

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.]

Vergleichende Untersuchungen mit der Antiformin-, Ligroin- und Ellermann-Erlandsenschen-Methode zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum.

Von

Dr. Ernst Herzfeld.

Da häufig im Sputum Tuberkulöser trotz sorgfältigster Untersuchung überhaupt keine oder nur ganz vereinzelt Tuberkelbazillen gefunden werden, so hat man nach Mitteln und Wegen gesucht, sie im Sputum besser auffindbar zu machen. Schon wenige Jahre nach der Entdeckung des Tuberkelbacillus hat Biedert¹ eine Methode angegeben, die eine bessere Auffindbarkeit ermöglichen sollte. Diese hat sich bis jetzt mit einigen Modifikationen als brauchbar erwiesen. All diese Methoden sind sogenannte Anreicherungsverfahren, die im großen und ganzen auf zwei Prinzipien beruhen, dem der Homogenisierung und der Sedimentierung. Vielfach werden diese Verfahren kombiniert angewendet.

Eine Homogenisierung kann auf verschiedene Weise erreicht werden; Biedert,¹ Mühlhäuser,² Czaplewski³ und Nebel⁴ wenden hierzu die Alkalibehandlung an, und zwar die ersteren die Natronlauge, der letztere Kalkwasser. Sachs-Müke⁵ hält das Wasserstoffsuperoxyd hierzu für geeignet. Dahmen⁶ sucht durch Wärmewirkung, Spengler⁷ durch Anwendung eines Ferments (Pankreatin) die Homogenisierung zu erreichen, während andere Autoren, wie Stroschein,⁸ van Ketel⁹ und Abe¹⁰, wiederum chemische Substanzen anwenden.

¹ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1886. Nr. 42. 1887. Nr. 2. 1891. Nr. 2 u. 8.

² *Deutsche med. Wochenschrift.* 1891. Nr. 7.

³ *Zeitschrift f. Tuberkulose.* Bd. I.

⁴ *Archiv f. Hygiene.* Bd. XLVII.

⁵ *Münchener med. Wochenschrift.* 1906. Nr. 34.

⁶ *Ebenda.* 1891. Nr. 38.

⁷ *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 15.

⁸ *Mitteil. von Brehmers Heilanstalten.* 1889.

⁹ *Archiv f. Hygiene.* Bd. XV. ¹⁰ *Ebenda.* Bd. LXVII.

Von den genannten Methoden haben sich die Biedert-, Mühlhäuser-, Czaplewski- und Sachs-Mükesche am besten bewährt, von diesen beiden ist nach den quantitativen Untersuchungen von Mc Farland¹ dem Sachs-Mükeschen Verfahren der Vorzug zu geben.

Trotzdem geben diese Methoden praktisch noch nicht völlig befriedigende Resultate. Zurzeit sind es drei neue Verfahren, die man zur Diskussion stellen kann. 1. Die Untersuchung mit Antiformin nach Uhlenhuth, 2. das Ligroinverfahren und 3. die Untersuchung nach Ellermann und Erlandsen (Autodigestion, Doppelmethode).

Das Antiformin (eine Mischung von Eau de Javelle und Natronlauge, fertig im Handel zu beziehen als Antiformin D. R. P. durch Oskar Kühn, Berlin) wurde von Uhlenhuth² und Xylander³ ursprünglich als Desinfektionsmittel empfohlen, das die Eigenschaft hat, alle Mikroorganismen mit Ausnahme der säurefesten (Tuberkelbazillen, Timothee, Butter- und Smegmabazillen) aufzulösen. Ferner erreicht man mit ihm eine ziemlich vollständige Homogenisierung des Sputums. Über günstige Resultate mit ihm als Anreicherungsmittel berichten Uhlenhuth⁴, Carl Mayer⁵, Hüne⁶, Seemann⁷, Thilenius⁸, Lagrèze⁹ und Schulte.¹⁰

Vergleichende Untersuchungen von Bocchia¹¹ mit der Wasserstoff-superoxyd- und Antiforminmethode fallen zugunsten der letzteren aus.

Das zweitgenannte Verfahren besteht darin, daß nach der Homogenisierung des Sputums mit Kalilauge nach Lange und Nitsche¹², mit Antiformin nach Haserodt¹³ und Bernhardt¹⁴ und Durchschüttung mit einer geringen Menge Ligroin die Tuberkelbazillen infolge stärkerer Adhäsion zu den Kohlenwasserstoffen mit dem spezifisch leichteren Ligroin nach oben gerissen werden (Lange u. Nitsche). Die eben genannten Autoren, ferner Jacobson⁵ und von Scheven¹⁶, berichten über befriedigende Resultate.

¹ *Hygienische Rundschau*. 1908. Nr. 1.

² *Centralblatt f. Bakteriologie*. Bd. XLII. Beiheft.

³ *Berliner klin. Wochenschrift*. 1908. Nr. 29 und *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt*. 1908. Bd. XXXII. Heft 1.

⁴ *VI. Versammlung der Tuberkulose-Ärzte*. 1909. Mai.

⁵ *Tuberkulosis*. 1909. Bd. II.

⁶ *Hyg. Rundschau*. 1908. Nr. 18 u. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 41.

⁷ *Berliner klin. Wochenschrift*. 1909. Nr. 14.

⁸ *Ebenda*. 1909. Nr. 25.

⁹ *Deutsche med. Wochenschrift*. 1910. Nr. 2.

¹⁰ *Med. Klinik*. 1910. Nr. 5.

¹¹ *Bolettino Academia medica*. 1909. Parma. April.

¹² *Deutsche med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 10.

¹³ *Hygienische Rundschau*. 1909. Nr. 12.

¹⁴ *Deutsche med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 33.

¹⁵ *Soc. de Biologie*. 1909. 13. Novbr. ¹⁶ *Deutsche med. Wochenschrift*. 1909. Nr. 37.

Die Untersuchung nach Ellermann und Erlandsen¹ besteht in einer Autodigestion im Brutschrank mit nachfolgender Auflösung des noch übrig gebliebenen Bodensatzes mit verdünnter Natronlauge und darauf folgender Sedimentierung. Diese Methode, auch Doppelmethode genannt, ist bei uns in Deutschland leider noch nicht genügend bekannt. Kögel² hat sich ihrer mit gutem Erfolge bedient.

Da diese drei Anreicherungsverfahren von mir nebeneinander bei denselben Sputis häufig angewendet wurden, so konnte ich mir bald ein Bild von dem Wert der Methoden machen. Zunächst soll in folgendem die Methodik beschrieben werden.

1. Antiforminmethode.

Einer abgemessenen Menge Sputums wird etwa die gleiche Menge destillierten Wassers und so viel Antiformin zugefügt, daß wir eine 10 bis 15 prozentige Antiforminlösung erhalten. Die Masse wird mit der Hand in einer Schüttelflasche bis zur vollständigen Homogenisierung geschüttelt. Die homogenisierte Flüssigkeit wird dann entweder zentrifugiert oder in ein Spitzglas zum Sedimentieren gegossen. Aus dem Bodensatz werden Präparate hergestellt.

2. Die Ligroinmethode

(genau in der von Haserodt beschriebenen Weise).

Eine abgemessene Menge Sputums wurde mit der 3 bis 4 fachen Menge einer 5 prozentigen Antiforminlösung homogenisiert und dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dieser Zeit wird unter Zusatz von 1 bis 3 ^{cem} Ligroin und kräftigem Schütteln das homogenisierte Sputum mindestens 10 Minuten in einem Wasserbade von 60° gelassen. Es setzt sich dann eine dünne Schaumschicht auf der Oberfläche ab. Aus der Grenzschicht zwischen Schaum und Flüssigkeit wird dann mit der Öse Material zur Untersuchung genommen.

3. Die Ellermann-Erlandsensche Doppelmethode

(fast genau nach der Originalvorschrift).

1. Ein Volumensputum wird in einem verkorkten Meßglas mit $\frac{1}{2}$ Volumen 0.6 prozentiger Na_2CO_3 -Lösung vermischt. Die Mischung kommt etwa 24 Stunden lang (kürzere bzw. längere Zeit je nach der schleimig-eitrigen Beschaffenheit des Sputums im einzelnen Falle) in den Brutschrank bei 37°.

¹ Diese Zeitschrift. Bd. LXI.

² Deutsche med. Wochenschrift. 1909. Nr. 48.

2. Die obenstehende Flüssigkeit wird abgegossen, der Bodensatz noch einmal zentrifugiert und die dann noch übrig bleibende Flüssigkeit wiederum entfernt.

3. Zusatz von 2 bis 4 Teilen 0.25 prozentigen NaOH zu einem Volumen Bodensatz, Aufkochen der Flüssigkeit unter Umrühren.

4. Zentrifugieren, aus dem Bodensatz werden Präparate hergestellt.

Um mir zugleich auch zahlenmäßig ein Urteil über den Wert der drei Methoden zu verschaffen, stellte ich in einer Anzahl von Fällen bei denselben Sputis vergleichende Untersuchungen an. Am besten eignen sich hierzu Sputa mit geringem Bazillengehalt. Da derartige Sputa einem meist nur in hierfür zu geringen Quantitäten zur Verfügung stehen und bei besserem Ausfall einer Methode noch der Einwand erhoben werden kann, es sei zufällig eine reichlicher bazillenhaltige Menge verwendet worden, so wurden große Mengen bronchitischen Sputums mit wenigen Kubikzentimetern tuberkelbazillenhaltigen Sputum vermengt. Die beiden Sputumarten wurden in einem Teil der Fälle längere Zeit in der Reibschale miteinander verrieben, in einem anderen Teile mit Glasperlen tüchtig geschüttelt. In den Ausstrichpräparaten war, abgesehen von wenigen Fällen, in denen reichliche Bazillen sich fanden, entweder kein oder nur ein spärlicher Bazillengehalt zu verzeichnen. Durchweg wurden für jede der drei Methoden gleiche Mengen verwendet und zwar große Quantitäten (25 bis 60 ^{cem}).

Ich arbeitete folgendermaßen: Bei der Antiformin- und Doppelmethode je eine Öse Sediment, entsprechend bei der Ligroinmethode ein bis zwei Ösen Schaum wurden möglichst gleichmäßig über die Fläche eines Deckglases gestrichen. Fast in jedem Falle wurden von den einzelnen Verfahren je vier Deckgläser ausgestrichen und die Präparate vollkommen durchgezählt. Gefärbt wurde mit der von Pappenheim¹ angegebenen Corallin-Methylenblaumethode. In nachstehender Tabelle bedeuten die angegebenen Zahlen die in einem Präparat gefundene Anzahl Bazillen (Durchschnitt aus vier fast vollkommen durchmusterten Präparaten).

Durch diese vergleichenden Untersuchungen werden meine Resultate, die ich schon vor dem systematischen Auszählen der einzelnen Methoden erhielt, bestätigt. Ich fand stets, daß die Doppelmethode die beste, die Ligroinmethode die am wenigsten zuverlässige war. Mit letzterer erhielt ich keine bedeutend besseren Resultate als mit der Biedert-Mühlhäuser-Czaplewskischen. Angesichts dieser Zahlen muß auch der eventuell zu machende Einwand einer ungleichmäßigen Verteilung in diesen künstlich tuberkulösen Sputis fallen gelassen werden.

¹ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 37.

Tabelle.

| Sputum: | I. | II | III |
|----------|--|---------|---------------------|
| Lfd. Nr. | Antiformin | Ligroin | Ellermann-Erlandsen |
| | in 4 Präparaten durchschnittlich Tuberkelbazillen: | | |
| 1 | 0.5 | 0 | 2.5 |
| 2 | 1.25 | 1 | 3 |
| 3 | 26.25 | — | 42 |
| 4 | 13.75 | 4.25 | 218.25 |
| 5 | 32 | 4.5 | 59.75 |
| 6 | 132.5 | 11.0 | unzählig |
| 7 | sehr reichlich, aber bei weitem nicht so zahl- reich wie bei III | 35.6 | unzählig |
| 8 | 0 | 0 | 3.25 |
| 9 | 45 | 20 | unzählig |

Im Anschluß an die oben mitgeteilten Untersuchungen stellte ich noch einige Versuche mit dem schon erwähnten Abeschen Verfahren an (Homogenisierung mittels einer Lösung von 2^{grm} Sublimat, 10^{grm} Kochsalz in 1000^{cem} Aqua destillata). Wenn auch diese Methode bedeutend mehr leistet als das gewöhnliche Ausstrichpräparat, so fielen doch schon qualitative Untersuchungen zugunsten der Antiformin- und besonders der Doppelmethode nach Ellermann und Erlandsen aus.

Nach Vorstehendem glaube ich besonders die Antiformin- und Ellermann-Erlandsensche-Methode empfehlen zu können. Beide sind äußerst leicht ausführbar und zwar noch mit kleinen Quantitäten (etwa 3^{cem}). Trotzdem die Antiforminmethode bei weitem von der Doppelmethode übertroffen wird, so ist sie vom ärztlichen Praktiker, der daheim die Untersuchung machen muß, vorzuziehen, weil er für sie keinerlei Apparate (Brutschrank, Zentrifuge) gebraucht und das Zentrifugieren durch ein Absetzen im Spitzglas ersetzen kann.

Kliniken, Lungenheilstätten und Untersuchungsstationen kann die Doppelmethode nicht warm genug empfohlen werden, zumal man auch mit kleinen Mengen eine zu Untersuchungszwecken ausreichende Menge Sediment erhält. Bei solch kleinen Mengen ist es ratsam, das ganze Sediment zwischen zwei Objektträgern auszustreichen und die Präparate vollständig durchzusehen. Die Durchmusterung ist bequem und übersichtlich, da man im Gesichtsfeld nur einen weißen Untergrund und blau gefärbte Mikroorganismen sieht, wodurch die rot gefärbten Tuberkelbazillen besonders deutlich sichtbar werden. Ich möchte noch zum Schluß der Hoffnung Ausdruck geben, daß diesem vorzüglichen Verfahren in Zukunft auch bei uns mehr Beachtung geschenkt werde.