

Aus der Chemischen Abteilung des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin.
(Direktor: Geheimrat Neufeld.)

Beiträge zur Biologie der Tuberkelbazillen.²⁾

3. Mitteilung.

Ueber den Einfluß von Lösungsstärke, Menge und Oberflächengröße der Nährlösungen auf das Wachstum der Tuberkelbazillenkulturen.

Von Geh. Rat Prof. Dr. Georg Lockemann, z. Z. im Felde.

Im Anschluß an die früheren Versuche³⁾ sollte die Frage geprüft werden, ob die Entwicklung der Tuberkelbazillenkulturen von Lösungsstärke (Konzentration) und Menge einerseits, andererseits von der Oberflächengröße der Nährlösungen abhängig ist, d. h. ob das Wachstum vielleicht schneller und bis zu einem höheren Grade erfolgt, wenn den Bazillen die Nährstoffe in größerer Dichtigkeit bei gleicher Gesamtmenge oder bei gleicher Dichtigkeit in größerer Gesamtmenge dargeboten werden, oder auch, wenn dem Kulturrasen eine größere Ausdehnungsmöglichkeit gegeben wird. Folgende vier Versuchsreihen wurden ausgeführt:

1. Versuchsreihe C

mit drei verschiedenen Lösungsstärken bei gleichen Nährstoffmengen.

Die drei Lösungsstärken standen in dem Verhältnis CI : CII : CIII = 2 : 1 : $\frac{2}{3}$ = 6 : 3 : 2, wobei die mittlere Lösung (CII) die gewöhnliche Stärke der früher beschriebenen Lösung D hatte. Die Säuretiters entsprechen den Lösungsstärken und betrugen bei I 11,2 $\frac{1}{100}$ n, bei II 5,6 $\frac{1}{100}$ n, bei III 3,7 $\frac{1}{100}$ n.

Es wurden 3 Reihen von je 18 Kölbchen mit soviel der drei verschieden starken Nährlösungen gefüllt, daß in allen Gefäßen, unabhängig von der Lösungsstärke, die gleichen Nährstoffmengen (1,75 g) enthalten waren; nämlich: CI mit 25 ccm, CII mit 50 ccm, CIII mit 75 ccm Lösung.

¹⁾ W. kl. W. 1917 Nr. 39.

²⁾ Die ausführliche Mitteilung erscheint in den Vöff. KochStiftg.

³⁾ I. Mitteilung: D. m. W. 1913 Nr. 50, Vöff. KochStiftg. H. 10 (1913) S. 21; II. Mitteilung: D. m. W. 1918 Nr. 26, Vöff. KochStiftg. H. 26 (1918) S. 712.

Mit Proben der 30 Tage alten Kultur eines humanen Tuberkelbazillenstamms beimpft, wurden von den im Brutschrank aufbewahrten Kölbchen neun Wochen lang alle acht Tage je zwei herausgenommen und in der früher beschriebenen Weise auf Kulturgewicht und Säuretiters untersucht.

Das Wachstum der Kulturen verlief in allen drei Fällen ziemlich gleichmäßig. Entsprechend dem Alter der Stammkultur (30 Tage), wuchsen die Abimpfkulturen anfangs sehr langsam, dann um so schneller und erreichten bei CI nach fünf, bei CII und CIII nach sieben Wochen ihren Höchstwert.

Die Titerwerte fielen in der Hauptentwicklungszeit (bis zur dritten Woche) auf den tiefsten Stand (von 11,2 auf 4,0, von 5,6 auf 2,2, von 3,7 auf 1,5 $\frac{1}{100}$ n) und folgten dann annähernd den zugehörigen Wachstumskurven.

Im allgemeinen war festzustellen; daß durch die größere Lösungsstärke der Nährstoffe (bis zum dreifachen Werte) das Wachstum der Tuberkelbazillen nicht etwa entsprechend beschleunigt wird, daß also bei gleichbleibenden Nährstoffmengen Änderungen in der Lösungsstärke ohne erheblichen Einfluß sind. Auch bei dem Säuregehalt scheint es nur auf die Gesamtmenge anzukommen.

2. Versuchsreihe CM

mit zwei verschiedenen Lösungsstärken und zwei verschiedenen Nährstoffmengen.

Lösung D wurde in einfacher und in doppelter Lösungsstärke verwendet, und von jeder dieser Lösungen einmal je 50 ccm und dann je 100 ccm. So ergaben sich folgende vier Reihen (mit je 18 Kölbchen):

CM I:	je 50 ccm Nährlösung	einfacher Lösungsstärke	vom Säuretiters	6,0 $\frac{1}{100}$ n
CM II:	100 "	"	"	6,0 $\frac{1}{100}$ n'
CM III:	50 "	zweifacher	"	12,0 $\frac{1}{100}$ n'
CM IV:	100 "	"	"	12,0 $\frac{1}{100}$ n'

Die 14tägige Kultur eines humanen Stammes wurde zum Impfen verwendet. Die Aenderung von Kulturgewicht und Säuretiters der einzelnen Proben wurden neun Wochen lang verfolgt.

Das Wachstum setzte, entsprechend dem geringen Alter der Stammkultur, in allen Fällen sogleich kräftig ein. Im weiteren Verlaufe zeigten die Gewichtskurven starke Knicke, woraus hervorgeht, daß von den beiden sich gegenseitig bekämpfenden Vorgängen, dem des Wachstums und dem der Auslaugung, bald der eine, bald der andere die Oberhand gewann. Diese Gewichtsschwankungen traten um so schärfer hervor, je schneller das Wachstum erfolgte, am stärksten bei CM IV.

Die Höchstwerte der Kulturgewichte wurden nach fünf bis sieben Wochen erreicht und lagen bei gleichen Nährstoffmengen unabhängig von der Lösungsstärke ziemlich dicht beieinander. Sie wuchsen ungefähr in gleichem Verhältnis wie die Mengen der verwendeten Nährstoffe, bei doppelter Nährstoffmenge auf das 1,9fache, bei vierfacher auf das 3,4fache. Die erreichten Höchstgewichte betrugen etwa ein Sechstel bis ein Siebtel der verwendeten Nährstoffgewichte. Wieweit sich diese Steigerung der Kulturgewichte durch Vergrößerung der Nährstoffmengen durchführen läßt, müßte durch besondere Versuche festgestellt werden.

Der Verlauf der Säuretiters ist ähnlich wie in den früheren Fällen. Die Titerwerte der doppeltstarken Lösungen (Anfangstiter 12,0 $\frac{1}{100}$ n) bleiben über 4,0 $\frac{1}{100}$ n, die der einfachen Lösungen (Anfangstiter 6,0 $\frac{1}{100}$ n) sinken auf Werte zwischen 2 und 3 $\frac{1}{100}$ n.

3. Versuchsreihe O

mit zwei verschiedenen großen Oberflächen bei gleichen Lösungsmengen.

Zwei Reihen von je 20 Kolben verschiedener Bodenweite, sämtlich mit je 100 ccm Nährlösung D gefüllt, wurden mit Proben eines humanen Stammes beimpft und acht Wochen lang regelmäßig auf Kulturgewicht und Säuretiters geprüft. Die Oberflächen der Nährlösungen waren bei Reihe O I 38 qcm, bei O II 88 qcm groß, verhielten sich also zueinander wie 1 : 2,3.

In der Entwicklung der Bazillenkulturen war in beiden Fällen kein erheblicher Unterschied zu erkennen. Beide Reihen erreichten zur selben Zeit (nach sieben Wochen) ihr Höchstgewicht, und die erreichten Werte lagen ziemlich dicht beieinander (O I: 403 mg, O II: 438 mg).

Auch die Säuretiterskurven der beiden Reihen fielen annähernd zusammen.

4. Versuchsreihe OM

mit drei verschiedenen großen Oberflächen und zwei verschiedenen Lösungsmengen.

Die Oberflächengrößen der drei Reihen betrugen: bei O M I 28 qcm, bei O M II 43 qcm, bei O M III 78 qcm, verhielten sich also wie 1 : 1,5 : 2,75. Die Kolben der ersten beiden Reihen (je 80) waren

mit je 50 cem, die der dritten Reihe (40) mit je 100 cem Lösung D gefüllt, und, mit Proben der 13tägigen Kultur eines humanen Stammes beimpft, wurden sie 19 bzw. 17 Wochen lang der regelmäßigen Prüfung unterworfen.

Auch hier zeigte sich, daß die Oberflächengröße allein keinen wesentlichen Einfluß auf das Wachstum der Tuberkelbazillen ausübt, daß aber mit Steigerung der Lösungsmenge und damit der Nährstoffe aufs Doppelte (O M III) die Kulturgewichte ganz bedeutend zunehmen. In diesem Falle wurde das Höchstgewicht durch Verdopplung der Nährstoffmengen sogar auf das Dreifache gesteigert (O M I 233 mg, O M II 231 mg, O M III 693 mg). Es beträgt etwa ein Fünftel des Gewichts der angewendeten Nährstoffe (3,51 g in 100 cem D-Lösung), während in den beiden anderen Reihen etwa ein Siebentel des Nährstoffgewichts (1,75 g in 50 cem) erreicht wurde.

Die Säuretitierkurven verliefen in allen drei Fällen ziemlich gleichmäßig. Durch das sehr viel stärkere Wachstum bei O M III wurde der Titer der Nährlösung nicht anders beeinflusst als bei O M I und O M II.

Zusammenfassung. 1. Aenderungen in der Lösungsstärke der Nährlösungen bis zum dreifachen Werte waren bei gleichbleibenden Nährstoffmengen auf das Wachstum der Tuberkelbazillen ohne erheblichen Einfluß.

2. Durch Vergrößerung der Nährstoffmengen wurde unabhängig von der Lösungsstärke das Wachstum der Tuberkelbazillen gesteigert. Die Steigerung des Wachstums stand ungefähr in gleichem Verhältnis wie die der Nährstoffmengen, war in einem Falle noch erheblich größer. Die erreichten Höchstwerte der Kulturgewichte betrugen $\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{5}$ des Gewichts der angewendeten Nährstoffe.

3. Die Größe der Nährlösungsoberfläche war auf den Wachstumsverlauf und die Erreichung des Höchstgewichts ohne merklichen Einfluß, wenn die Nährstoffmenge dieselbe blieb.

4. Bestätigt wurden die Erfahrungen der zweiten Mitteilung, daß:

a) die Abimpfkulturen anfangs um so schneller wuchsen, je jünger die Stammkultur war,

b) die Höchstwerte der Kulturgewichte desselben Stammes in den meisten Fällen nach derselben Entwicklungszeit erreicht wurden,

c) die Säuretitier in den ersten Wochen der Wachstumsgeschwindigkeit entsprechend mehr oder weniger schnell fallen (von 11,2 auf etwa $4\frac{1}{100}$ n, von 5,6 auf etwa $2\frac{1}{100}$ n, von 3,7 auf etwa $1,5\frac{1}{100}$ n) und dann weiterhin einen wechselnden Verlauf nehmen, bei dem jedoch immer ein gewisser Zusammenhang mit dem Gange des Kulturwachstums zu erkennen ist.