

Aus der Dermatologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin. (Dirigierender Arzt: Prof. Buschke.)

Ueber die Lebensdauer und anaerobe Züchtung der Gonokokken.³⁾

Von Prof. Dr. A. Buschke und Dr. E. Langer.

Die experimentelle Forschung der letzten Jahre hat uns bei einer beträchtlichen Anzahl von Infektionskrankheiten in ihrer Erkennung und damit auch in ihrer besseren therapeutischen Angreifbarkeit ein gutes Stück vorwärts gebracht. Zu denjenigen Krankheiten aber, bei denen wir noch recht weit von der tieferen Erkenntnis der biologischen Eigenschaften entfernt sind, gehört in erster Linie die Gonorrhoe. Schon die große Anzahl der zur Züchtung der Gonokokken angegebenen Nährböden, die Schwierigkeiten, den Erreger lebensfähig durch Fortzüchtung zu erhalten, die bis auf kleine Anfänge stets mißlungene Uebertragung auf Versuchstiere⁴⁾, unsere geringe Kenntnis der angeborenen und erworbenen Immunität bei Gonorrhoe⁵⁾ sind genügende Beweise dafür, wie gering unsere Kenntnis dieses für uns so wichtigen Bakteriums ist, und zeigen uns den Weg, auf dem wir unbedingt weiterarbeiten müssen, wenn es auch im allgemeinen den Eindruck macht, als ob man, entmutigt durch die immer wieder negativen Versuchsergebnisse, nachgelassen hat, sich mit dem Gonokokkus zu beschäftigen.

³⁾ Demonstration am 11. I. 1921 in der Berliner Dermatologischen Gesellschaft. — ⁴⁾ Finger, Ghon und Schlagenhauser, Arch. f. Derm. u. Syph. 33. — ⁵⁾ L. Nikolaysen, Zbl. f. Bakt. 22 1897 S. 305.

Zwei Dinge sind es, die der besonderen Mühe wert sind: Erstens mehr von seinem biologischen Verhalten zu erfahren, und dadurch zweitens unter Umständen die Möglichkeit zu bekommen, den Gonokokkus endlich auf Versuchstiere übertragen zu können, was uns aller Wahrscheinlichkeit nach auch in unserem doch bis jetzt recht bescheidenen therapeutischen Vorgehen gegen die Gonorrhoe vorwärts bringen würde.

Im allgemeinen wird zur Fortzucht der Gonokokken neben einer Reihe anderer angegebenen Nährböden Serum-, Aszites- oder Blutagar bevorzugt. Uns hat sich besonders der letztere in einer Zusammensetzung von $\frac{1}{3}$ Blut und $\frac{2}{3}$ Agar recht gut bewährt.

J. Koch¹⁾ betont ausdrücklich, daß die Gonokokken auf diesen Nährböden am üppigsten und reichlichsten bei Luftzutritt gedeihen. Dabei fällt einem jeden aber immer wieder die große Empfindlichkeit des Kokkus gegen äußere Einflüsse (Temperatur, Austrocknung usw.) und gegen Schwankungen in der Nährbodenzusammensetzung, insbesondere sein Verhalten bei Veränderungen des Feuchtigkeitsgehaltes der Kulturplatten auf. Aber auch unter günstigen Verhältnissen ist seine Lebensdauer recht beschränkt; und es ist im allgemeinen kaum möglich, ihn länger als 10–14 Tage am Leben zu erhalten; darüber hinaus gelingt es nur bei besonderen Vorsichtsmaßregeln, ein Umstand, der gerade für unser experimentelles Arbeiten besonders hinderlich erscheint. Es muß daher unsere Aufgabe sein, einen Nährboden fertigzustellen, auf dem wir die Gonokokken beliebig lange Zeit erhalten können, der ferner durch seine günstigen Ernährungsbedingungen dem Gonokokkus auch die Empfindlichkeit gegen äußere Einflüsse, besonders gegen die Temperaturschwankungen, die gerade in der heutigen Zeit eine große Rolle bei der Brutschrankzucht spielen, nimmt und auf dem wir weiterhin seine kulturellen Lebensbedingungen denen im menschlichen Körper weitmöglichst anpassen können.

Schon Thalmann²⁾ fand, daß die Gonokokken nicht zugrundegehen, wenn man sie im Serumröhrchen auch lange Zeit hindurch bei Zimmertemperatur stehen läßt. Diese Bemerkung Thalmanns scheint in der Folgezeit wenig beachtet zu sein. Diejenigen, die flüssige Nährböden benutzten, nahmen dazu im allgemeinen ein Gemisch von Serum oder Aszites mit Bouillon, und zwar zu gleichen Teilen wie in den festen Agarnährböden.

Auch Ficker³⁾ erwähnt in dem Lehrbuch der Mikrobiologie von Friedberger und Pfeiffer 1919 nur diese flüssigen Nährböden, bemerkt jedoch, daß auf allen künstlichen Medien die Gonokokken sehr vergänglich und unter günstigen Verhältnissen alle 5–8 Tage umzuimpfen sind. Das Wachstum des Gonokokkus sei ein hauptsächlich aerobes, in der Tiefe der Substrate gehe es nur spärlicher vor sich.

Morax⁴⁾ empfiehlt Aszites-Agarschüttelkulturen, in denen sich bei Brutschranktemperatur die Gonokokken über ein Jahr halten sollen, und zwar gehe das Wachstum in den oberen Schichten vor sich. Nach diesem Verfasser ist anzunehmen, daß das lange Leben bleiben bei Brutschranktemperatur durch eine zwar langsame, aber ständig fort dauernde Vermehrung an der Oberfläche zustandekomme. Bei Temperaturen von 5–15° stirbt der Kokkus in 3–9 Tagen ab. Die anaerobe Züchtung der Gonokokken dagegen ist bisher recht wenig erprobt worden.

Lumière und Chevrotier⁵⁾ erwähnen, daß sie durch Ueberschichten ihres flüssigen Nährbodens mit Vaselineöl oder durch Züchtung im Vakuum recht günstige Erfolge gehabt haben. Sie konnten feststellen, daß sie auf diese Weise die Kulturen bei langsamem Wachstum als gewöhnlich mindestens 4 Monate am Leben erhalten konnten. In größerem Umfange mit anderen Bakterien und nur in wenigen Versuchen mit Gonokokken erprobte Ungermann⁶⁾ die Anaerobiose. Er fand bei anaerobem Kulturverfahren sowohl für die Gonokokken wie auch andere Bakterien — seine Hauptversuche hat er mit Meningokokken gemacht, die er bei Abschluß seiner Arbeit schon bis zu 16 Monaten lebensfähig und überimpfbar gehalten hatte — günstige Resultate. Wir haben speziell für den Gonokokkus die anaerobe Züchtung, deren Technik weiter unten angegeben wird, weiter beobachtet und an einer größeren Anzahl von Stämmen günstige Resultate erhalten. Bei Beginn dieser Versuche, welche ich zuerst mit meinem jetzt erkrankten Assistenten, Dr. Viktor Baranowski, anstellte, hat uns Ungermann in dankenswerter Weise unterstützt. Während Ungermann zu seinen Meningokokkenzüchtungen mit Paraffin. liquid. überschichtetes, eine halbe Stunde auf 60° erhitztes Kaninchenserum in verschiedenen Konzentrationen — reines Serum und Verdünnungen mit Kochsalz im Verhältnis 3:1, 2:2, 1:3 — und für die Gonokokkenstämme einmal konzentriertes, das andere Mal 75%iges Kaninchenserum benutzte, gebrachten wir unverdünntes, eine halbe Stunde auf 60° erhitztes Menschen Serum, das wir bequem aus den Serumresten gewannen, die von der Wa.R. übrigblieben.

Ehe wir auf unsere Resultate eingehen, sei erwogen, welche Umstände es denn sind, die das anaerobe Verfahren den Plattenkulturen gegenüber aussichtsreicher erscheinen lassen. Wir finden bei den künstlichen Nährböden, daß die Bakterien nach einer gewissen Zeit zugrundegehen, und können dieses entweder darauf zurückführen, daß die Nährstoffe des Kulturbodens erschöpft sind,

oder aber, daß die Bakterien durch ihre giftigen Stoffwechselprodukte vernichtet werden. Speziell für den Gonokokkus nehmen Lumière und Chevrotier an, daß die schädliche Substanz, die zur Vernichtung der Kultur führt, ein Oxydationsprodukt der Ektotoxine des Kokkus ist; da einmal reiner Sauerstoff nicht schädlich wirkt, andererseits Ektotoxine, von alten Kulturen auf frische gebracht, zum Absterben derselben führen. Wir möchten in Uebereinstimmung mit Ungermann für die Schädigungen, die die Plattenkulturen erfahren, das Unnatürliche für die Bakterien, das in diesem Kulturzustande liegt, verantwortlich machen. Auf der Platte müssen die Einzelindividuen, die ja auch bei den Bakterien ein ganz verschiedenes langes Leben führen, in dicht zusammengedrängten Kulturen unter Verhältnissen leben, wie es die pathogenen Bakterien nicht gewöhnt sind. Wir müssen bei unseren Kulturverfahren nicht danach trachten, den aeroben Bakterien ein Maximum von Sauerstoff zu geben, sondern gerade das Optimum, das zum Weiterleben und zur Fortpflanzung notwendig erscheint.

Nach Kruse⁷⁾ müssen wir bei den gewöhnlichen aerophilen (Meyer⁸⁾) Lebewesen den Sauerstoff nicht „als Kontaktkörper“ betrachten, dessen Menge gleichgültig ist und bei dem auch die noch geringste Menge wirksam ist, sondern „als einen Stoff, der nur in demselben Verhältnis das Leben ermöglicht, als er verbraucht wird, und dessen Menge dabei erfahrungsgemäß nicht unter einer gewissen, recht beträchtlichen Größe liegen darf“. Wo aber im allgemeinen dieses Optimum liegt, bei dem der Gleichgewichtszustand von Sauerstoffzufuhr und -verbrauch erreicht ist, läßt sich heute noch ebenso wenig sagen, wie etwas über die Wirkung des Sauerstoffmangels bei aerophilen Bakterien, worüber einschlägige Untersuchungen bisher fehlen. Mit Bezug auf den Sauerstoffmangel meint Kruse in seiner Mikrobiologie: „Man weiß nur, daß die Bakterien beim Aufhören der Sauerstoffzufuhr nicht wachsen, ob sie aber in ähnlicher Weise wie höhere Tiere und Pflanzen an dem Sauerstoffmangel ersticken, ist nicht untersucht.“

Meyer⁹⁾ glaubt, daß man wenigstens das Minimum der Sauerstoffkonzentration für die Keimung bestimmen könne, und zwar deutet er es als diejenige Menge, bei der zwar die Keimungstätigkeit, „die Aktion“, erlischt, aber Keimungsfähigkeit, „Potenz“, erhalten bleiben kann. Wenn wir nun Bakterien, insbesondere in unserem Falle den Gonokokkus, unter Luftabschluß in reinem menschlichen oder tierischen Serum züchten, so ist damit ja nicht gesagt, daß wir die Sauerstoffkonzentration dem Minimum nähern. Vielleicht stellt sogar die Sauerstoffmenge, die im Serum enthalten ist, bei den sonst so empfindlichen und auf Oberflächenkulturen kurzlebigen Gonokokken dem Optimum viel näher als der Sauerstoffüberschuß, den wir beim Plattenverfahren den Bakterien zuführen. Durch die Züchtung unter Luftabschluß wählen wir nur Verhältnisse, die denen im menschlichen Körper weit mehr angepaßt sind. Besonders gilt dies für die im Gewebe sitzenden Gonokokken. Die meisten pathogenen Keime leben doch im allgemeinen niemals im Körper auch nur unter annähernd so oberflächlich gelegenen Verhältnissen wie auf der Kultur. Warum sollte es möglich sein, daß sich Keime im Körper jahre- ja jahrzehntelang lebensfähig erhalten und an der von ihnen gewählten Ruhestelle liegenbleiben, ohne zugrundezugehen (vgl. Buschke: Ueber die Lebensdauer von Typhusbazillen in ostitischen Herden. Fortschr. d. M. 1894 Nr. 17: 7 Jahre im Knochengewebe lebende und virulente Typhusbazillen.), wenn sie einen größeren Ernährungsanspruch machen würden als auf diejenigen Stoffe, insbesondere die Sauerstoffmenge, die ihnen nur durch die Körperflüssigkeiten zugeführt wird?

Aus dieser Ueberlegung heraus, daß wir, wenn auch in recht grober Form, bei der Züchtung im Serumröhrchen unter Luftabschluß die Verhältnisse im Kulturverfahren denen im menschlichen Körper etwas weiter nähern als im Plattenverfahren, und in der Annahme, daß es gerade der Ueberschuß an Sauerstoff, das dadurch bedingte schnelle Wachstum und das dicht gedrängte Zusammenleben der Einzelindividuen in der Oberflächenkultur sind, die schädlich wirken, aus dieser Ueberlegung haben wir uns entschlossen, Gonokokken unter Luftabschluß zu züchten, und haben dabei analog den Erfahrungen Ungermanns bei den Meningokokken und seinen einzelnen Versuchen mit anderen Bakterien sehr günstige Resultate erhalten. Soweit sich die einschlägige Literatur übersehen ließ, ist diese Art der Züchtung bei Gonokokken, aber auch bei anderen Bakterien, außer bei den genannten Autoren, vorher nicht angewandt worden.

Rosenthal¹⁰⁾ empfiehlt, wenn man aerobe Bakterien anaerob züchten wolle, dabei langsam, wie in einem wirklich biologischen Verfahren, vorzugehen und die Bakterien erst langsam an den neuen Lebensmodus zu gewöhnen, während wir in unseren Kulturanlagen die Bakterien direkt vom aeroben in den anaeroben Nährboden übertragen haben.

Die Technik des Serumröhrchenverfahrens unter Luftabschluß ist denkbar einfach. Man benötigt dazu folgende Dinge:

1. Reagenzgläser, am besten kurze, wie sie für die Wa.R. benutzt werden.
2. Serum, das, wie oben erwähnt, aus den Resten, die von der Blutentnahme zur Wa.R. übrigbleiben, genommen wird.
3. Steriles Paraffin. liquid. zum Ueberschichten.
4. Kapillarpipetten zur Ueberimpfung. Gerade auf die Benutzung dieser an Stelle der Platinösen möchten wir auf Grund eigener schlechter Erfahrung mit der letzteren hinweisen. Es läßt sich sauberer

¹⁾ Gonorrhoe, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kollie und Wassermann. Jena 1912. — ²⁾ Zbl. f. Bakt. 27 u. 31. — ³⁾ Lehrbuch der Mikrobiologie von Friedberger und Pfeiffer, Jena 1919. Die pathogenen Kokken. — ⁴⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur 32 1918 p. 471. — ⁵⁾ C. r. Acad. des Sciences 1914 p. 1820. — ⁶⁾ Arb. Kais. Ges. A. 51 1918 S. 180.

⁷⁾ Allgemeine Mikrobiologie Leipzig 1910. — ⁸⁾ Zbl. f. Bakt. Orig.-Bd. 49 I. Abtlg. 1909 H. 3. — ⁹⁾ Zbl. f. Bakt. Orig.-Bd. 49 I. Abtlg. 1909 H. 3. — ¹⁰⁾ C. r. de la soc. biol. 1906 No. 25

und bequemer der Impfstoff aus dem einen Röhrchen ins andere übertragen und steriler arbeiten, während man durch die Oesen viel leichter die Röhrchen verunreinigt.

In die Reagenzgläser werden ca. 2–3 ccm Serum getan, in dieses die Bakterien übertragen, mit Paraffin liquid. überschichtet und dann das Röhrchen in den Brutschrank bei 37° gebracht.

Im allgemeinen benutzten wir nur Gonokokken von frisch angelegten Reinkulturen auf Blutagar zur Ueberimpfung auf die Serumröhrchen, in letzter Zeit sind wir auch dazu übergegangen, direkt aus der Harnröhre Eiter in die anaëroben Röhrchen zu übertragen. Wir haben im ganzen 43 Röhrchen angelegt und haben bisher, außer in den wenigen Fällen, in denen wir durch eigene Schuld die Serumröhrchen verunreinigten, gute positive Resultate gehabt. Unsere ältesten Kulturen sind am 26. VIII. 1920 angelegt. In den ersten Versuchen mit Baranowski war die älteste Kultur 4 Monate und 4 Tage alt. Wir arbeiten noch heute nach immerhin 12 Wochen mit ihnen bei neuen weiteren Versuchen, über die an anderer Stelle berichtet werden wird. Wir verzichten darauf, von jedem Stamm lange Tabellen über die ausgeführten Kontrolluntersuchungen zu bringen. Unsere Kulturen haben wir, solange wir das Verfahren erproben, alle 8 Tage auf Blutagar übertragen und durch Gram-Färbung kontrolliert; jetzt, seit wir diese Züchtungsart für genügend erprobt erachten, werden die Kulturen, von denen wir die Dauer ihrer Lebensfähigkeit feststellen wollen, alle 2–3 Wochen nachgeprüft, die übrigen vor der Benutzung zu experimentellem Arbeiten.

Unsere Ergebnisse mit diesem Züchtungsverfahren sind nun folgende: Die meistens beim Verreiben der Kultur oder des frischen Eiters — es werden 2–3 Oesen übertragen — auftretende Trübung verschwindet im allgemeinen bald, und die Röhrchen werden wieder klar; dabei bildet sich an der Grenze zwischen Serum und Paraffin ein feines, silbergraues Häutchen, während die Kuppe des Reagenzröhrchens mehr oder weniger reichlich krümeligen Inhalt enthält. Verunreinigte Röhrchen bekommen ein schmutzig-graugelbliches Aussehen und stinken bei Abnahme des Wattepropfens intensiv. Immerhin haben wir auch einzelne Fälle gehabt, in denen sich das Serum getrübt hat, im Gegensatz zu den mit Fäulnis verunreinigten Röhrchen aber nicht stinkt, und aus denen wir Gonokokken-Reinkulturen gezüchtet haben. Die Serumröhrchen, in die wir frischen Eiter übertragen, verhalten sich in ihrem Aussehen genau so wie die, die wir mit Reinkulturen beimpft haben.

Die Uebertragung auf feste Nährböden zur Kontrolluntersuchung geschieht mittels der Kapillarpipetten. Wir benutzten Serumagar, gewöhnlichen Agar und Blutagar und fanden auf allen drei Nährböden ein rasches, üppiges Wachstum in den typischen Formen der Gonokokkenkultur. Wir erhielten die kreisrunden, klaren bis leicht grau aussehenden, dabei durchscheinenden Kolonien von meistens leicht schleimiger Konsistenz, die bei stärkerem Wachstum sich zunächst berührten und dabei der Kultur ein „geriffeltes oder chagriniertes“ Aussehen verliehen, die aber in manchen Fällen auch zu grauweißlichen, schleimigen Bändern mit zackig abgerundeten Rändern zusammenflossen. Unter dem Mikroskop sahen die Kolonien blasig vorgewölbt, rund, scharf gegeneinander abgesetzt aus. Das besonders uns Auffallende war, daß die Gonokokken auch auf Agar vielfach angingen, — wir benutzten Schrägagarkulturen —, wenn auch mit etwas langsamerem Wachstum und nicht so üppig wie auf Blutagar, aber von demselben typischen Aussehen. Im Gram-Präparat erhielt man typische Gram-negative Gonokokken, teils von kleiner, schöner Bohnenform, teilweise aber auch besonders große, etwas längere und breitere, dabei bohnenförmig gebogene Kokken.

Wichtig war es natürlich, ganz besonders die Toxizität dieser anaërob gezüchteten Kulturen zu prüfen. Da die Versuche weiter ausgebaut werden und somit noch im Fluß sind, können wir hier nur folgendes Ergebnis mitteilen:

Die frisch angelegten Kulturen — 3–8–10 Tage nach ihrer Anlage — scheinen bis jetzt nicht den Grad von Giftigkeit zu besitzen wie ältere, bei denen wir fanden, daß die mit 1 ccm des Serums intraperitoneal gespritzten weißen Mäuse foudroyant erkrankten und in den meisten Fällen starben. Daß es sich bei den erwähnten Tierversuchen um eine Wirkung der Bakterien und nicht etwa ihrer Ausscheidungs- oder Zerfallsprodukte handelt, was man ja gerade bei älteren Kulturen annehmen könnte, werden wir nach Abschluß unserer weiteren Versuche an anderer Stelle zeigen können.

Wir nehmen daher auch an, daß die Vermehrung der Bakterien in den Serumröhrchen nur langsam stattfindet, sodaß man bei 3–4 Tage alten Kulturen zwar bei Ueberimpfung auf Blutagar üppig wachsende Reinkulturen erhält, bei Tierimpfung aber einen noch zu wenig Keime enthaltenden Impfstoff zur Verfügung hat und hierzu besser ältere, reichlicher Bakterien enthaltende Kulturen benutzt. Wahrscheinlich ist es uns, daß mit der langsamen Vermehrung auch die Dauerhaftigkeit dieser Kulturen zusammenhängt, im Gegensatz zu den Blutagarplatten, wo wir ein schnelles, üppiges Wachstum, dabei aber auch raschen Untergang haben.

Ein weiterer, sehr bedeutsamer Punkt, der ganz besonders die bessere Eignung unseres flüssigen Serumnährmediums gegenüber den festen Nährböden beweist, ist das Verhalten der Kulturen gegen Temperaturerniedrigung und Erhöhung. Im allgemeinen vertragen die Plattenkulturen nach der allgemeinen Erfahrung sehr schlecht sowohl die Erniedrigung wie auch die Er-

höhung auf längere Zeit. Um diese Differenzen an unseren Kulturen zu erproben, haben wir eine Anzahl Stämme bei kühler Zimmertemperatur (15–17°) am Fenster stehen lassen und haben im Laufe von 8 Tagen tägliche Kontrollabstriche auf Blutagarnährböden gemacht, die bei allen Stämmen jedesmal üppig und typisch wachsende Reinkulturen aufwiesen, ohne im Gram-Präparat bezüglich Färbbarkeit und Aussehen irgendwelche Abweichungen zu zeigen. Eine Temperaturerhöhung auf 41°, und zwar 10 Stunden lang, wurde von allen Stämmen ohne Störung ertragen. 4 ältere Stämme wurden einer weiteren Erhöhung von 52° ausgesetzt. Von ihnen zeigte einer bereits nach 1½ Stunden kein Wachstum mehr, während die andern bei Uebertragung auf Blutagar nach 1½, 3 und 7 Stunden als typisch aussehende Kulturen angingen, allerdings im Gram-Präparat Abweichungen zeigten. Die Gram-Färbung der 1½ Stunden auf 52° erwärmten gab noch ein gewöhnliches Bild, während bei den länger erwärmten schlechte Färbbarkeit und Degenerationsformen auftraten. Abgesehen von der beabsichtigten Prüfung der Reaktion auf die Temperaturdifferenzen waren gerade in den letzten Wochen unsere Kulturen des öfteren erheblichen Temperaturschwankungen durch den wechselnden Gasdruck im Brutschrank ausgesetzt, und zwar ziemlich plötzlichen Unterschieden von 30–42°, ebenso vorübergehender Abkühlung des Brutschrankes auf 25° durch Einstellen der Gaszufuhr. Diese Störungen machten für unsere Serumröhrchen nichts aus, während auf den festen Nährböden die Kulturen meist gar nicht angingen oder nur recht spärlich wuchsen.

Direkt mit Eiter haben wir bisher nur 6 Serumröhrchen beimpft und bei ihnen mit Ausnahme von 2, in denen daneben sich auch Gram-positive Kokken fanden, Reinkulturen gewonnen, wie es ähnlich auch Ungermann gelungen ist. Dabei sich findende Verunreinigungen mit anderen Bakterien stören aber das Wachstum der Gonokokken nicht, wie wir auch aus den mit Fäulnisregnern verunreinigten Kulturen durch mehrfaches Ueberimpfen Reinkulturen gewinnen konnten.

Schluß. Nach alledem scheint es uns, daß wir in dem angegebenen Verfahren die Möglichkeit haben, Gonokokkenkulturen auf lange Zeit lebensfähig und, was ja von besonderer Wichtigkeit ist, auch virulent zu erhalten. Die Uebertragung der Bakterien in das anaërobe Serumröhrchen ist unbedingt geeignet zur Herstellung von Dauerkulturen, während zur schnellen und vorübergehenden Kulturanlage, z. B. zum Zwecke der Diagnosenstellung, nach wie vor sich besser der feste Nährboden eignet. Vielleicht dürfte aber mittels des anaëroben Züchtungsverfahrens uns ein neuer Weg gegeben sein, auf dem wir im experimentellen Erforschen der Gonorrhoe einen Schritt vorwärts kommen würden, und damit wäre seine Brauchbarkeit und Geeignetheit erwiesen.