

VI. Mittheilungen zur Cholera.

I. Zur bacteriologischen Diagnostik der Cholera mit Demonstrationen.¹⁾

Von Dr. R. Pfeiffer,

Privatdocent und Vorsteher der wissenschaftlichen Abtheilung am Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.

Ganz unerwartet und explosionsartig ist seit Mitte August die Cholera in Hamburg aufgetreten, und ununterbrochen noch fordert sie neue Opfer. Wie immer, verliert bei solchen Gelegenheiten die Bevölkerung die ruhige Besinnung, und wer irgend kann, sucht durch eilige Flucht das bedrohte Leben in Sicherheit zu bringen. Auch diesmal ergiesst sich ein Strom von Flüchtenden über das gesammte Deutsche Reich, und mancher unter ihnen trägt den Keim der mörderischen Krankheit in sich.

Hamburg gewährt so das Bild einer grossen Feuersbrunst, die, vom Sturm gepeitscht, ihre Funken weithin ansendet. In Berlin, in Bremen, in Kiel, in Rathenow und in anderen Orten mehr sind vereinzelte Erkrankungs- und Todesfälle an asiatischer Cholera gemeldet worden, die ansahmslos sich auf Hamburg als Ausgangspunkt zurückführen liessen.

Bisher haben diese Funken nicht gezündet, immer noch ist es gelungen, sie im Keime zu ersticken. Es zeigt sich hierbei, wie wichtig es ist, die ersten Fälle einer Senche sofort zu erkennen und unschädlich zu machen, ehe die Krankheit festen Fuss gefasst hat. Gerade bei der Cholera lässt nun die klinische Diagnose im Beginn der Epidemie durchaus im Stich; wenn dann die Zahl und der schwere Verlauf der Erkrankungen an dem epidemischen Charakter der Senche keinen Zweifel mehr lassen, ist die Zeit für ein erfolgreiches Eingreifen verpasst, und man steht dem Vordringen der Krankheit machtlos mit gebundenen Händen gegenüber. Es ist daher eine Thatsache von grösster Wichtigkeit, dass uns die bekannten ätiologischen Untersuchungen R. Koch's in den Stand gesetzt haben, mit Sicherheit in jedem verdächtigen Falle die Diagnose durch den Nachweis der specifischen Krankheitserreger zu stellen. — Mir ist der ehrenvolle Auftrag geworden, Ihnen über die Technik dieser bacteriologischen Untersuchungen kurzen Bericht zu erstatten, und ich bitte um Ihre Nachsicht, wenn ich Dinge behandle, die dem grössten Theil von Ihnen längst bekannt und wohl vertraut sind.

Die Cholera ist eine Infectionskrankheit, die anschliesslich im Darmcanal sich abspielt. Dem entsprechend enthalten auch nur die Darmentleerungen der Cholera-kranken die specifischen Infectionskeime.

Leider verfügen wir für den mikroskopischen Nachweis der Cholera-bacillen nicht über ein differentiell diagnostisches Hilfs-

mittel, wie es bei der Tuberculose die specifische Färbbarkeit der Tuberkelbacillen darstellt. Die Cholera-bakterien verhalten sich Farbstoffen gegenüber nicht anders, wie die Unzahl anderer saprophytischer Bakterien, die neben ihnen in den Stühlen Cholera-kranker auftreten können. Aber ihre Form ist so charakteristisch, dass man gleichwohl im mikroskopischen Präparat auf sie aufmerksam werden muss. Die Cholera-bacillen sind ziemlich kleine Bakterien und nur ungefähr $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ so lang wie die Tuberkelbacillen, aber viel plumper, dicker und mit deutlicher Krümmung versehen. Diese Krümmung ist für gewöhnlich nicht viel stärker als die eines Kommas, gelegentlich findet man jedoch Formen, die fast halbkreisförmig gekrümmt sind. Seltener sieht man in Präparaten vom Cholera-stuhl kleine Spiralen von S-Form.

Es giebt nun Fälle von Cholera, wo der gesammte Darminhalt fast eine Reincultur dieser Kommabacillen enthält. Hier genügt für den erfahrenen Beobachter ein Blick in das Mikroskop, um mit Sicherheit die Diagnose auf Cholera zu stellen. Man darf aber nicht erwarten, stets so einfache, leicht zu deutende Verhältnisse anzutreffen. In der Regel enthält der Cholera-stuhl sehr zahlreiche andere Bakterienarten, welche die Kommabacillen verdecken, und dann gilt es, die Präparate geduldig zu durchsuchen, bis man Stellen findet, die für die Cholera-diagnose verwertbar sind. In solchen Fällen muss man schon bei Herstellung der Präparate diejenigen Partien der Cholera-dejectionen heransuchen, die erfahrungsgemäss am reichsten an Kommabacillen sind. Es sind dies die eigenthümlichen Schleimflocken, welche aus desquamirten gequollenen Epithelien bestehend, den Cholera-stühlen das charakteristische reiswasserähnliche Ansehen verleihen. Hier findet man bei der mikroskopischen Untersuchung recht häufig typische, hänfchenartig gelagerte Kommabakterien auch in Fällen, wo der Stuhlgang sonst arm an gekrümmten Formen ist.

Es erhebt sich nun die wichtige Frage: In wie weit ist man berechtigt, aus dem mikroskopischen Befunde kommaähnlicher Bakterien im Stuhl Cholera zu diagnosticiren? Die Antwort muss verschieden anfallen. Leicht und zweifelsfrei ist die Diagnose, wenn die Kommabacillen im Präparat fast in Reincultur vorhanden sind, besonders aber, wenn die so charakteristische, hänfchenweise Lagerung der Kommabacillen in den Schleimflocken gefunden wird. Unsicher wird dagegen die Entscheidung, wenn die Präparate nur vereinzelte verdächtige Formen enthalten. Es muss hervorgehoben werden, dass nicht gar zu selten, besonders in diarrhoischen Stühlen Kommabakterien zu finden sind, die der Mundhöhle entstammen und die mit der Cholera nicht das geringste zu thun haben. Durch ihre mikroskopische Form sind zwar diese Mundhöhlenparasiten von den echten Koch'schen Vibrionen unterscheidbar. Sie sind gewöhn-

¹⁾ Vortrag, gehalten in der Berliner medicinischen Gesellschaft.

lich schmaler und länger, dabei weniger gekrümmt, häufig auch an ihren Enden zugespitzt. Immerhin setzt die mikroskopische Unterscheidung ein sehr grosses Maass von Uebung und Vertrautsein mit morphologischen Verhältnissen voraus. Man sieht, die mikroskopische Untersuchung verdächtiger Dejectionen giebt nur in einem Theil der Fälle ein unzweideutiges Resultat; recht häufig muss man sich begnügen, eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose auszusprechen. Eines verdient hier besonders hervorgehoben zu werden. Ein negativer Ausfall der mikroskopischen Untersuchung beweist keineswegs, dass Cholera auszuschliessen ist. Es giebt Fälle von echter Cholera, wo die Zahl der Koch'schen Bacillen in den Dejectionen so gering ist, dass sie bei der mikroskopischen Untersuchung übersehen werden können.

In allen zweifelhaften Fällen sind mit dem verdächtigen Material Züchtungsversuche zu machen, und besonders wichtig und geradezu ansschlaggebend sind die Resultate des Gelatine-Plattenverfahrens. Man muss darauf achten, dass man zur Aussaat wieder die schon früher erwähnten Schleimflocken herausucht. Man vertheilt dieselben durch vorsichtiges Schütteln in der vorher verflüssigten und auf circa 37° C abgekühlten Gelatine, macht davon die bekannten Verdünnungen und giesst alsdann die inficirte Nährgelatine auf Platten aus. Das ganze Verfahren ist ausserordentlich einfach zu handhaben und setzt auch keinerlei kostspielige Laboratoriumseinrichtungen voraus, da die Nährgelatine für billiges Geld käuflich ist, und bei Verwendung von sogenannten Petri'schen Doppelschalen die Nothwendigkeit der unbequemen, sogenannten feuchten Kammern zur Aufbewahrung der Platten wegfällt. Es ist zu rathen, stets mehrere Platten aus möglichst verschiedenen Partien des zu untersuchenden Materials herzustellen, damit man die Gewissheit hat, dass auch vereinzelte Cholera-bacillen dem spähenden Blick nicht entgehen.

Die untere Temperaturgrenze für das Wachstum der Cholera-bacillen liegt bei 16° C. Erst oberhalb 20° C wird die Entwicklung in Gelatineplatten üppiger. Es ist daher eine schnelle Diagnosenstellung durchaus nothwendig, die Platten bei möglichst hoher Zimmertemperatur (zwischen 20 und 24° C) aufzubewahren. Unter diesen Umständen sind schon nach 20—24 Stunden die Colonien der Kommabacillen soweit herangewachsen, dass sie bei mikroskopischer Untersuchung mit schwacher, etwa 70—90 maliger Vergrösserung ihre charakteristischen Eigenschaften zu erkennen geben. Die Colonien sehen, wenn sie noch sehr jung sind (12 bis 18 Stunden nach der Aussaat), wie kleine blasse Tröpfchen aus, die aber nicht vollständig kreisrund sind, sondern einen mehr oder weniger unregelmässig begrenzten, ausgebucheten oder sogar zackigen Umriss haben. Dabei besitzen sie schon sehr frühzeitig ein etwas granulirtes Aussehen. Wenn die Colonie etwas grösser ist (6 Stunden später), tritt die Körnung deutlicher hervor; es sieht aus, als wenn die Colonie aus kleinen, stark lichtbrechenden Glasbröckchen bestände, gleichzeitig bildet sich durch die Verflüssigung der die Colonie umgebenden Gelatine ein kleiner Trichter aus, auf dessen Grund die Bacterienmasse hinabsinkt. Dieser Trichter macht sich bei der mikroskopischen Untersuchung in eigenthümlicher Weise geltend. Er beeinflusst nämlich den Gang der Lichtstrahlen, wie wenn eine Concavlinse zwischen Spiegel und Objectiv eingeschoben wäre. Es leuchtet daher die Cholera-colonie sternartig auf, wenn man absichtlich den Tubus unter die richtige Einstellungsene senkt, und wird dunkel bei zu hoher Einstellung. Die nicht verflüssigenden Colonien, welche in der Platte enthalten sind, wirken gerade umgekehrt, sie brechen das Licht wie Convexlinsen und sehen daher bei tiefer Einstellung dunkel aus, während sie beim Heben des Tubus das Licht concentriren und hell erscheinen. Diese Differenz im optischen Verhalten erleichtert es dem Ungeübten sehr, vereinzelte Cholera-colonien unter zahlreichen andersartigen Colonien herauszufinden.

Das Wachstum der Cholera-bacillen in Gelatineplatten ist so charakteristisch, dass keine andere im Stuhl unter normalen oder pathologischen Verhältnissen vorkommende Bacterienart damit verwechselt werden kann. Die früher erwähnten Mundspirochäten und Mundkommabacillen stören die Untersuchung nicht, da sie in Gelatineplatten nicht zu Colonien heranwachsen. Ueberhaupt vereinfacht das Plattenverfahren die Arbeit des Untersuchers sehr. Während bei der mikroskopischen Betrachtung der Dejectionen ein Wirrwarr von Formen uns entgegentritt, ist die Zahl der im Darm vorkommenden Bacterien, welche in Nährgelatine Wachstum zeigen, eine sehr eng begrenzte, und merkwürdiger Weise sind dies fast regelmässig Bacterienarten, welche die Gelatine nicht verflüssigen. Gewahrt man also mit blossen Auge in Gelatineplatten, die mit verdächtigen Dejectionen geimpft sind, nach 24 Stunden die bekannten kleinen Verflüssigungstrichter, welche besonders bei schräg einfallendem Lichte hervortreten, und die gerade so aussehen, als hätte man mit einer feinen Nadel die Gelatineoberfläche gestichelt, zeigen diese Colonien unter dem Mikroskop die oben geschilderte charakteristische Beschaffenheit, und hat man sich ferner durch ein

mikroskopisches Präparat davon überzeugt, dass sie aus Kommabacillen bestehen, dann kann man ohne weiteres die Diagnose Cholera asiatica aussprechen. Die angegebenen Merkmale sind so zuverlässig, dass es unnöthig erscheinen muss, durch Ueberimpfung in Gelatine-stichculturen, in Bouillon, auf Kartoffel die Diagnose weiter sichern zu wollen. Damit wird nur kostbare Zeit verschwendet. Es ergiebt sich aus diesen Darlegungen, dass 24 Stunden in der ganz überwiegenden Mehrzahl der Fälle genügen, um zu einem einwandfreien und eindeutigen Resultat zu gelangen.

Sie sehen, dass sich dem Plattenverfahren in der Cholera-diagnose die ausschlaggebende Rolle zuerkennt, und ich bin fest überzeugt, dass diese Methode in der Hand des bacteriologisch Geübten nie versagen wird. Allerdings, wenn Sie fragen, ob die Cholera-diagnose auch für die grosse Menge der praktischen Aerzte ausführbar ist, möchte ich doch etwas skeptisch antworten. In Paradenfällen wird vielleicht auch der in bacteriologischen Arbeiten Unerfahrene sich zu helfen wissen, aber in den schwierigeren Fällen, wo vereinzelte Cholera-colonien unter zahlreichen andersartigen herausgesucht werden müssen, dürfte sein Können ihn im Stich lassen.

Derartige Erwägungen haben dahin geführt, nach Mitteln zu suchen, welche die Erkennung und Isolirung der Cholera-bacillen erleichtern. Es ist hier an erster Stelle die Methode von Schottelius zu erwähnen. Schottelius mischt die zu untersuchenden Dejectionen mit der doppelten und dreifachen Menge von Fleischwasserbouillon und bewahrt die Proben 10—12 Stunden bei 37° C auf. Die Cholera-bacillen lieben bekanntlich den freien Sauerstoff, und häufen sich, da sie lebhaft beweglich sind, an der freien Oberfläche der Flüssigkeiten an, indem sie dort ein zartes oft kaum erkennbares Häutchen bilden. Macht man von diesem Häutchen nach der angegebenen Zeit gefärbte Präparate, so findet man Stellen, die sehr reich an Kommabacillen sind, gelegentlich sogar Reinculturen derselben darzustellen scheinen. In der That ist die Schottelius'sche Methode brauchbar und dienlich in den Fällen, wo die Zahl der Cholera-bacillen in dem frischen Untersuchungsmaterial sehr gering ist. Aber immerhin wird dadurch die endgültige Diagnosenstellung um 12 Stunden hinausgeschoben, da stets das Plattenverfahren zur Sicherung der Diagnose nachfolgen muss, und ich möchte daher die Schottelius'sche Methode nur als Nothbehelf für gewisse Ausnahmefälle betrachten.

Weiterhin hat man versucht, bestimmte leicht anzustellende chemische Reactionen der Cholera-culturen zur Diagnose zu verwenden. Pöhl, nach ihm Bujwid und Dunham hatten gefunden, dass Culturen der Koch'schen Vibrionen in Bouillon, oder in einem 1/10igen Peptoninfus bei Zusatz von Mineralsäuren eine schön rosaroth Färbung annehmen. Brieger stellte dann diesen Cholera-roth genannten Farbstoff rein dar und zeigte, dass er durch Behandlung mit Zinkstaub sich in Indol überführen liess. Es war damit die Cholera-rothreaction ihres geheimnissvollen Charakters entkleidet und als einfache, längst bekannte Indolreaction entlarvt. Salkowski und Petri haben dann dieser Reaction ein eingehendes Studium gewidmet. Sie zeigten, dass die Cholera-bacillen die Fähigkeit besitzen, einmal aus stickstoffhaltigem Nährmaterial Indol abzuspalten, andererseits aber gleichzeitig die stets vorhandenen Nitratpuren zu Nitriten zu reduciren. Es giebt nun sehr viele Bacterienarten, welche Indol bilden; zahlreiche andere Arten reduciren Nitrate, aber nur sehr gering ist die Zahl derjenigen Bacterienspecies, welche gleichzeitig Indol und Nitrite produciren, und infolge dessen bei Zusatz nitritfreier Mineralsäuren die Rothfärbung zeigen. Es ergiebt sich aus diesen Erörterungen, dass die Cholera-rothreaction in Reinculturen von Cholera-bacillen nur bedingt zur Diagnose verwertbar ist, da sie den Koch'schen Vibrionen nicht ausschliesslich zukommt, dass sie dagegen durchaus unzuverlässig ist, sobald es sich um Bacteriengemische handelt, wo indolbildende und reducirende Bacterienarten sich zusammenfinden können. In solchen Gemischen beweist ein positiver Ausfall der Cholera-rothreaction nichts für die Anwesenheit von Cholera-bacillen, ein negatives Resultat nichts dagegen. Dunham ist also bei seinem Vorschlage, Peptonlösungen mit dem verdächtigen Stuhl zu mischen, und nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank auf etwaige Cholera-rothreaction zu prüfen, von nicht mehr stichhaltigen Voraussetzungen ausgegangen; für die Cholera-diagnose ist diese Methode absolut unbrauchbar.

In letzter Zeit hat Laser angegeben, dass es gelingt, in Bacteriengemischen die Cholera-bacillen durch den Geruchssinn zu erkennen. Mischt man nämlich Dejectionen, welche Cholera-keime enthalten, mit Bouillon und stellt die Proben 24 Stunden in den Brutschrank, dann soll sich neben dem Fäcalgeruch ein charakteristischer, den Cholera-culturen eigenthümlicher aromatisch-widerlicher Geruch bemerkbar machen. Leider ist die Mehrzahl der Menschen in der Beurtheilung von Gerüchen recht unzuverlässig, auch wenn sie nicht am Stock-schnupfen leiden, und doppelt schwierig dürfte es sein, aus einem undefinirbaren Geruchschau einen bestimmten, selbst nur wenig definirten Bestandtheil herauszuriechen.

Es würde meiner Ansicht nach geradezu gewissenlos sein, wollte man sich bei einer so ernsten und verantwortungsvollen Sache, wie es die Choleradiagnose ist, auf derartige schwankende Merkmale verlassen. Ich warne Sie daher, die Laser'sche Methode der Choleradiagnose ernst zu nehmen.

Nicht unwichtig für die Stellung der Choleradiagnose ist auch die Art und Weise, wie die fraglichen Objecte bis zu ihrer Ankunft im Laboratorium behandelt werden. Je rascher sie in die Hände des Bacteriologen gelangen, desto leichter ist dessen Arbeit, während auf längerem Transporte besonders in der warmen Jahreszeit die beginnende Fäulnis und das Ueberwuchern der saprophytischen Kothbacterien den Nachweis der Krankheitserreger immer schwieriger macht. Am besten werden die frischen Dejectionen der Kranken oder abgebundenen Darmschlingen bei Sectionen in vorher gründlich gereinigten und ausgekochten, verschliessbaren Glasgefässen verschickt. Ein Zufügen von Carbonsäure, Sublimat oder irgend einem anderen Desinfectionsmittel ist zu unterlassen, da die bacteriologische Untersuchung dadurch völlig vereitelt wird. So selbstverständlich diese Forderung ist, so oft wird trotzdem dagegen gefehlt. Beschmutzte Wäsche, die im übrigen ein ausgezeichnetes Object für die Choleradiagnose abgibt, muss feucht aufbewahrt und versandt werden, da durch das Trocknen die Kommabacillen absterben.

Ziehe ich zum Schluss das Facit dieses Vortrages, so möchte ich die Hauptpunkte in folgenden Sätzen formuliren.

1. Die mikroskopische Untersuchung der verdächtigen Dejectionen etc. ist in jedem Falle mit aller Sorgfalt vorzunehmen.

Jedoch genügt sie nur in einer gewissen Zahl von Fällen für sich allein zur Diagnose auf Cholera.

2. In allen nicht völlig zweifelsfreien Fällen ist sie zu ergänzen durch das Gelatineplattenverfahren, dessen Ergebnisse als ausschlaggebend zu betrachten sind.

3. Es ist unter normalen Verhältnissen erreichbar, innerhalb 24, bis spätestens 36 Stunden die Choleradiagnose sicher zu stellen.

4. Alle sonst angegebenen Methoden, mit Ausnahme des für manche Fälle gut brauchbaren Schottelius'schen Verfahrens (das aber durch das Plattenverfahren controllirt werden muss), basiren auf falschen Voraussetzungen und sind für die Choleradiagnose nicht verwendbar.