bakterien nicht mehr direkt zu verfüttern, sondern sie dann mit einer im Magen nicht, wohl aber im Dünndarme löslichen Substanz umhüllt (Geloduratkapseln) und so durch Verschlucken bei der kranken Person an die gewünschte Stelle übertragen und zur Ansiedelung gebracht. Viel wichtiger und von theoretisch wesentlichem Interesse war es, daß es sich in der Auswahl seiner Colistämme nicht nur auf die subjektive Beurteilung beschränkte, sondern daß er eine ziemlich gleichmäßig arbeitende experimentelle Wertbestimmung angab, nach welcher er die in Betracht kommenden Stämme prüfen konnte.

Die Methode dieser Wertbestimmung eines *B. coli* bestand darin, daß er einen Verdrängungsversuch im Reagenzglas anstellte und danach die Leistungsfähigkeit des betreffenden Stammes einschätzte. Er beimpfte dabei ein Röhrchen, das 5 ccm gewöhnliche Nährbouillon enthielt, mit einer Öse einer 24stündigen Bouillonkultur des als Testobjekt dienenden Typhusstammes, bebrütete das Röhrchen 7 Stunden lang und impfte es nach mit einer ebenso großen Quantität einer gleichfalls 24stündigen Bouillonkultur des zu prüfenden *B. coli*. Diese Mischkultur bebrütete er wiederum 14 Stunden lang und strich ein geeignetes beliebiges Quantum auf Platten aus. Die bei der Auszählung dieser Platten gewonnenen Zahlen für das Verhältnis der in der Mischkultur vorhandenen Typhus- und Colibakterien wurden dann so umgerechnet, daß die Zahl der Typhuskeime auf je 100 Colikeime ermittelt wurde. Diese Zahl bildet, unter der Bezeichnung als „Antagonistischer Index“, die Grundlage für den Vergleich verschiedener Colistämme. Je höher der antagonistische Index ist, desto wachstumskräftiger ist der betreffende Colistamm.

¹ Nissle, Über die Grundlagen einer neuen ursächlichen Bekämpfung der pathologischen Darmflora. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1916. XLII. Jahrg. S. 1181 bis 1184.

Mit einem solchen Stamme, welcher den antagonistischen Index 100 : 3 hatte, bei welchem im Ausstrich der Mischkultur also unter den mitgeteilten Zeitverhältnissen nur 3 Typhuskolonien auf 100 Colikolonien wuchsen, erhielt Nissle auch im therapeutischen Versuche gute Resultate. Aus diesem Grunde wurde der Gedanke, schädliche Bakterien biologisch zu verdrängen, auch der Praxis zur Heilung von Dauerausscheidern pathogener Darmbakterien in Gestalt des „Mutaflorverfahrens“ zugänglich gemacht, dessen Prinzip eben darin besteht, durch Einführung von reichlichen Mengen hochwertiger lebender Coli in Geloduratkapseln die Darmflora zu verändern, und zwar derart, daß nicht nur der Individualstamm des *B. coli*, sondern auch die im Darne angesiedelten pathogenen Bakterien verdrängt werden.

Angesichts des allgemeinen Interesses, welches diese Verdrängungsversuche mit dem Augenblicke gewonnen haben, wo sich auf ihnen therapeutische Maßnahmen aufbauen, seien im folgenden einige Gesichtspunkte zur rein biologischen Beurteilung der ihr zugrunde liegenden Vorgänge berührt. Wenn es dabei nicht möglich sein wird, zu einem abschließenden Bilde der in Betracht kommenden Fragen zu gelangen, so erklärt sich das weitgehend durch den aus dienstlichen Gründen, militärische Versetzung, erfolgten vorzeitigen Abbruch der erforderlichen Versuche.

Schon vor längerer Zeit angestellte Versuche¹ nach Art der Nissleschen hatten sehr überraschende Ergebnisse ergeben. Coliindividualstämme von angeblich stets von Darmleiden verschont gebliebenen, von vorübergehend darmkrank gewesen und von als Dauerausscheider pathogener Keime bekannten Personen wurden im Verdrängungsversuche geprüft. Man hätte nun erwarten sollen, daß die antagonistischen Fähigkeiten sich bei den Colistämmen der angeblich stets gesund gewesen Personen als besonders hoch, bei den Dauerausscheidern als besonders niedrig erweisen würde. Das war aber keineswegs der Fall, vielmehr befand sich unter den Coli der gesunden Personen einer, dessen antagonistischer Index mit zu den niedrigsten überhaupt gefundenen gehörte, und unter denen der Dauerausscheider fand sich einer, der nicht nur die gleiche Höhe des antagonistischen Index erreichte, wie der Nisslesche Heilstamm, sondern ihn sogar noch etwas überflügelte.

Es liegt auf der Hand, daß solche Versuchsergebnisse zu einer Unsicherheit über die Verlässlichkeit des Verdrängungsversuches führen müssen

¹ Diese Versuche waren im Herbst 1916 zur Nachprüfung des Nissleschen Verfahrens im Bakteriologischen Laboratorium des Kaiserlichen Militärgenesehauses und Seuchenlazarettes Spa (Belgien) in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Hermel Vorstand des Laboratoriums, angestellt worden.

und einen zu der Frage drängen, worauf denn eigentlich die nach den Nissle-schen therapeutischen Versuchen doch anscheinend tatsächlich vorhandene Heilwirkung seines Mutaflorstammes (weiterhin als *Coli Nissle* bezeichnet) beruht. Dabei wäre also zunächst zu ermitteln, wie überhaupt das Überwiegen einer Bakterienform über die anderen in den Mischkulturen zustande kommt, und im Anschluß daran wäre zu erörtern, ob der sonst so gut arbeitende Reagenzglasversuch tatsächlich ein Bild von den Vorgängen im Darne zu bieten vermag und ob vom biologischen Standpunkt aus dem Mutaflorverfahren eine günstige Prognose gestellt werden kann.

Das Überwiegen oder unter geeigneten Umständen sogar das alleinige Erhaltenbleiben nur einer Bakterienart in einer Mischkultur, welche anfänglich zwei verschiedene Arten enthielt, kann in verschiedener Weise begründet sein.

Zunächst kann das Überwiegen einer Art auf ihrer Fähigkeit zur Ausbildung besonderer Schutzstoffe beruhen, welche auf die konkurrierende Art als entwicklungshemmende Gifte wirken und ihr so die Möglichkeit zu freier Entwicklung nehmen. Beispiele derartigen Verhaltens sind in großer Anzahl bekannt, es sei in diesem Zusammenhang nur auf die Pyocyanausbildung des *B. pyocyaneus* und verwandter Erscheinungen hingewiesen.

Die Frage, ob bei den Verdrängungsversuchen das *B. coli* direkt eine toxische Wirkung auf das *B. typhi* auszuüben vermöge, ist bereits von Nissle in Angriff genommen worden. Er hatte zu diesem Zwecke Bouillonkulturen von *B. coli*, welche durch Erhitzen auf 56 Grad abgetötet waren, als Nährmedium für Typhusbakterien verwendet, und dabei gefunden, daß die Abwesenheit der Colibakterien keinerlei nennenswert hemmenden Einfluß auf die Entwicklung des Typhus auszuüben vermochten. Eine Wiederholung dieses Versuches mit den mir zur Verfügung stehenden Stämmen bestätigte diesen Befund vollkommen. Immerhin konnte aber bei der Art der Versuchsanordnung der Einwand erhoben werden, daß gerade durch die Erhitzung auf 56 Grad der Colikultur ihre toxische Wirkung genommen würde. Aus diesem Grunde wurde eine weitere Versuchsreihe angesetzt, bei welcher die Colikulturen nicht durch thermische, sondern durch chemische Eingriffe abgetötet wurden. Zu dem Zwecke wurden Colibouillonkulturen mit etwas Äther versetzt und nach wiederholter Durchschüttelung während einiger Zeit bei Zimmertemperatur gehalten; nach Ablauf dieser Zeit wurde sie für etwa 24 Stunden in den Brutofen übertragen und dort bei 37 Grad gehalten, bis der Äther restlos vertrieben war. Nachdem eine Sterilitätsprüfung ergeben hatte, daß die *Coli* völlig abgetötet waren, wurden die Röhrchen aufs neue mit *B. typhi* beimpft. Auch in derartig vorbehandelten Kulturflüssigkeiten ließ sich eine Hem-

mung des Typhuswachstumes, welche auch nur entfernt an diejenige in der lebenden Mischkultur erinnert hätte, nicht nachweisen. Insbesondere ergaben die nebeneinander angestellten Versuche mit abgetöteten Kulturen eines antagonistisch hochwertigen und eines antagonistisch schwachen Colistammes recht gleichartige Resultate, die keineswegs die enormen Differenzen, welche sich bei der Verwendung lebender Colikulturen herausgestellt hatten, wiederholten. Zu ähnlichen Resultaten scheint auch Langer¹ gelangt sein, welcher Bouillonkulturen antagonistisch starker und schwacher Colistämme durch Pukallfilter filtrierte und dann das bakterienfreie Filtrat mit Typhusbakterien beimpfte. Nach 24stündiger Bebrütung fand er durch Vergleich des Trübungsgrades, wie durch Auszählung, daß die Entwicklung der Typhusbakterien in der mit einem schwachen Colistamm vorbewachsenen Bouillon zwar intensiver war, als in der mit starkem Coli beimpft gewesenen, aber doch bei weitem nicht dem Verhältnis der antagonistischen Indices entsprach. Eine Wiederholung dieser Versuche war mir leider nicht möglich, doch geht aus Langers Angaben schon hervor, daß eine besondere Giftbildung nicht anzunehmen ist.

Eine direkte toxische Beeinflussung der Typhusbakterien durch die Colibakterien kann also in den Mischkulturen zum mindesten nicht allein für die Zurückdrängung der Typhusbakterien verantwortlich gemacht werden.

Der Versuch liegt nun nahe, das Überwuchern allein durch die Verschiedenheit der Wachstumsgeschwindigkeit zu erklären. Die verschiedene Größe, welche die Einzelkolonien verschiedener Colistämme auf einem festen Substrat bei sonst gleichen Bedingungen erreichen, scheint eine derartige Auffassung zu stützen. Wenn das der Fall wäre, so hätte man sich den Vorgang in der Mischkultur etwa so vorzustellen, als ob jede der beteiligten Bakterienarten unbeschadet der Anwesenheit der anderen sich zunächst in der gewöhnlichen Weise und gewöhnlichen Geschwindigkeit weiter entwickelte. Ein Colistamm mit großer Wachstumsgeschwindigkeit würde dann in der gleichen Zeit sich wesentlich stärker vermehrt haben, als ein Colistamm mit geringerer Wachstumsgeschwindigkeit. Im Gemisch würde naturgemäß mit der Zeit eine gegenseitige Störung der beteiligten Stämme stattfinden und demgemäß beide im Verhältnis ihrer Wachstumsgeschwindigkeiten gehemmt werden. Es müßte also, da bei den Verdrängungsversuchen der Typhusstamm stets der gleiche bleibt, ein Parallelismus bestehen zwischen dem Grade der Überwucherung im Verdrängungsversuche und

¹ M. Langer, Der antagonistische Index der Colibazillen. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1917. XLIII. Jahrg. II. Nr. 47. S. 1317—1320.

in der Kulturdichte in der Reinzucht. Die Bakteriendichte in der Reinkultur antagonistisch verschiedener Colistämme ist aber schätzungsweise auch nicht entfernt so verschieden, wie die Differenz ihrer antagonistischen Leistungsfähigkeit¹ es erwarten lassen würde — vorausgesetzt, daß Coli in analoger Erscheinungsform verglichen wurden. Nachdem schon Nissle Versuche mit ähnlichem Ergebnis angestellt hatte, wurden von Langer zahlenmäßige Angaben dafür beigebracht¹, aus denen ohne weiteres hervorgeht, daß der Antagonismus nicht allein durch Wachstumsdifferenz erklärt werden darf. Außerdem spricht auch die oft geradezu gewaltige Verschiedenheit der einzelnen, unter gleichen Bedingungen wachsenden Kolonien im Ausstriche eines Klonen dafür, daß die Wachstumsgeschwindigkeit von anderen Faktoren bestimmt wird und von der antagonistischen Leistungsfähigkeit unabhängig ist.

Bei der Aussicht nach weiteren Momenten, welche für die antagonistische Überlegenheit eines kräftigen *B. coli* über das *B. typhi* in Betracht kommen, wird sodann der Blick auf das verschieden große Vermögen der Zuckervergärung beider Bakterienarten gelenkt.

Das *B. typhi* besitzt eine erheblich geringere Gärfähigkeit für verschiedene Zucker, als das gewöhnliche *B. coli*; diese Verschiedenheit ist es ja auch, welche für die Erkennung von Typhusbakterien als erstes Hilfsmittel herangezogen wird, wenn das zu untersuchende Material im Ausstriche auf Indikator-Milchzucker-Agar geprüft wird. Es liegt nun nahe, diese Verschiedenheiten in der fermentativen Leistungsfähigkeit mit in Rechnung zu stellen und in dem größeren Gärvermögen des *B. coli* die Ursache zu erblicken, daß es in den meisten Fällen eine nicht unerhebliche Fähigkeit besitzt, das *B. typhi* zu überwuchern. Wenn das der Fall wäre, so müßten sich entsprechende Verschiedenheiten, wie zwischen dem gewöhnlichen *B. coli* und dem *B. typhi*, auch zwischen dem gewöhnlichen *B. coli* und weniger gärfähigen Colistämmen vorfinden. Daß sich die einzelnen Colistämme fermentativ außerordentlich verschieden verhalten, ist ja eine wohlbekannte Erscheinung. Sie tritt in der Praxis am augenfälligsten in dem Vorhandensein oder Fehlen der Gärfähigkeit gegenüber dem Milchzucker hervor. Nissle hat nun bereits den Versuch gemacht, durch Verwendung von Colistämmen von verschiedener Gärfähigkeit gegenüber dem Milchzucker, sowie auch gegenüber dem Traubenzucker, den Beweis zu erbringen, daß ein gewisser Parallelismus zwischen fermentativer Leistungs-

¹ In je 0.00005 cem einer 24stündigen Bouillonkultur fand er bei einem Stamme vom antagonistischen Index 100:10 die Keimzahl 290, bei einem vom Index 100:1500 nur 99 Keime; das entspricht einem Keimzahlverhältnis von rund 1:3 bei einem Indexverhältnis von 1:150.

fähigkeit und antagonistischer Leistungsfähigkeit besteht. Er bediente sich zu diesem Zweck seines als stark antagonistisch begabt bereits erkannten Colistammes einerseits und andererseits eines beliebigen, laktosedefektiven Colistammes, bzw. eines anderen Stammes, der Traubenzucker nur ohne Gasbildung zu vergären vermochte. In beiden Fällen ergab der Verdrängungsversuch eine Überlegenheit des antagonistisch hochwertigen Coli Nissle.

Diese Versuchsanordnung ist nicht geeignet, ein klares Bild von den tatsächlich herrschenden Verhältnissen zu geben. Aus dem Vergleich zahlreicher Verdrängungsversuche zwischen verschiedenen Colistämmen und dem gleichen Typhusstamme wissen wir, daß die einzelnen Colistämme ganz außerordentlich verschiedene antagonistische Fähigkeiten besitzen. Versuche mit verschiedenen Typhusstämmen haben gezeigt, daß zwar auch diese sich im Verdrängungsversuche als antagonistisch verschieden widerstandsfähig zeigen, daß aber im allgemeinen ein Colistamm der in Mischkultur mit einem Typhusstamme sich als besonders antagonistisch kräftig gezeigt hat, auch anderen gegenüber sich als antagonistisch stark erweist.

Es liegt nahe, aus der relativen Gleichförmigkeit des Verhaltens einzelner Colistämme gegenüber verschiedenen Typhusstämmen auch auf das Verhalten dieser Colistämme gegeneinander Schlüsse zu ziehen, und den in bezug auf Typhus ermittelten Index eines Colistammes als eine allgemein gültige relative Wertbestimmung anzusehen.¹ Wenn das der Fall ist, so müßte in Mischkulturen zweier antagonistisch verschiedener Colistämme der antagonistisch stärkere auch unter diesen Umständen überwiegen und den antagonistisch schwächeren verdrängen. Bei gleicher fermentativer Leistungsfähigkeit der betreffenden Colistämme würde sich das aber schwer erweisen lassen, da die direkte Unterscheidung auf Indikator-Zucker-Agar nicht möglich wäre. Die Prüfung in erneuten Verdrängungsversuchen mit pathogenen Keimen kann aber aus naheliegenden Gründen nur in unzureichendem Maße durchgeführt werden. Das veranlaßt ganz von selbst, die Vergleiche mit fermentativ verschiedenen Colistämmen anzustellen. Wenn nun ein beliebig fermentativ ungünstig gestellter Colistamm ebenfalls sich als antagonistisch schwächer erweist, so ist nach dem Gesagten erst noch der Be-

¹ Diesbezügliche Versuche über das Verhalten verschiedener Stämme verschiedenartiger pathogener Keime gegenüber bestimmten Colistämmen ergaben zunächst nur das Vorhandensein einer außerordentlich verschiedenen antagonistischen Widerstandsfähigkeit mancher der verwendeten pathogenen Keime gegenüber dem *B. coli*, ohne jedoch bisher zu einer definitiven Entscheidung über diese Frage geführt zu haben.

weis zu erbringen, daß es tatsächlich die geringere fermentative Leistungsfähigkeit ist, von welcher die antagonistische Inferiorität bedingt ist, und daß die antagonistische Überlegenheit nicht durch irgend etwas anderes zustande kommt, das nur zufällig bei dem in Rede stehenden Stamme mit der fermentativen Überlegenheit zusammentrifft. Eine sichere Entscheidung über den Zusammenhang von fermentativer und antagonistischer Leistungsfähigkeit würde sich dann erreichen lassen, wenn man Colistämme ausfindig machen könnte, welche sich nur in ihrem Gärvermögen unterscheiden.

Vollkommen läßt sich diese Forderung nicht erfüllen, denn es fehlen die Hilfsmittel zur Erkennung dieser Identität. Aber es stehen einem ja Colistämme zur Verfügung, welche in verschiedenen Pleonten sich fermentativ verschieden verhalten. Und bei diesen besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß bei ihnen tatsächlich nur eine Verschiedenheit der fermentativen Leistungsfähigkeit vorliegt, wennschon die Möglichkeit, daß unter Umständen auch andere biologische Eigenschaften bei der Abspaltung des abweichenden Pleonten geändert wurden, nicht von der Hand zu weisen ist.

Aus dieser Überlegung heraus wurden Verdrängungsversuche an- gestellt, bei welchen die den Milchzucker nicht vergärende „mutabile“ Form des *B. coli* und die dazu gehörige vergärende „Mutatum“-Form miteinander verglichen wurden. Naturgemäß mußte hierbei die Anordnung des Verdrängungsversuches dementsprechend abgeändert werden. Es ist in diesem Falle nicht möglich, die im Nissleschen Versuche zugrunde gelegte Zeitdifferenz in der Beimpfung der Röhren beizubehalten. Gegen den Vorsprung, welche eine 7 Stunden länger währende ungehinderte Vegetation dem fermentativ unterlegenen Pleonten geben würde, würde der fermentativ überlegene Pleont nur dann aufkommen können, wenn er eine ganz erhebliche antagonistische Überlegenheit besäße. Aus diesem Grunde wurden die beiden Beimpfungen gleichzeitig mit gleich großen Mengen gleich alter Bouillonkulturen der beiden Pleonten vorgenommen; wie beim Nissleschen Versuche wurden demnach die Versuchsröhren mit je einer Öse von je 24stündigen Bouillonkulturen der beiden Pleonten beimpft.

Bei Verwendung gewöhnlicher Bouillon ergab sich nun, daß beide Pleonten nahezu das gleiche Wachstum aufwiesen, und daß somit eine Abhängigkeit der antagonistischen Leistungsfähigkeit von der fermentativen nicht nachzuweisen war. Nach diesem Ergebnis wäre nun schon zu erschließen, daß der fermentativ ungünstiger gestellte Pleont eines antagonistisch starken Colistammes einem fermentativ reicher begabten Pleonten eines anderen antagonistisch schwächeren Stammes im Verdrängungsversuche überlegen sein müßte. Die hierüber begonnenen Versuche mußten

vorzeitig abgebrochen werden, doch sprachen die Vorversuche für die Richtigkeit der Überlegung.

Ein solches Verhalten wäre im Grunde genommen gar nicht so überraschend, denn das Verhalten des Stammes *Coli Nissle* gegenüber Saccharose ließ so etwas schon vermuten. Wie bereits bei früherer Gelegenheit mitgeteilt wurde, besitzt dieser Stamm nicht die Fähigkeit, Rohrzucker zu vergären. Unter den zahlreichen auf ihre antagonistischen Fähigkeiten untersuchten Colistämmen, welche bei weitem nicht so günstige Resultate im Verdrängungsversuche ergaben, und deren antagonistischer Index deshalb weit hinter demjenigen des *Coli Nissle* zurückblieb, befanden sich aber auch solche, welche die Saccharose zu vergären vermochten. Auch die Fähigkeit der Saccharosevergärung hat also keinerlei direkte Beziehung zu der Leistungsfähigkeit eines Colistammes im Verdrängungsversuche; und ähnliche Ergebnisse werden sich auch für die Gärfähigkeit anderen Zuckern gegenüber nachweisen lassen.

Ein anderes Gesicht bekommt die Frage dann, wenn man die Natur des im Versuche verwendeten Nährbodens mit in Rechnung stellt, Überlegungen, die auch Nissle bei Verwendung milchzuckerhaltiger Substrate angestellt hat.

Um einen Einblick darin zu gewinnen, welchen großen Einfluß der Nährboden auf den Ausfall des Versuches haben kann, wurden die Verdrängungsversuche, die vorher mit gewöhnlicher Bouillon angestellt worden waren, noch einmal wiederholt mit einer Bouillon, die 2 Proz. Milchzucker enthielt. Das Resultat war in diesem Falle ein ganz anderes, indem sich unter diesen Verhältnissen stets der laktosevergärende *Coli* dem laktosedefektiven überlegen erwies.

Daß etwas Derartiges sich ergeben würde, war von Anfang an vorauszusehen. Durch das Vorhandensein des Milchzuckers in der Bouillon war den Laktosespaltern ein vorzügliches Substrat geboten, welches den anderen überhaupt nicht zugänglich war. Die Laktosespalter befanden sich also unter ungleich günstigeren Lebensbedingungen und konnten sich daher rascher entwickeln als ihre laktosedefektiven Partner.

Es mag nun vielleicht ganz überflüssig erscheinen, ein solches Verhalten erst durch einen Versuch zu belegen. Und doch ist es vielleicht wünschenswert, sich von dieser Tatsache auch wirklich zu überzeugen, denn eine gewisse prinzipielle Bedeutung läßt sich dem Versuche nicht aberkennen.

Der Versuch in der Milchzuckerbouillon ergab sein vom gewohnten abweichendes Resultat bloß deshalb, weil der Nährboden eine Substanz enthielt, welche nur einem der beiden zu vergleichenden Bakterien

als Nahrungsstoff dienen konnte. Diese einfache Ursache hat als Grundlage für das weitere zu dienen.

Bis hierher wurde für die Verdrängungsversuche die gewöhnliche Nährbouillon als eine Art von indifferentem Nährboden angesehen. Das würde vielleicht berechtigt sein, wenn Bouillon ein völlig einheitliches Substrat wäre. Nun ist aber Bouillon ein überaus kompliziert zusammengesetzter Nährboden, der die verschiedenartigsten Substanzen enthält. Und unter den wichtigeren dieser Substanzen braucht nur eine zu sein, welche bloß von dem einen der zu vergleichenden Colistämme angegriffen werden kann, nicht aber von dem anderen, so steht man vor sachlich genau denselben Verhältnissen, wie sie in vergrößerter Form der Versuch mit dem Milchezuckerzusatz darbot. Es können also irgendwelche, im einzelnen nicht ohne weiteres greifbare Verschiedenheiten in der fermentativen Leistungsfähigkeit sein, welche den verschiedenen Ausfall eines Verdrängungsversuches bedingen.

Für die Ausdehnung einer solchen Auffassung auch auf die Verdrängungsversuche mit Typhus- und Colibakterien würde sprechen, daß ja schon bekannt ist, daß *B. coli* im allgemeinen auch weniger komplizierte Stickstoffverbindungen anzugreifen vermag, als das *B. typhi*. So könnte man sogar daran denken, das gewisse *B. coli* selbst noch Stoffwechselprodukte des *B. typhi* anzugreifen vermögen und so in der Mischkultur mit *B. typhi* verhältnismäßig reichere Energiequellen sich nutzbar machen können. Als Beleg dafür, daß ein solcher Gedanke nicht außerhalb des Bekannten liegen würde, darf vielleicht darauf hingewiesen werden, daß bei manchen Bakterien sogar eine direkte Wachstumsförderung durch die Stoffwechselprodukte anderer Arten beobachtet ist (verschiedene Kokken als „Ammen“ von Pneumokokken und Influenzabazillen). Genaue Versuche in dieser Richtung konnten noch nicht angestellt werden, so daß nur auf diese Möglichkeiten hingewiesen werden soll.

Nun ist das Substrat, in welchem das *B. coli* an seinem natürlichen Standorte, also im menschlichen Darms, vorkommt, keine Bouillon. Auch im Darminhalte finden sich zahllose verschiedene Nährsubstanzen, aber diese sind zum Teil ganz anderer Natur, als diejenigen der Nährbouillon, und überdies sind sie nicht relativ konstant, sondern je nach Ernährung und funktionellem Zustande des Darmes verschieden. Es ist also, schon rein vom Gesichtspunkte der vorhandenen Nährlösungen aus betrachtet, zum mindesten nicht ohne weiteres möglich, das Resultat eines Verdrängungsversuches im Bouillonröhrchen direkt auf die Vorgänge im Darm zu übertragen. Und so ist es auch verständlich, daß derjenige Colistamm, der von allen im Verdrängungsversuche untersuchten den höchsten antago-

nistischen Index besaß und in dieser Beziehung mit dem Heilstamme *Coli* Nissle ungefähr übereinstimmte, ausgerechnet gerade von einem chronisch Ruhrkranken stammte.

Es ist sehr leicht möglich, daß ein Colistamm im Darme eine überaus lebhafte Vermehrung erreicht, weil in dem umgebenden Medium irgendein chemischer Körper vorhanden ist, welcher entweder als Nährstoff direkt das Wachstum fördert oder welcher indirekt anregend auf den Stoffwechsel der Bakterien einwirkt, oder schließlich durch dessen Verarbeitung Schutzstoffe gebildet werden, welche die Vegetation anderer Bakterien hemmen. Derselbe Stamm, welcher sich im Organismus also als außerordentlich lebenskräftig erweisen würde, würde im Reagenzglasversuche in Abwesenheit der fraglichen Substanzen kein befriedigendes Resultat ergeben. Umgekehrt kann ein Stamm, der im Körper völlig versagt, im Reagenzglase bei anderen Ernährungsverhältnissen eine erhebliche Überwucherungstendenz zeigen, wie das eben der Vergleich des Heilstammes mit dem Colistamme eines Dauerausscheiders tatsächlich zu bestätigen scheint.

Das legt die Vermutung nahe, daß der Stamm *Coli* Nissle, dem nach den Angaben von Nissle in gewisser Beziehung eine Heilwirkung zukommt, nur zufällig gerade bei den Verdrängungsversuchen im Reagenzglase so gut abschnitt, daß er auf diesem Wege gefunden werden konnte.

Die Erwägungen über die Zweckmäßigkeit und Zuverlässigkeit der von Nissle angegebenen Methode zur Erkennung antagonistisch leistungsfähiger Colistämme verlieren für die Praxis an Bedeutung, wenn es auf irgendeine Weise gelungen ist, einen tatsächlich antagonistisch leistungsfähigen Colistamm zu isolieren. Aus diesem Grunde sei einmal von der Annahme ausgegangen, daß diese Aufgabe gelöst sei und daß der dem Mutaflorverfahren zugrunde liegende Colistamm in der Tat die von ihm erwarteten antagonistischen Fähigkeiten besitze. Es fragt sich nun also, ob ein solcher allen Ansprüchen genügender Colistamm wirklich in der Lage ist, mit den pathogenen Bakterien in einem Darme aufzuräumen.

Für den eigentlichen Darminhalt gelten naturgemäß ähnliche Bedingungen, wie sie den Verdrängungsversuchen zugrunde liegen. Frei im breiig-flüssigen Darminhalte lebende Bakterien werden also unter natürlichen Verhältnissen der Überwucherung in ähnlicher Weise ausgesetzt sein, wie im Reagenzglase. Die Verdrängbarkeit eines Colistammes durch einen anderen, antagonistisch tüchtigeren, ist also ohne weiteres als wahrscheinlich anzunehmen. Der tatsächliche Befund stimmt nach den Ergebnissen Nissles auch damit überein. Ein Gleiches wird sich auch für andere Bakterienarten erwarten lassen, welche in ähnlicher Weise im Darm leben.

Von den Erregern akuter Darmstörungen lebt aber nur ein geringer Teil der Individuen frei im Darminhalte. Die Mehrzahl, und zwar wohl gerade die Individuen, welche den befallenen Körper am schwersten schädigen, leben auf der Darmwand, im Schleim der Darmwand und auch in den Geweben der Darmwand selber. Die frei im Darminhalte liegenden Colibakterien kommen mit diesen pathogenen Keimen also kaum in direkte Berührung. Daß dem so ist, ergibt sich deutlich bei der bakteriologischen Ruhruntersuchung, bei welcher es geradezu möglich ist, Schleim- und Epithelfetzen so gründlich abzuspiülen und vom Darminhalte und seiner Coliflora zu befreien, daß man den Ruhrerreger, welcher in den Fetzen selber sitzt, unter Umständen fast in Reinkultur erzüchtet. In der Natur wird es dem Coli also nicht oder nur im beschränkten Maße möglich sein, die pathogenen Keime zu verdrängen, namentlich wenn diese, verborgen in Geschwüren oder Narbenbildungen, auch dadurch noch vor der Berührung mit dem Darminhalte weitgehend geschützt werden.

Noch sicherer ist der Schutz vor den Colibakterien dann, wenn der Hauptherd der pathogenen Keime gar nicht im Darne selbst zu suchen ist, sondern in der Gallenblase. Sind hier in der entzündlich veränderten Schleimhaut die pathogenen Bakterien angesiedelt, so vermögen ihnen die Coli kaum etwas anzuhaben, selbst dann, wenn sie ihnen etwa in die Gallenblase folgen sollten. Eine Verdrängung der Typhus- und Paratyphusbakterien, welche bei Stuhldauerausscheidern dieser Bakterien in der Regel in der Gallenblase ihren Sitz haben, ist also wenig aussichtsvoll. Außerdem ist stets damit zu rechnen, daß nicht nur in der Gallenblase, sondern auch in der Leber selbst die pathogenen Keime sich eingenistet haben, wie sie ja in mancherlei Organen — am augenfälligsten in solchen des uropoetischen Systemes bei Urindauerausscheidern — sich festsetzen. Weiter aber, als bis zur Gallenblase, dürfte es wohl kaum zu erwarten sein, daß sich die Coli ohne Gefahr für den Organismus ausbreiten. Wäre doch der Schritt von einem apathogenen Colistamme, der so tief im Inneren des menschlichen Organismus als harmloser Symbiont lebt, bis zum pathogenen, welcher seinen Träger selbst schädigt, nur ein außerordentlich geringer. Das Unterfangen, einen solchen, stark an den Menschen angepaßten symbiotischen Colistamm auf andere Personen zu übertragen, wäre recht gewagt und könnte nur zu leicht zur festen Niederlassung des Colistammes als Krankheitserreger führen, wie solcher pathogener Coli ja schon genug bekannt sind.

Die wichtigste Voraussetzung, welche für die künstliche Verdrängung ungewünschter Bakterien aus dem Darne, mögen es nun weniger leistungsfähige Individualstämme von Coli oder irgendwelche pathogene Arten

sein, gemacht werden muß, ist naturgemäß diejenige, daß die Bakterienformen ihre biologischen Fähigkeiten konstant beibehalten. Diese Voraussetzung ist so selbstverständlich, daß sie gar nicht erst ausdrücklich hervorgehoben, sondern als unumgängliche Grundlage ohne weiteres angenommen wurde, als ob sie ein unanfechtbares Axiom sei. Diese Voraussetzung ist aber falsch.

Wieder darf hier zunächst von der schon seit längerer Zeit bekannten Wandlung des Neisserschen *B. coli mutabile* ausgegangen werden, welches auf milchzuckerhaltigem Nährboden die ihm vorher abgehende Fähigkeit zur Milchzuckervergärung plötzlich erwirbt. Hier liegt also schon ein ganz augenfälliges Beispiel von Änderung physiologischer Eigenschaften vor. Praktisch bedeutungsvoll ist diese Änderung deshalb nicht, weil eine Vermehrung der fermentativen Fähigkeiten, um die es sich dabei handelt, ja die verdrängenden Eigenschaften höchstens vermehren würde. Nun hat aber bereits Massini gefunden, daß der milchzuckerspaltende Pleont eines solchen Colistammes in alten Kulturen dazu neigt, die Milchzuckervergärung wieder einzubüßen, wenn der Milchzucker im Substrate fehlt. Ein solcher Verlust fermentativer Fähigkeiten kann natürlich für die Praxis insofern erhebliche Bedeutung haben, als dadurch unter Umständen eine Herabsetzung der Lebensfähigkeit, eine Einschränkung der Existenzmöglichkeit, bedingt sein kann. Weiterhin habe ich bei einer früheren Gelegenheit¹ bereits mitteilen können, daß in einer Mischkultur von gewöhnlichen *B. coli* und *B. typhi* ein Teil der *B. coli* ihre Milchzuckergärfähigkeit verlor; diese defektive Form wuchs nach Art des *B. coli mutabile*, gewann also bei Zucht auf milchzuckerhaltigem Substrate nach einiger Zeit wieder die Fähigkeit zur Vergärung der Laktose zurück. Hier war es nicht eine Alterserscheinung, welche den Verlust einer physiologischen Eigenschaft bedingte, sondern die nur 12 Stunden lang währende Symbiose mit einer anderen Bakterienart genügte, um den Verlust auszulösen. Schließlich konnte ich beobachten, daß selbst der zur Diskussion stehende Nisslesche Heilstamm von *B. coli* nach 12stündiger Kombination mit *B. typhi* seine Fähigkeit zur Milchzuckerspaltung verlor; der dabei neu auftretende Pleont gehörte sogar zum Typus des *B. coli paracoli*, war also nicht imstande, seine alte fermentative Leistungsfähigkeit wieder zu erlangen. Und das fand statt ausgerechnet in einem Versuche, bei welchem der *Coli* mit demjenigen Bakter kombiniert war, dem gegenüber er seine antagonistischen Fähigkeiten in der Praxis ausüben sollte.

¹ H. Prell, Zur Kenntnis einiger defektiver Coliformen. *Zentralblatt für Bakteriologie usw.* I. Abt. Orig. 1917. Bd. LXXX. S. 225—242.

Nun ist die antagonistische Leistungsfähigkeit ja nicht abhängig von der fermentativen Begabung gegenüber Zuckern, und es wäre vielleicht denkbar, daß sich wohl in fermentativer, nicht aber in antagonistischer Richtung Veränderungen bei Bakterien vollziehen könnten. Aber auch diese Vermutung erweist sich als trügerisch, wenn man die Ergebnisse vergleicht, welche der Verdrängungsversuch mit einem frischen Colistamme und mit einem Deszendenten desselben Stammes ergeben, welcher lange Zeit nicht regelmäßig weiter geimpft worden war. Bei solchen alten Kulturen war der antagonistische Index ganz enorm gesunken und betrug beim Coli Nissle kaum noch den zehnten Teil seines früheren Wertes.

Von einer Konstanz der Bakterien im Reagenzglas kann also bestimmt nicht gesprochen werden.

Über das Verhalten im Körper liegen ebenfalls genügend Beobachtungen vor, welche gegen eine Konstanz der Darmbakterien sprechen. So konnte ich, wie schon bei früherer Gelegenheit mitgeteilt wurde, feststellen, daß bei Darmstörungen auf rein chemischer und sicher nicht bakterieller Basis eine Veränderung in der Wachstumsweise der gewöhnlichen laktose-spaltenden Coli auftrat. Und die Feststellung, daß bei bakteriell Darmkranken sehr häufig im Stuhl laktosedefektive Coli erscheinen, führte mich schon früher auf Grund der entsprechenden Reagenzglasversuche zu der Ansicht, daß eben die, durch die Anwesenheit der pathogenen Bakterien veränderten Lebensbedingungen im Darms es seien, welche das Vorkommen der abweichenden Coliformen bedingen. Die Tatsache, daß es in einem von Nissle mitgeteilten Falle gelang, den verwendeten Coli-Heilstamm noch 3 Wochen nach Abschluß der Behandlung zu isolieren und bei ihm den gleichen antagonistischen Index, wie zuvor, festzustellen, kann angesichts des Ausfalles der Reagenzglasversuche nicht allgemein gegen die Wandelbarkeit der antagonistischen Fähigkeiten geltend gemacht werden.

Also auch in der Natur wird durch die Umwelt die Eigenart eines Bakterienstammes beeinflußt, und ein Colistamm, der bei einer Person sich als überaus kräftig erweist, braucht seine Fähigkeiten bei der anderen deshalb noch keineswegs beizubehalten. Es ist also stets damit zu rechnen, daß die mangelhafte Leistungsfähigkeit eines Colistammes in einem Darms nicht nur an dem Colistamme selbst liegt, sondern primär begründet ist in dem Milieu, in welchem er lebt. So erklärt es sich, daß bei den Versuchen von Roos zur Bekämpfung der Obstipation die Leistungsfähigkeit der eingeführten Bakterien allmählich verloren ging. Daß die gleichen Veränderungen auch beim Coli Nissle vor sich gehen können, dafür spricht seine Inkonzanz im Reagenzglasversuche. Dabei ist noch besonders hervor-

zuheben, daß beim Colistamm Nissle in der ersten Zeit eine Abspaltung von laktosedefektiven Nebenformen nicht zur Beobachtung gelangte, sondern erst nach längerer Kultur im Laboratorium — eine gewisse Parallele zu dem allmählichen Nachlassen der Wirksamkeit des Coli im Obstipationsheilversuche. Auch bei den Mutaflorkapseln, welche für die praktische Anwendung des Mutaflorverfahrens in den Handel gebracht werden, wird also eine längere Aufbewahrung vermutlich die Konstanz des Heilstammes erniedrigen, selbst wenn vorausgesetzt wird, daß durch geeignete Kulturmethoden das Ausgangsmaterial stets auf gleicher Höhe gehalten wird, ein Faktor, der ebenfalls in Rechnung zu stellen wäre.

Die Bedeutung, welche der Wandelbarkeit der Bakterien durch die Einwirkung der Umwelt zukommt, beschränkt sich nun keineswegs auf die Fälle, wo zu Heilzwecken individualfremde Colistämme in den Organismus eingeführt werden. Es hat vielmehr den Anschein, als ob derselben ein grundlegender Einfluß auf die Entstehung von Darmkrankheiten überhaupt zukommt.

Unendlich viel häufiger, als man denkt, dürften pathogene Darmbakterien den menschlichen Körper passieren, und insbesondere bei den Personen, welche beruflich mit Darmkranken zu tun haben, wird es an Gelegenheit zur Aufnahme pathogener Keime trotz aller Vorsicht nicht mangeln. Trotzdem ist die Zahl der tatsächlich zustande kommenden Infektionen im Verhältnis zur Infektionsmöglichkeit recht gering. Ganz allein auf die bakterientötenden Fähigkeiten des Magens ist das kaum zurückzuführen. Es scheint vielmehr, daß auch eine gewisse Disposition vorhanden sein muß, damit sich die pathogenen Bakterien ansiedeln können; es sei denn, daß die pathogenen Keime, wie es naturgemäß auch gelegentlich, aber viel seltener, vorkommt, gleich in gewaltigen Mengen dem Körper einverleibt werden und deshalb ohne weiteres darin Fuß fassen können.

Augenscheinlich besteht ein gewisses Wechselverhältnis zwischen dem Zustande des Darmes und den Colibakterien, welche seinen Inhalt durchsetzen. Solange der Darm gesund ist und in seinem Inneren Verhältnisse herrschen, welche als „normal“ anzusehen sind, gedeiht auch der Individualstamm des *B. coli* in dieser Umwelt in „normaler“ Weise. Er tritt dann in einer wachstumstüchtigen Form auf, welche durch ihr lebhaftes Wuchern etwa in den Darm gelangten individualfremden Bakterien, die ja meist nur in geringer Zahl eingeführt werden, mögen sie nun apathogener oder pathogener Natur sein, die Existenzmöglichkeit raubt. Im „normalen“ gesunden Darms wird also ein „normales“ *B. coli* die Darmflora absolut beherrschen und andere Bakterien an der Ansiedelung verhindern.

Dieser Gleichgewichtszustand wird gestört, wenn durch äußere Einflüsse irgendwelcher Art der Darm in einen Reizzustand versetzt wird. Hierdurch wird die Umwelt für das *B. coli* geändert. Und die direkte Beobachtung hat gelehrt, daß diese Änderung der Umwelt auch eine Wandlung des *B. coli* und seiner Aufspaltung in verschiedenen Formen zur Folge haben kann.

Die Anwesenheit verschiedener Bakterienformen, ganz gleichgültig, ob sie auf die gleiche Ausgangsform zurückgehen oder nicht, führt nun von selbst zu einer Art von Zersplitterung der verdrängenden Fähigkeiten, und unter diesen Umständen wird es dann zufällig gerade im Darm anwesenden fremden Bakterien möglich sein, sich stark zu vermehren. Gehörten diese fremden Bakterien einer pathogenen Art an, so werden sie, wenn sie erst in hinreichender Menge vorhanden sind, auch den Darm selbst in Mitleidenschaft ziehen und so den Beginn der eigentlichen Krankheit einleiten können.

Primär wäre also in manchen Fällen von Darminfektion eine kleine Darmreizung oder -störung auf beliebiger Grundlage; durch sie würde nur die individuelle Darmflora verändert werden. Sekundär könnte sich dann eine pathogene Bakterienform, die zufällig im Darme anwesend war, erheblich vermehren; und erst so käme durch die feste Ansiedelung des pathogenen Bakters und durch die damit in Verbindung stehende Zerstörung lebender Gewebe oder Bildung giftiger Substanzen die eigentliche Erkrankung zustande.

Mit dieser Anschauung würde sich beispielsweise das Auftreten von Rezidiven bei Ruhrkranken gut vereinigen lassen. Man braucht sich nur vorzustellen, daß die Ruhrerreger nach Ablauf der Krankheit noch in geringer Zahl im Darme vegetieren — wie das ja der bakteriologische Befund oft genug zu bestätigen vermag. Und erst, wenn ein äußerer Umstand den Darm und seine Flora verändert hat, vermögen sich die Dysenteriebakterien wieder so zu vermehren, daß sie neue Darmteile angreifen können. Die Heilung des akuten Krankheitsfalles wäre dann nicht in der verdrängenden Tätigkeit der apathogenen Darmbakterien zu suchen, sondern etwa in der serologischen Reaktion des Körpers selber. Und damit ließe sich wieder gut vereinigen, daß durch die krankmachenden Bakterien selbst ja ein formwandelnder Einfluß auf das *B. coli* ausgeübt wird, wie die Mischkulturen es lehrten. Es ist also kaum anzunehmen, daß durch die neuerliche Überwucherung des *B. coli* das pathogene Bakter verdrängt wird, vielmehr wird es in der Regel dem *B. coli* erst nach dem Abklingen der Krankheit und nach Verschwinden der pathogenen Bakterien wieder möglich sein, allmählich durch Überwucherung der Nebenformen zur

„normalen“ Form zurückzukehren und so auch „normale“ Bedingungen im Darne wieder herzustellen.

Ist nun unter dem Einflusse der Erkrankung die tüchtige Coliform ganz verloren gegangen und gelingt es dem *B. coli* nicht, durch neuerlich auftretende Wandlungen wieder in die alte Form zurückzuschlagen, so kann es mancherlei anderen Bakterien gelingen, nach Ablauf der eigentlichen Darmkrankheit sich im Darne festzusetzen und, ohne selbst im engeren Sinne krankmachend zu sein, die Rückkehr des Darmes zum völligen Normalzustande zu verhindern. Hierher wären die überaus häufigen Überschwemmungen des Darmes mit Staphylokokken und Streptokokken, mit Bakterien der *Proteus*-Gruppe und anderen Bakterien zu rechnen, welche insbesondere nach Ruhrerkrankungen auftreten. Solche tertiäre Infektionen, die manchmal ruhrähnliche Erscheinungen zur Folge haben, können nun augenscheinlich durch das Wiederauftreten der „normalen“ Coliform zum Verschwinden gebracht werden. Ist der *Coli*-Individualstamm zur Rückkehr in die Normalform nicht imstande, oder war er von Anfang an nur wenig leistungsfähig, so wird in solchen Fällen die Neueinführung einer entsprechenden Form, wie das etwa der Mutaflor-Heilstamm zu sein scheint, therapeutisch von gutem Erfolge begleitet sein, und diese Besserung wird um so tiefgreifender sein, je weniger das eingeführte Bakter zu neuen Wandlungen neigt, eine Vermutung, welche in späteren Versuchsergebnissen von Nissle¹ eine Bestätigung findet.

Die Annahme, daß eine Veränderung in der Darmflora als Vorbedingung für die Infektion und als Grundlage für ihren weiteren Verlauf beim Abklingen der Erkrankung anzusehen sei, weist der Wandelbarkeit des *B. coli* eine ganz erhebliche praktische Bedeutung zu.

Die Neigung der einzelnen Colistämme zur Abspaltung von Pleonten ist verschieden groß. Davon kann man sich mühelos überzeugen, wenn man eine Reihe verschiedener Colistämme im Dauerbebrütungsversuche auf ihre Aufspaltbarkeit prüft. Je mehr nun ein Colistamm dazu neigt, abweichende Pleonten abzuspalten, desto größer ist auch die Wahrscheinlichkeit, daß er in antagonistisch untüchtigere Formen übergeht. Im ganzen müßten also Personen, deren Individualstamm eine große Wandelbarkeit besitzt, auch anfälliger gegen Darmkrankheiten sein, als solche, deren Individualstamm weniger leicht wandelbar ist — vorausgesetzt, daß die antagonistischen Fähigkeiten bei beiden zunächst ungefähr gleich seien. Diese Überlegung, welche den Ausgangspunkt einer genaueren Beschäftigung mit der Wandelbarkeit des *B. coli* bildete, drängte sich mir auf, als es nach

¹ A. Nissle, Die antagonistische Behandlung chronischer Darmstörungen mit Colibakterien. *Med. Klinik*. Jahrg. 1918. Nr. 2.

den ersten Versuchen über die biologische Verdrängung galt, für den gleichartigen Ausfall des Reagenzglasversuches mit dem Individualstamme eines Dauerausscheiders und mit dem Nissleschen Mutaflorheilstamme eine Erklärung zu finden. Und in der Tat zeigte sich in diesem Falle, daß der Stamm Coli Nissle außerordentlich wenig zur Abspaltung neigte, während der andere derjenige war, welcher am schönsten die Entstehung weiterer Pleonten aufwies. Die Fortsetzung der Versuche hat dann diese ersten, überraschend bestätigenden Ergebnisse nicht in dem Maße gestützt, daß sich ein völlig eindeutiges Resultat ergeben hätte. Ist es doch auch ohne weiteres verständlich, daß die Erkennung von besonders für infektiöse Darmkrankheiten „anfälligen“ und gegen solche „widerstandsfähigen“ Personen sehr dem subjektiven Ermessen unterliegt und vor allem Widerstandsfähigkeit und erworbene Immunität kaum auseinander zu halten sind. Außerdem ist die Zahl der Faktoren, welche bei den Versuchen in Rechnung zu stellen sind, zu groß und in ihrer Bedeutung noch zu wenig bekannt, als daß die günstigsten Versuchsbedingungen sich ermitteln und in ihrer erforderlichen Gleichheit innehalten ließen. So kann hier nur auf diese Richtung der Untersuchung hingewiesen und die Hoffnung ausgesprochen werden, daß eine spätere Verfolgung dieser Fragen von anderer Seite eine Klärung bringen wird.¹

¹ Weitere Probleme ergeben sich dann, wenn man die Tatsache mit in Rechnung stellt, daß es ja nicht nur die Coli bakterien sind, von denen der Ausfall des Verdrängungsversuchs bestimmt wird, sondern in ganz gleicher Weise auch die beteiligten pathogenen Bakterien, und daß auch die Wandelbarkeit nicht auf das *B. coli* beschränkt ist, sondern sich in ähnlicher Weise auch bei den pathogenen Keimen einstellen kann.

Die Umwelt, in welcher im Darne die Colibakterien leben, scheint bei verschiedenen Personen individuell verschieden zu sein. Sie kann so verschieden auf die Coli einwirken, daß ein Colistamm, welcher bei der einen Person in irgendeiner Richtung, etwa obstipationslösend, überaus wirksam ist, bei einer anderen diese Fähigkeit allmählich verliert, wie er sie auch unter ungünstigen Lebensbedingungen im Reagenzglase verliert.

Wenn Ähnliches auch für pathogene Bakterien gilt, so wäre damit zu rechnen, daß es virulenzsteigernde und virulenzschwächende Personen gibt, daß also bei einer ursprünglich einheitlichen Epidemie doch etwa bei späteren Einzelfällen verschieden virulente Bakterienstämme isoliert werden und die Fälle selbst verschieden schwer sein können, je nachdem die Infektion bei denselben von der einen oder von der anderen der früher erkrankten Personen ausging. Für die Epidemien als solche wäre das von geringerer Bedeutung, wohl aber kann es eine erhebliche Rolle bei den Personen spielen, bei denen sich die pathogenen Keime an prädisponierten Stellen, wie in entzündlichen Epithelveränderungen, die von der gleichen oder einer anderen Bakterienart verursacht sind, dauernd ansiedeln. Bei solchen „Bazillenträgern“ wären naturgemäß die Bakterien ganz besonders dem Einfluß der Umwelt ausgesetzt;

Noch in einer ganz anderen Richtung können schließlich die Überlegungen gehen, welche eine Deutung für den Vorgang im antagonistischen Versuche zu geben bestrebt sind, und auch dieser Weg sei im folgenden kurz bezeichnet.

Bei zwei verschiedenen Methoden der Versuchsanordnung konnte Nissle die Verdrängung der Typhusbakterien durch geeignete Colistämme beobachten. Die eine, später angewandte und seinen Hauptversuchen zugrunde liegende, ist die eingangs kurz geschilderte. Die andere, später verlassene und in seiner Arbeit nur nebenher berührte, weicht davon ganz erheblich ab. Diese letztgenannte Methode bestand darin, daß er gleichaltrige, filtrierte Bouillonkulturen von *B. typhi* und *B. coli* in einem bestimmten Mengenverhältnis miteinander mischte und dann ausstrich. Auf der Endoplatte wuchsen dann beide Komponenten nicht in dem Zahlenverhältnis der Kolonien, wie es nach dem direkten Zahlenverhältnis der Bakterien in den vermischten Kulturen zu erwarten war, sondern die *B. coli* überwogen. Der Grad des verschieden großen Überwiegens der einzelnen Colistämme war dabei ebenfalls nicht von einer verschiedenen Dichte der Ausgangskulturen bedingt. Diese Methodik wurde von Nissle weiterhin verlassen, „da die Endoplatte den Ort der Konkurrenz zwischen Coli- und Typhusbakterien darstellt“ und die technische Ausführung aus verschiedenen Gründen zu schwierig war; an ihre Stelle trat die andere, bei welcher „der Antagonismus der Bakterien in Bouillonröhrchen verlegt wurde“.

Bei der Wiederholung ließ sich das Nisslesche Ergebnis über das Zahlenverhältnis von Typhus- und Colikolonien im Ausstrich der gemischten Bouillonkulturen bestätigen und ebenso die Tatsache, daß das Überwiegen der Coli nicht in der von Anfang an größeren Dichte der Colikultur begründet ist, sondern erst durch die Mischung selbst hervorgerufen wird. Der Versuch ist insofern als prinzipiell anders und von den bisher

die von den Bazillenträgern verursachten Epidemien würden also verschieden schwer ausfallen können. Weiterhin wäre es auch möglich, daß die pathogenen Keime im Körper sie abschwächender Personen ihre äußeren Kennzeichen, fermentatives und serologisches Verhalten, verändern, so daß sie schwer nachweisbar werden und vielleicht auch an Virulenz erheblich verlieren. Die zufällige Übertragung eines solchen abgeschwächten Krankheitserregers auf eine virulenzsteigernde Person würde ihm dann unter Umständen seine alte Virulenz wieder erteilen können. Oder eine Virulenzsteigerung im Organismus des Bazillenträgers selbst unter dem Einfluß irgendwelcher äußerer, die Umwelt des pathogenen Keimes verändernder Faktoren — analog der Coliwandlung bei nicht bakteriellen Darmstörungen — würde dann imstande sein, den lange unschädlich gewesen und vielleicht sogar unerkannt gebliebenen Bazillenträger ganz plötzlich wieder zum Ausgangspunkte neuer Erkrankungsfälle zu machen.

besprochenen Verdrängungsversuchen im Bouillonröhrchen abweichend anzusehen, als es sich dabei nicht um irgendwie begründete Wachstumsverschiedenheiten handeln kann, da eine Vermehrung der Keime überhaupt nicht mehr in Betracht kommt. Die Colikultur muß also einen direkten Einfluß auf die Typhuskultur ausüben.

Um eine Giftwirkung, derart, daß durch Stoffwechselprodukte der Coli die Typhusbakterien geschädigt würden, kann es sich nicht handeln, sonst würde nicht ein erheblicher Teil der Typhusbakterien völlig ungeschädigt in der gemischten Kulturflüssigkeit leben können, und auf der Endoplatte später völlig normale Typhuskolonien ergeben. Überdies wäre es dann schwer vorstellbar, daß in den Mischkulturen die Typhusbakterien nicht relativ rasch völlig aussterben, sondern selbst nach langem Stehenlassen der Kulturen meist noch in geringer Zahl nachgewiesen werden können.

Unter den Umständen drängt sich einem der Gedanke auf, daß es sich bei der Verdrängung der Typhusbakterien nicht um eine Beseitigung derselben, sondern nur um eine Art von partieller „Ausfällung“ derselben durch die Colibakterien handeln möge. Analog den Verhältnissen, wie sie die sogenannte Spontanagglutination aufweist, bei welcher trotz Fehlens eines agglutinierenden Serums es zu einer Verklebung der Bakterien kommt, wenn etwa die Kultur mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wird, so kann man auch in den gemischten Kulturen von Typhus- und Colibakterien an das Auftreten von Verklebungserscheinungen denken.

Es liegt auf der Hand, daß man, wenn durch irgendwelche in den Colikulturen enthaltene Substanzen eine Verklebung der Typhusbakterien verursacht wird, die Zahl der Ausgangspunkte von Typhuskolonien verringert wird; genügt doch schon ein Verkleben von jeweils zwei Bakterien untereinander, um die Zahl der entstehenden Kolonien auf die Hälfte herabzusetzen. Danach besteht also direkt die Möglichkeit, daß der Plattenausstrich ein völlig falsches Bild von dem Zahlenverhältnis der beteiligten Bakterienarten der gemischten Kulturen gibt. Außerdem kann auch an eine Verklebung von Coli- und Typhusbakterien gedacht werden, bei welcher mehrere der feineren Typhusbakterien an einem Colibakter haften bleiben. Daß etwas Derartiges nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen ist, lehrt die Möglichkeit, durch Adsorption an Kaolin die Colibakterien aus einem Typhus-Coligemische auszufällen (Michaelis). Gelangen aber ein Coli- und ein Typhusbakter unmittelbar nebeneinander auf die laktosehaltige Endoplatte, so wird die Deszendenz des Coli wegen ihrer, auf der Fähigkeit der Laktosespaltung beruhenden größeren Wachstumsenergie rasch die Typhusdeszendenz überwuchern und eine scheinbar einheitliche Coli-

kolonie würde entstehen. Selbst durch sorgfältiges Ausstreichen wäre es dann nicht leicht, die Doppelnatur der Kolonie aufzuklären, eine Tatsache, welche einem ja gelegentlich auch bei sonstigen Mischkulturen, insbesondere von *Coli* und *Paratyphus B*, begegnet und ihren Ausdruck in den manchmal großen Schwierigkeiten findet, welche sich der Isolierung und Reinzüchtung des pathogenen Bakters entgegenstellen.

Wie dem auch sei, die Möglichkeit einer solchen Verklebungstheorie zur Erklärung des Antagonismus zwischen *B. coli* und *B. typhi* in Mischkulturen führt zu ernststen Bedenken in Bezug auf die Methodik der Verdrängungsversuche zur Auffindung von Colistämmen, die zur biologischen Bekämpfung von pathogenen Bakterien geeignet sein sollen, und letzten Endes auch zu Bedenken in Bezug auf das Mutaflorverfahren selbst. Denn wie in der gemischten Kultur, kann auch in der eigentlichen Mischkultur ein entsprechender Verklebungsvorgang statthaben, und wenn im frischen Darminhalte ebenfalls eine Verklebung eintreten könnte, so wäre damit der Nachweis von Typhusbakterien außerordentlich erschwert. Vielleicht lohnt es sich, an einer mit reicheren Hilfsmitteln ausgestatteten Stelle diese Überlegungen experimentell aufzugreifen.

Wenn man nach den mitgeteilten Erwägungen und Versuchen sich ein vorläufiges Bild von der Natur und der voraussichtlichen praktischen Bedeutung der biologischen Bekämpfungsmethode pathogener Darmbakterien durch geeignete Colistämme machen will, so kommt man zu dem folgenden Ergebnis.

Eine Fähigkeit, pathogene Keime zu überwuchern, ist bei den verschiedenen Colistämmen in verschiedenem Grade vorhanden. Die Gründe für diese Überwucherungsfähigkeit oder antagonistische Leistungsfähigkeit sind noch nicht bekannt. Sie beruhen augenscheinlich nicht auf bloßer Verschiedenheit der Wachstumsgeschwindigkeit oder auf der Bildung von Schutzsubstanzen. Sie geht auch nicht parallel der größeren oder geringeren Gärfähigkeit für Zucker. Ob sie dagegen von einer größeren oder geringeren Befähigung zur Spaltung von Stickstoffverbindungen abhängig ist, oder ob die antagonistische Leistungsfähigkeit noch anders begründet ist, muß dahingestellt bleiben.

Der Reagenzglasversuch vermag kein vollständiges Abbild von den Vorgängen im Darne zu geben. Die Unterschiede in der Umwelt, insbesondere was die als Nährsubstanzen zur Verfügung stehenden Stoffe anlangt, sind zwischen Darminhalt und Nährbouillon zu groß.

Ihre volle Wirksamkeit kann die antagonistische Leistungsfähigkeit nur dann entfalten, wenn es sich um echte Mischkulturen handelt. Ihre Bedeutung wird herabgesetzt, wenn lokale Verhältnisse oder abweichende

Lebensweise die zu verdrängenden Bakterien vor den überwuchernden *Coli* schützen.

Der Nachweis eines im Reagenzglasversuche antagonistisch hochwertigen *Colistammes* bei einem chronisch Ruhrkranken zeigt somit, daß entweder die Ruhrbakterien wegen der Art ihrer Lebensweise vom *B. coli* nicht verdrängt werden können, oder daß der Reagenzglasversuch ganz andere antagonistische Vorgänge darbietet, als sie tatsächlich im Darme zustande kommen.

Schließlich ist die antagonistische Leistungsfähigkeit eines Bakters, wie andere physiologische Eigenschaften, keineswegs konstant, sondern kann durch äußere Bedingungen abgeändert werden. Es wäre also einerseits daran zu denken, daß die verdrängende Fähigkeit im Körper auch abhängig ist von der größeren oder geringeren Neigung der *Colistämme*, abweichende *Pleonten* abzuspalten, derart, daß spaltbare Stämme auch leichter ihre antagonistische Fähigkeit einbüßen. Andererseits erheben sich aus der Tatsache der Wandelbarkeit gewisse Bedenken gegen die praktische Anwendung der Methode, weil dadurch eine gleichartige Wirkungsweise bei verschiedenen Personen nicht unwesentlich an Wahrscheinlichkeit verliert.
