

II. Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.
(Direktor: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

**Experimentelle Beiträge zur Frage der
Typhusverbreitung durch Butter.**

Von Dr. Carl Bruck.

I.

Gerade in gegenwärtiger Zeit, in der unter Führung R. Koch's in grossem Maasse ein Kampf gegen den bei uns in manchen Gegenden noch stark verbreiteten Typhus abdominalis unternommen wird, dürften Untersuchungen am Platze sein, die uns nicht nur durch epidemiologische Forschungen, sondern auch auf experimentellem Wege Einblick in die Möglichkeit und Art der Verbreitung dieser Infektionskrankheit verschaffen.

Dass abgesehen von der Kontaktinfektion und dem hervorragenden Antheil der Trinkwasserinfektion, auch andere Nahrungsmittel und unter diesen wiederum hauptsächlich Milch- und Molkeerzeugnisse für die Typhusverschleppung in Betracht kommen, ist eine nicht mehr neue epidemiologische Erfahrungsthatsache. Ich verweise in dieser Beziehung auf die Beobachtungen von Rapmund¹⁾, Roth²⁾, Schmidt³⁾, Almquist⁴⁾, Pfuhl⁵⁾, Schlegendal⁶⁾, Wilkens⁷⁾ u. a., sowie auf die erst jüngst erschienene ausführliche Arbeit von Behla⁸⁾. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle beschäftigen sich die Autoren mit der Untersuchung der Milch auf Typhusbazillen, und zwar fast stets mit wenig Erfolg. Und doch kommt nach unserer Ansicht neben der Milch für die Frage der Typhusübertragung durch typhusinfizierte Molkeerzeugnisse in mindestens ebenso hohem Grade, ja ich möchte fast sagen, in noch höherem Maasse, die Butter in Betracht. Denn es ist klar, dass, wenn der Uebergang von Typhusbazillen aus infizierter Milch in Butter nachgewiesen ist, dies deshalb eine besonders grosse Gefahr bietet, weil dieses Nahrungsmittel im Gegensatz zur Milch fast ausschliesslich in rohem, ungekochten Zustande genossen wird. Deshalb kann unter Umständen die Butter noch gefährlicher werden, als die Milch, da bei letzterer der Consument selbst durch Kochen meist die Infektionsgefahr beseitigt.

Ueber die Frage, ob und wie lange Typhusbazillen sich in Butter lebensfähig erhalten können, liegen bereits verschiedene Arbeiten vor. Heim⁹⁾ und Laser¹⁰⁾, ferner Fraenkel und Kister¹¹⁾ haben die experimentelle Klärung der Frage über die Typhusvermittlerrolle der Butter, beziehungsweise der Buttermilch versucht. Indessen beschränken sich alle diese Arbeiten darauf, nachzuweisen, wie lange Typhusbazillen, welche von Reinkulturen stammen und den betreffenden Proben zugesetzt werden, dortselbst lebend nachgewiesen werden können. So gelang es Heim, aus Butter, zu der er 1½ Röhren frischer Typhusagarkultur zugesetzt und die er dann bei 13 bis 18° aufbewahrt hatte, Typhusbazillen nach drei Wochen, nicht mehr aber nach einem Monat zu isoliren. Laser fand bei einem ähnlichen Versuche in Butter, die er mit der gesammten Bakterienmenge von drei frischen Agarkulturen infiziert hatte, nach sieben Tagen keine Typhusbazillen mehr. Fraenkel und Kister beimpften 10 ccm roher Buttermilch mit 2, ½ und ⅓ Oesen Typhus und geben an, dass sie dann in den bei Zimmertemperatur gehaltenen Röhren nach drei Tagen, in den bei Bruttemperatur aufbewahrten schon nach 24 Stunden keine Typhusbazillen mehr nachweisen konnten.

Indessen entsprechen diese Versuchsanordnungen so wenig den natürlichen Verhältnissen, die zur Infektion verwandte Bakterienmenge ist in den ersten oben zitierten Versuchen eine so enorme, wie sie unter natürlichen Verhältnissen bei der Infektion von Butter niemals vorkommt, sodass sich bindende Schlüsse über die wirkliche Gefahr einer Butterinfektion in praxi aus diesen Versuchen kaum ziehen lassen. Auch Fraenkel und Kister sahen dies bereits

¹⁾ Zeitschrift für Medizinalbeamte 1887.

²⁾ Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege 1890.

³⁾ Dissertation Halle 1893.

⁴⁾ Zeitschrift für Hygiene 8.

⁵⁾ Festschrift zum Stiftungsfest der Friedrich Wilhelms-Akademie 1895.

⁶⁾ Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege 32, 2.

⁷⁾ Münchener medizinische Wochenschrift 1897.

⁸⁾ Klinische Jahrbücher 1902, Bd. X.

⁹⁾ Arbeit aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 1889.

¹⁰⁾ Zeitschrift für Hygiene Bd. X.

¹¹⁾ Münchener medizinische Wochenschrift 1898.

ein und geben diese Abweichung von den in Wirklichkeit vorliegenden Verhältnissen unumwunden zu. Es erklärt sich die in diesen Versuchen gewählte starke Aussaat indessen, wenn wir bedenken, dass sich mit den früheren Untersuchungsmethoden der Nachweis von Typhusbazillen in einem von anderen Bakterien überwucherten Nährmedium sehr schwierig gestaltete.

Wenn wir nun auch leider von einer idealen Untersuchungsmethode typhusverdächtigen Materials noch weit entfernt sind und vor allem noch eines bequemen Anreicherungsverfahrens entbehren, so ist doch in den letzten Jahren durch die Bemühungen R. Koch's die bakteriologische Typhusdiagnose zu einer weit leichteren und sicheren gestaltet worden, sodass man Typhusbazillen auch in geringerer Anzahl mit einiger Sicherheit isolieren kann. So setzt uns der v. Drigalski-Conradi'sche Lakmus-nutrosemilchzuckeragar, in Verbindung mit der spezifischen Wirkung des Typhusimmunserums, in den Stand, bei einiger Uebung die bakteriologische Typhusdiagnose viel leichter als früher zu stellen.

Auf Grund des verfeinerten Typhusbazillennachweises konnten wir daher daran gehen, die Frage der Typhusverbreitung durch Butter von neuem eingehend experimentell zu untersuchen. — Herr Professor A. Wassermann, dem ich auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank ausspreche, veranlasste mich daher, diese Frage unter möglichst genauer Nachahmung der natürlichen Verhältnisse einer Untersuchung zu unterziehen.

Meine Aufgabe bestand darin, nicht nur, wie in den bisherigen Versuchen nachzusehen, wie lange in Form von Reinkulturen zugesetzte Typhusbazillen sich in Butter halten können, sondern vielmehr im Laboratorium gleichsam einen kleinen Butterbereitungsbetrieb vorzunehmen und nun die in Nachahmung der natürlichen Verhältnisse in die Milch gelangten Typhuskeime auf ihrem gesammten Wege von ihrem Ausgangspunkte bis in die Butter bakteriologisch zu verfolgen. — Ueber die Frage, ob Typhusbazillen aus der Milch, in die Fettschicht, in die Sahne übergehen, fand ich nur in allerjüngster Zeit eine Bemerkung von Rabinowitsch anlässlich eines Referates im Centralblatt für Bakteriologie 1903, dass der Milch zugesetzte Typhusbazillen auch in der Sahnenschicht hätten nachgewiesen werden können.

Ehe ich zu der Schilderung meiner Versuche selbst übergehe, möchte ich vorausschicken, dass die Diagnose Typhusbazillen mittelst Kultur auf v. Drigalski-Conradi'schem Agar gestellt wurde; die verdächtigen Kolonien wurden abgestochen, mikroskopisch auf ihre Beweglichkeit und sodann mit hochverdünntem agglutinirenden Typhusimmunserum von hohem Titer (Aus-schaltung der Partialagglutinine; A. Wassermann) untersucht. In den besonders wichtigen Fällen, in denen es sich um die Infektion der Milch mit Stuhl von Typhuskranken handelte, wurden ausserdem stets noch die übrigen differential-diagnostischen Hilfsmittel (Gährungsprobe, Petruschky'sche Lakmusmolke etc.) zur Identifizierung herangezogen.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit noch erwähnen, dass ich auf Veranlassung von Herrn Professor A. Wassermann auch öfters Anreicherungsversuche mit typhusverdächtigem Material anstellte und zwar mit zweierlei Methoden, die sich im wesentlichen nicht von den von Windelband,¹⁾ Schepilewsky²⁾ und Altschüler³⁾ angegebenen unterscheiden. Auch ich versuchte durch Zusatz von agglutinirendem Serum die Typhusbazillen gleichsam zu concentriren und bediente mich dabei Röhrchen, die mir zu diesem Zwecke von der Firma F. & M. Lautenschläger angefertigt wurden, und wie sie inzwischen in ganz ähnlicher Weise von Altschüler beschrieben worden sind. Für die Untersuchung von typhusverdächtigter Butter und des Stuhles von Typhuskranken möchten wir auf Grund unserer Versuche vorläufig die Methode, wenigstens in der jetzigen Form, nicht sehr empfehlen. Es ist mir bisher unter zahlreichen Versuchen kein Fall von Typhusstuhl oder typhusinfizierter Butter vorgekommen, in welchem ich bei Zusatz von agglutinirendem Serum zu der Kultur des Untersuchungsmaterials die Typhusbazillen erhalten, ohne dass ich sie auch bei der direkten Aussaat des Materials auf v. Drigalski-Conradi'sche Platten nachgewiesen hätte. In einigen Fällen waren allerdings bei dem ersten Verfahren mehr Typhuskolonien als bei dem anderen auf den Platten nachzuweisen.

¹⁾ Russkij Wratsch 1902. — ²⁾ Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XXXIII, Heft 5. — ³⁾ Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XXXIII, Heft 9.

II. Experimenteller Theil.

Wie aus dem Vorgehenden erhellt, musste ich mir aus infizierter Milch selbst Butter herstellen und die Typhusbazillen bei der gesammten Bereitung verfolgen. Zu diesem Zwecke benutzte ich die in allen Haushaltsgeschäften käufliche v. Hünerdorf'sche Hausbuttermaschine, ein Glasgefäß, in welchem durch die rasche rotirende Bewegung zweier Flügel in wenigen Minuten aus Sahne Butter hergestellt werden kann. Der Vorgang war stets der, dass ich käufliche Milch infizierte, dann die Sahne zur Abscheidung brachte, diese auf Typhusbazillen prüfte und weiterhin aus der infizierten Sahne Butter machte. Die Aufbewahrung von Milch, Sahne und Butter geschah stets in der auch im Haushalt üblichen Weise, indem die betreffenden Produkte in bedecktem Gefässe bei gewöhnlicher Temperatur in ungeheiztem Raume aufbewahrt wurden. Der Weg, den meine Versuche nahmen, lässt sich in folgende Gruppen einteilen.

In der ersten Gruppe von Versuchen arbeitete ich mit Reinkulturen von Typhusbazillen, indem ich prüfte, ob die der Milch direkt zugesetzten Bazillen in die Sahne und von da in die Butter übergehen, und wie sich andererseits die Buttermilch verhält; fernerhin, wie lange Typhusbazillen nachgewiesen werden können.

In der zweiten Versuchsgruppe ging ich dazu über, mehr die natürlichen Verhältnisse nachzuahmen. Der Vorgang unter natürlichen Verhältnissen ist ja wohl meist der, dass nicht direkt in die Milch eine relativ grosse Aussaat von Typhusbazillen gelangt, sondern dass die Gefässe, in denen die Milch oder Sahne aufbewahrt oder in denen Butter bereitet wird, vorher mit typhusinfiziertem Wasser ausgespült worden sind. Infolgedessen verfuhr ich in der Weise, dass ich Wasser mit Typhuskultur infizierte, die Buttermaschine mit diesem Wasser ausspülte, das Wasser wieder ausgoss und nun in die mit typhusinfiziertem Wasser ausgespülte Maschine die Sahne zwecks Butterbereitung hineingab.

In der dritten Versuchsanordnung endlich näherte ich mich völlig den natürlichen Verhältnissen, indem ich nicht nur mit Typhusreinkultur, sondern mit Stuhl von Typhuskranken arbeitete, in welchem ich vorher die Krankheitserreger bakteriologisch nachgewiesen hatte. Auf diese Versuchsreihe dürfte wohl der allergrösste Werth zu legen sein, da jeder, der viel mit Typhusbazillennachweis gearbeitet hat, mir darin Recht geben wird, dass die im natürlichen Typhusstuhl vorhandenen bakteriellen Besonderheiten niemals durch das Arbeiten mit Reinkultur, also durch künstliches Vermengen der normalen Fäces mit Typhusbazillen, oder gar durch Arbeiten mit Reinkulturgemischen von Typhus- und Colibazillen ersetzt werden können. Ich ahmte also den natürlichen Vorgang der Butterinfektion mit Typhusbazillen in folgender Weise nach:

Ich beschmutzte Leinwandstücke mit geringen Mengen von Typhusstuhl, wusch diese Leinwandflecke in Wasserleitungswasser aus, spülte mit diesem Wasser die Buttermaschine aus, goss ab, butterte in derselben die Sahne und untersuchte nun die so erhaltene Butter auf Typhusbazillen.

Ich ahmte also, wie wir sehen, den Vorgang nach, dass in einer Molkerei durch Waschen einer durch Typhusdejectionen beschmutzten Wäsche etwas Typhusmaterial in einen Brunnen geräth, dass mit diesem Brunnenwasser die zur Butterbereitung dienenden Gefässe ausgespült werden, und suchte nun zu entscheiden, ob auf diese Art und Weise eine Butterinfektion stattfinden kann.

Der Ausfall dieser meiner Untersuchungen ergibt sich nun aus den folgenden Tabellen.

Tabelle I.

a) Uebergang von Typhusbazillen aus Milch in Sahne.

| | | | Befund an Typhusbazillen | | |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| | | | 1. Platte | 2. Platte | 3. Platte |
| Erster Versuchstag | 500 cem Vollmilch Reaktion amphoter infiziert mit 3 Oesen 24stündiger Typhus- agarkultur | Magermilch | Nicht isolirbar wegen Wachstums zu zahlreicher Bakterienkolonien | + | + |
| | | Sahne | | reichlich | reichlich |
| | Dasselbe mit 1 Oese | Magermilch | + | — | — |
| | | Sahne | Nicht isolirbar wegen Wachstums zu zahlreicher Bakterienkolonien | + | + |

NB. Am zehnten Versuchstage Typhusbazillen noch überall nachweisbar.

b) Uebergang von Typhusbazillen aus Sahne in Butter.

| | | T a g e | | | | | |
|------------------------------------------------------------------|-------------|----------------|-----------|---------------|---------------------------------|-----------------------|-------------------|
| | | 1. 2. | 3. 4. | 5. 6. | 7.—10. | 11.—27. ¹⁾ | |
| 500 ccm Sahne infiziert mit 1 Oese 24 stündiger Typhusagarkultur | Buttermilch | Typhusbazillen | + reichl. | + spärlich | + sehr spärlich | theils + theils — | stets — |
| | | Reaktion | amph. | sauer | stark sauer, Schimmelpilze | | |
| | Butter | Typhusbazillen | + reichl. | + spärlich | + spärlich | + theils reichl. | theils + theils — |
| | | Reaktion | amph. | schwach sauer | stark sauer, viel Schimmelpilze | | |

Wir sehen also aus den vorstehenden Tabellen, dass aus der mit Reinkultur infizierten Milch, bezw. Sahne die Typhusbazillen reichlich in die Sahne, bezw. Butter übergehen.

Tabelle II.

Versuche über die Infektion von Butter nach Ausspülen der zur Butterbereitung dienenden Gefässe mit Wasser, das mit Reinkultur von Typhusbazillen infiziert wurde.

| a. | | Vollmilch | Magermilch | Sahne |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------|-----------------|-----------|
| Centrifuge mit 500 ccm durch 3 Oesen Typhusbazillen infizierten Wassers ausgespült, völlig entleert u. mit 500 ccm frischer Milch gefüllt. | Es wurden in den nächsten Tagen Typhusbaz. gefunden. | + reichl. | + spärlich | + reichl. |
| dasselbe mit 1 Oese Typhus. | | + | + sehr spärlich | + |

| b. | | Sahne | Buttermilch | Butter |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------|-------------|-----------|
| Centrifuge mit 500 ccm durch ½ Oese Typhusbazillen infizierten Wassers ausgespült, entleert und mit 500 ccm Sahne gefüllt. | In den nächsten Tagen Typhusbaz. gefunden. | + reichl. | + spärlich | + reichl. |

Es ergibt sich aus diesen Tabellen, dass bei der gewählten Versuchsanordnung, sowohl in der Sahne, als in der Butter Typhusbazillen nachzuweisen waren.

Tabelle III.

Versuche über die Typhusinfektion von Butter bei Ausspülen der Gefässe mit Wasser, das mit natürlichem Typhusstuhl infiziert worden war.

| a. | | Sahne | Buttermilch | Butter |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|
| 500 ccm Wasser mit 1 ccm flüssigen Stuhls von Typhuskranken infiziert, damit Centrifuge ausgespült, völlig entleert und mit 500 ccm Sahne gefüllt. | Es wurden in den nächsten Tagen Typhusbaz. gefunden. | + spärlich zuweilen — | + spärlich zuweilen — | stets + zuweilen reichl. |
| b. | | Sahne | Buttermilch | Butter |
| Ein Leinwandfleck mit einem circa 3 cm langen Streifen Typhusstuhl leicht bestrichen, in 500 ccm Wasser ausgewaschen; dieses Wasser zur Spülung der Centrifuge entleert; Centrifuge mit 500 ccm Sahne gefüllt. | Es wurden Typhusbaz. gefunden. | — | — | + am 1. Tage 1 Kolonie |

Aus dieser Versuchsreihe, welche besonders im letzten Versuche die natürlichen Verhältnisse vollständig nachzuahmen sich bestrebt, ersehen wir demnach, dass das einfache Ausspülen der Gefässe, in welche die zum Buttern benutzte Sahne kommt, mit typhusbazillenhaltigem Wasser genügt, um Typhusbazillen in der Butter auftreten zu lassen. Der zur Wasserinfektion benutzte Stuhl von Typhuskranken war nicht besonders reich an Typhusbazillen. Es wurden circa 16 Kolonien auf den Platten gezählt.

Eine quantitative Bestimmung, ob in die Butter mehr Typhusbazillen übergehen, als in der Buttermilch verbleiben, war nicht

gut durchzuführen, da gerade beim Ausstreichen von Butter oder Buttermilch auf die v. Drigalski-Conradi'schen Platten reichlich typhusähnliche Kolonien wachsen, deren Verschiedenheit von Typhus man nur durch Mikroskopieren und Agglutination entscheiden kann. Es wäre also dazu nöthig gewesen, ungemein viele Kolonien in dieser Art vergleichend zu untersuchen. Immerhin ist uns kein Fall vorgekommen, in welchem wir die Typhusbazillen etwa nur in der Buttermilch und nicht in der Butter hätten nachweisen können. Im Gegentheil macht es öfters den Eindruck, als ob Butter, resp. Sahne reicher an Typhusbazillen wären, als Buttermilch, resp. Magermilch.

Was die Lebensdauer der Typhusbazillen in Butter angeht, so konnten wir sie bis zum 27. Tage nachweisen. In den ersten Tagen schien sogar eine nicht unwesentliche Vermehrung stattzufinden.

Einige Male beobachteten wir, dass die direkt aus der Butter gezüchteten Typhusbazillen in der ersten Generation auffallend dick waren und im gefärbten Präparat die Zeichen der bipolaren Färbung darboten, sodass wir im Zweifel waren, ob es sich wirklich um echte Typhusbazillen handelte. Das typische Verhalten in Lackmusmolke, sowie die prompte Reaktion auf agglutinirendes Serum in der Verdünnung 1:2000, dem Endtiter dieses Serums, bewies uns indessen, dass es echte Typhusbazillen waren, und schon in der nächsten Generation auf Agar hatten die betreffenden Bakterien auch wieder ihre gewöhnliche Grösse und ihr gewöhnliches tinktoriell Verhalten angenommen.

Uebersehen wir sonach unsere Experimente, so ergibt sich aus denselben der experimentelle Beweis, dass durch Butter die Möglichkeit zur Typhusübertragung leicht gegeben ist und dass wohl manche Typhusfälle, deren Quelle durchaus nicht aufzufinden ist, auf die Butter zurückzuführen sind. Es wird durch solche Untersuchungen wohl immer klarer, wie ungeheuer vielseitig die Verschleppungswege der Typhuskeime sind und in wie hohem Maasse dafür alle möglichen Nahrungsmittel in Betracht kommen. Es wird jedem einleuchten, dass unter diesen Umständen in epidemiologischer und prophylaktischer Beziehung von einem Versuche, die Typhusbazillen in der unbelebten Natur durch Desinfektionsmaassnahmen zu zerstören, nicht viel Erfolg zu erwarten ist. Andererseits wissen wir, dass die Quelle für alle in leblosen Gegenständen gefundenen Typhusbazillen, und damit die Quelle aller Neuinfektionen, der mit Typhusbazillen infizierte Mensch ist, und dass somit ein wirkliches Eindämmen auch dieser Seuche nur von der modernen bakteriologisch-prophylaktischen Seuchenbekämpfung im Sinne R. Koch's zu erwarten steht, die darin gipfelt, die mit den Infektionserregern behafteten Menschen ausfindig und durch Isolierung oder Desinfektion ihrer Abgänge unschädlich zu machen. Denn, wenn wir den steten Zufluss neuer Infektionserreger in die unbelebte Natur seitens der einzigen Quelle, des Menschen, verhindern, dann muss in absehbarer Zeit eine derartige Seuche zu existieren aufhören, oder mindestens auf einen sehr geringen Grad zurückgeführt werden.

¹⁾ Vom 28. Tage ab stets —.