

# Über den augenblicklichen Stand der bakteriologischen Cholera-diagnose.<sup>1)</sup>

(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.)

Von

Prof. R. Koch.

Bald nach dem ersten Bekanntwerden der Cholera-bakterien und ihrer Beziehungen zur Cholera erhob sich von verschiedenen Seiten Widerspruch dagegen, daß diese Bakterien ausschließliche Begleiter der Cholera seien und für die Diagnose derselben Verwertung finden könnten. Es mag hier daran erinnert sein, daß man gleiche Bakterien im Zahnschleim gesunder Menschen, im Wasser cholerafreier Gegenden, bei Cholera nostras usw. gefunden haben wollte; ebenso aber auch, daß diese Angaben sehr bald ihre Widerlegung fanden. Da nun außerdem in den folgenden Jahren das regelmäßige Vorkommen der Cholera-bakterien bei echter Cholera asiatica in verschiedenen Epidemien, welche sich im Laufe der Zeit in Frankreich, Italien, Spanien, Südamerika entwickelten, tausendfach bestätigt wurde, und da auch alle Erfahrungen der jetzigen Epidemie dasselbe gelehrt haben, so können wir es jetzt wohl als eine feststehende Tatsache ansehen, daß die Cholera-bakterien unzertrennliche Begleiter der asiatischen Cholera sind und daß der Nachweis derselben das Vorhandensein dieser Krankheit mit unfehlbarer Sicherheit beweist<sup>2)</sup>. Soweit mir bekannt ist, wird dieser Satz auch von keiner Seite, welche ernst zu nehmen wäre, mehr bestritten. Daß für mich und für jeden, der hinreichende Kenntnisse der Bakteriologie und des Wesens der Infektionskrankheiten besitzt, mit dem Beweis des spezifischen Charakters der Cholera-bakterien auch der Beweis dafür geliefert ist, daß sie die Ursache der Cholera sind, bedarf wohl kaum noch der ausdrücklichen Versicherung, ich gebe dieselbe hier auch nur deswegen noch einmal, weil es merkwürdigerweise immer noch Ärzte gibt, die an dem ursächlichen Verhältnis zwischen Cholera-bakterien und Cholera zweifeln, obwohl sie nicht imstande sind, auch nur den Schein eines Beweises für ein anders gestaltetes Verhältnis dieser beiden untrennbar miteinander verbundenen Dinge zu liefern.

---

<sup>1)</sup> Aus Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 1893, Bd. XIV. Verlag von Veit & Comp., Leipzig. — Eingeliefert am 12. Mai 1893.

<sup>2)</sup> Damit soll aber nicht gesagt sein, daß auch umgekehrt das Fehlen oder vielmehr das Nichtauffinden der Cholera-bakterien in einem choleraverdächtigen Falle unter allen Umständen das Nichtvorhandensein der Cholera beweist. Ebenso wie bei anderen durch Mikroorganismen bedingten Infektionskrankheiten können auch bei der Cholera einzelne Fälle vorkommen, welche man wegen ihres sonstigen Verhaltens als unzweifelhafte Cholerafälle ansehen muß, bei denen aber, sei es wegen mangelhafter Befähigung des Untersuchenden, sei es, weil sie im ungeeigneten Zeitpunkte untersucht sind, die Cholera-bakterien nicht gefunden werden.

Mag man nun aber auch über die Cholera-bakterien denken wie man will, so wird doch jeder heutzutage zugeben müssen, daß in jedem Falle, wo man sie findet, asiatische Cholera vorhanden sein muß und daß deswegen ihr Nachweis in zweifelhaften Fällen für die Diagnose von größter Bedeutung ist. Im einzelnen Falle ist die asiatische Cholera in ihren klinischen Symptomen bekanntlich von Cholera nostras, Kindercholera, gewissen Formen von Peritonitis, Vergiftungen durch Arsenik und durch einige organische Gifte nicht mit Sicherheit zu unterscheiden. Nur ihr infektiöser Charakter, der sich durch die Entwicklung von Gruppenerkrankungen und das Umsichgreifen auf andere Orte zu erkennen gibt, und die ihr zukommende hohe Mortalität lassen die asiatische Cholera von den genannten Krankheiten unterscheiden. Auf der Höhe der Epidemie, wenn über den infektiösen Charakter der Krankheit kein Zweifel mehr obwalten kann, bedarf es daher nicht notwendig der bakteriologischen Untersuchung, um die nicht zu leichten Fälle von Brechdurchfall als der asiatischen Cholera zugehörig erkennen zu können; obwohl auch hier eine möglichst ausgiebig durchgeführte bakteriologische Untersuchung vor manchen Mißgriffen schützen würde und für zweifelhafte Fälle notwendig ist. In Krankenhäusern wird man in Zukunft auch während einer Epidemie schon deswegen die bakteriologische Untersuchung in weiterem Umfange durchführen müssen, weil sich herausgestellt hat, daß die Dejektionen noch längere Zeit nach dem eigentlichen Cholera-anfall Cholera-bakterien enthalten können und es doch nicht angängig ist, die Kranken eher zu entlassen, als bis sie frei von Cholera-bakterien sind. Das eigentliche Feld der bakteriologischen Tätigkeit bilden aber der Beginn und das Ende der Epidemie in einem Orte, wenn alles darauf ankommt, jeden einzelnen Fall als solchen richtig zu beurteilen und so schnell als möglich durch geeignete Maßregeln für die Umgebung ungefährlich zu machen. Beginn und Ende der Lokalepidemie ließen sich früher fast nie mit der nötigen Sicherheit erkennen, sie waren gewissermaßen verschleiert, so daß man wohl die groben Linien der eigentlichen Epidemie verfolgen konnte, aber nach dem Anfange und Ende zu in der Regel den Faden verlor. Daher kam es denn auch, daß man mit den Maßregeln beim Beginn des Seuchenausbruches zu spät kam und beim Nachlassen derselben die Hände viel zu früh in den Schoß legte. Jetzt ist dies wesentlich anders geworden. In dem vielverschlungenen Netze, welches die Cholera in ihren Wegen und bei ihrer Ausbreitung bildet, bleiben uns nur noch vereinzelt Fäden verborgen, alles übrige liegt bis zu den kleinsten Ausläufern hin klar und deutlich vor unseren Blicken. Jetzt erst sind wir imstande, der Seuche auf Schritt und Tritt entgegenzutreten und sie gerade dann zu bekämpfen, wenn sie gering und schwach ist, also in dem Zeitpunkte, in welchem die Aussicht auf Erfolg am größten ist, und von welchem bedeutenden Nutzen diese Art der Cholera-prophylaxis ist, welche sich gegen die einzelnen Fälle richtet, hat der bisherige Verlauf der Epidemie in Deutschland in unzweifelhafter Weise erkennen lassen.

Um den Wert der bakteriologischen Diagnostik vollständig ausnutzen zu können, ist es nun aber durchaus notwendig, daß sie schnell und sicher auszuführen ist. Denn sowohl die Ausbreitung der Cholera im Orte des Ausbruchs selbst, als auch ihre Verschleppung von da nach anderen Orten geht meistens so schnell vor sich, daß die Verzögerung der Maßregeln um einige Tage, selbst einen Tag, das schwerste und nicht wieder gut zu machende Unheil anrichten kann. Außerdem muß die bakteriologische Technik imstande sein, auch die leichtesten Fälle von asiatischer Cholera zu diagnostizieren, welche kaum merkbare Andeutungen von Krankheitssymptomen zeigen, sich aber durch den Befund von Cholera-bazillen als der echten Cholera zugehörig erweisen. Daß es leichte, mitunter sehr leichte Fälle von Cholera gebe, hatte man auch früher vermutet, ohne es jedoch eigentlich beweisen zu können; daß aber die Abstufungen in der Intensität der Krankheit so weit gehen könnten, wie es tatsächlich nach den Erfahrungen der letzten

Epidemien der Fall ist, hat uns erst die Bakteriologie gelehrt, und es bedarf wohl keines weiteren Hinweises darauf, wie gefährlich für die Verschleppung der Cholera gerade solche leichteste Fälle sind und von welcher Wichtigkeit der Nachweis derselben sein muß<sup>1)</sup>.

Das von mir ursprünglich angegebene Verfahren, dessen Grundlage bekanntlich die Kultur auf Gelatineplatten bildet, hat sich, wie sich im Verlauf der vorjährigen Epidemie sehr bald herausstellte, nicht immer hinreichend den eben gestellten Anforderungen entsprechend erwiesen. An Sicherheit hat dasselbe allerdings nichts zu wünschen übrig gelassen; denn es ist mir nicht bekannt geworden, daß es in geschickten und geübten Händen auch nur einmal in den gewöhnlichen Fällen versagt hätte. Nur bei den erwähnten leichtesten Fällen, deren Dejektionen sehr wenige Cholerabakterien enthalten, Fälle, die uns überhaupt erst durch die später zu schildernden Methoden zugänglich geworden sind, reicht das Gelatineplatten-Verfahren nicht aus. Worin die bisherige Technik indessen am meisten zu wünschen übrig ließ, das war die Schnelligkeit des Nachweises. Wenn man in der üblichen Weise vorging und Platten anlegte, auf denen die Kolonien sich so weit entwickelt haben mußten, daß sie ein charakteristisches Aussehen hatten und groß genug waren, um von einer einzelnen Kolonie mikroskopische Präparate anfertigen zu können, dann gingen darüber in der Regel, je nach den Temperaturverhältnissen, anderthalb bis zwei Tage hin. In vielen Fällen hat es nun aber, wenn es sich um den ersten Nachweis in einem Orte handelte, auch länger, bis zu fünf Tagen, gedauert, ehe man imstande war, sich mit Bestimmtheit darüber auszusprechen, ob asiatische Cholera vorlag oder nicht. Diese Vorkommnisse sind indessen nicht der Methode zur Last zu legen, sondern dem Mangel an Übung bei denjenigen, welche die Untersuchung auszuführen hatten. Ich könnte dafür ziemlich viele Beispiele anführen, will mich aber nur auf einen Fall beschränken, der am bekanntesten geworden und wohl auch der folgenschwerste gewesen ist. Am 16. August 1892 kam der erste Cholerakranke ins Hamburger Krankenhaus und starb daselbst am 17. August. Am 18. wurde die Obduktion gemacht und zugleich die bakteriologische Untersuchung von Dr. R u m p e l begonnen<sup>2)</sup>. Dieselbe blieb indessen bis zum 21. August erfolglos und würde es wohl auch ferner gewesen sein, wenn nicht die Platten in die Hände von E. F r a e n k e l gelangt wären, der dann bis zum folgenden Tage ein bestimmtes Urteil abgeben konnte. Ich selbst habe auf einer im Eisschrank aufbewahrten Gelatineplatte der dritten Verdünnung von diesem Falle noch mehrere Cholerakolonien gesehen und mich davon überzeugen können, daß die Diagnose auch in diesem Falle keine besonders schwierige gewesen wäre. Wenn schon am 16. August, als der Kranke so verdächtige klinische Symptome zeigte, daß er in einer Isolierbaracke untergebracht und strenge Vorsichtsmaßregeln ergriffen wurden, die Dejektionen desselben von sachkundiger Hand bakteriologisch untersucht wären, dann hätte man spätestens am 18. zu einer sicheren Diagnose gelangt sein müssen. Fast zu gleicher Zeit wurden in Altona am 19. August von Dr.

---

<sup>1)</sup> Diese leichtesten Cholerafälle, bei denen Cholerabakterien in den festen Dejektionen scheinbar gesunder Menschen gefunden wurden, kommen nur unter Gruppen von Menschen vor, die gleichmäßig der Infektion ausgesetzt waren und neben den leichten auch schwere Fälle aufweisen. Bei Personen, welche gar nicht infiziert sein konnten, ist etwas Derartiges noch niemals gefunden worden. Man muß diese Fälle deswegen als echte Cholerafälle auffassen und kann sie nicht etwa als Beweismittel gegen den spezifischen Charakter der Cholerabakterien verwerten.

<sup>2)</sup> Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1893, Nr. 7, p. 161. Es ist mir unverständlich, warum Herr Dr. R u m p e l in seinem Aufsatz in gesperrter Schrift mitteilt, daß „weder ich noch Dr. W e i s s e r mit der Feststellung der Choleradiagnose in Hamburg etwas zu tun gehabt haben“, da doch weder ich, noch Dr. W e i s s e r das jemals beansprucht haben. Meine Beteiligung an der Angelegenheit beschränkt sich darauf, daß ich meiner Verwunderung darüber Ausdruck gegeben habe, daß die Choleradiagnose in Hamburg so viel Zeit in Anspruch genommen hatte, während sie doch in Altona so schnell gelungen war.

Weisser die Dejektionen eines verdächtigen Falles untersucht und bis zum 21. Reinkulturen der Cholerabakterien daraus erhalten, welche Dr. Weisser am folgenden Tage in Berlin demonstrierte.

Für einen geübten Bakteriologen erforderte die bakteriologische Untersuchung eines Cholerafalls nach dem älteren Verfahren, wie bereits erwähnt ist, etwa zwei Tage. Wenn es zu erreichen war, diese so kostbare Zeit zu verkürzen, dann mußte das von größtem Wert sein. Diese Überzeugung hat sich manchem Bakteriologen, der mit Cholerauntersuchungen zu tun hatte, aufgedrängt und hat nicht wenige veranlaßt, nach Verbesserungen des Verfahrens zur Abkürzung desselben zu suchen. Erfreulicherweise sind diese Bestrebungen nicht ohne Erfolg geblieben und wir verfügen augenblicklich über wesentliche Verbesserungen, von denen sich nicht immer mit Bestimmtheit sagen läßt, wem wir dieselben zu verdanken haben. Es haben viele daran geholfen, der eine hat ein Scherflein, der andere einen größeren Teil dazu beigetragen. Es ist auch zu hoffen, daß immer noch weiter gebessert und die Zukunft uns noch Vollkommeneres bieten wird. Wenn ich trotzdem jetzt schon, ehe von einem wirklichen Abschluß in der Gestaltung der bakteriologischen Choleradiagnose gesprochen werden kann, es unternommen habe, hier eine Übersicht über den augenblicklichen Stand derselben zu geben, so ist dies darin begründet, daß jene Verbesserungen bisher entweder gar nicht oder ungenügend bekannt geworden sind und nur in den betreffenden Laboratorien benutzt werden, während es doch sehr erwünscht ist, daß die Fortschritte auf diesem Gebiete möglichst bald den weitesten Kreisen zugänglich gemacht werden, um in der uns bevorstehenden weiteren Bekämpfung der Cholera nützliche Verwendung zu finden.

Um unnötige Weitläufigkeiten zu vermeiden, werde ich alles, was sich im Laufe der Zeit als weniger vorteilhaft oder überflüssig erwiesen hat und deswegen wieder verlassen ist, weglassen, auch nicht die vollständige historische Entwicklung des Verfahrens geben und die Verdienste jedes einzelnen daran hervorheben, sondern mich darauf beschränken, das Verfahren zu schildern, welches zurzeit im Institut für Infektionskrankheiten geübt wird, und das sich auf Grund umfangreicher Erfahrungen als erprobt erwiesen hat. Zu diesem Verfahren gehören folgende Teile:

### 1. Die mikroskopische Untersuchung.

Nach den in der letzten Epidemie gemachten Erfahrungen muß ich auf die mikroskopische Untersuchung jetzt einen weit größeren Wert legen wie früher.

Dieser Teil der Untersuchung besteht darin, daß aus dem zu untersuchenden Objekt (Darminhalt einer Leiche oder Dejektionen eines Kranken) in der bekannten Weise und zwar, wenn nur irgend möglich, von einer der Flüssigkeit entnommenen Schleimflocke ein Deckglaspräparat hergestellt wird. Zum Färben bedient man sich am besten einer verdünnten Zielchen Fuchsinlösung.

Je nach der Schwere des Falles und nach dem Stadium der Krankheit finden sich in derartigen Präparaten die Cholerabakterien ganz oder nahezu in Reinkultur, oder gemischt mit den gewöhnlichen Darmbakterien, unter diesen vorwiegend das *Bact. coli*, in allen Abstufungen bis zu solchen Fällen, in welchen mikroskopisch nichts mehr von gekrümmten Stäbchen zu finden ist.

Handelt es sich um eine Reinkultur der Cholerabazillen, oder ist daneben nur das *Bact. coli* vertreten, die Cholerabakterien aber in überwiegender Zahl, dann liegen die Cholerabakterien in der Regel, und zwar an den Stellen, wo der Schleim bei der Präparation fadenförmig ausgezogen ist, in charakteristisch geformten Gruppen beisammen. Sie bilden nämlich Häufchen, in denen die einzelnen Bazillen sämtlich dieselbe Richtung haben,

so daß es so aussieht, als wenn ein kleiner Schwarm derselben, wie etwa Fische in einem langsam fließenden Gewässer hintereinander her ziehen. Schon bei meinen ersten Untersuchungen war mir diese eigentümliche Lagerung der Cholera-Bakterien in den Schleimflocken aufgefallen und ich habe gelegentlich der ersten Konferenz zur Erörterung der Cholerafrage (26. Juli 1884)<sup>1)</sup> eine Abbildung veröffentlicht, welche das geschilderte Verhalten der Cholera-Bakterien zeigt. Später habe ich in Kursen und bei Demonstrationen regelmäßig darauf aufmerksam gemacht. Es finden sich auch photographische Abbildungen, welche nach meinen Präparaten angefertigt sind, in Gaffkys Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Cholera im Jahre 1883 nach Ägypten und Indien entsandten Kommission (Berlin 1887), Taf. 15, Fig. 7 und 8, sowie in C. Frankels und R. Pfeiffers mikrographischen Atlas (1891) Fig. 84 und 85. Bilder, welche den hier beschriebenen auch nur im entferntesten ähnlich sind, habe ich niemals in Fällen gesehen, wo die weitere Untersuchung ergab, daß keine asiatische Cholera vorlag. Man findet sie ausschließlich bei Cholera und ich halte sie deswegen für so charakteristisch, daß man daraufhin schon mit Sicherheit asiatische Cholera diagnostizieren kann. Ich gehe sogar noch weiter. Wenn in mikroskopischen Präparaten aus Dejektionen die eigentümliche Gruppierung der Cholera-Bakterien fehlen sollte, aber neben zahlreichen verstreuten Bakterien, welche das Aussehen von Cholera-Bakterien haben, nur *Bact. coli* gefunden wird, dann kann man ebenfalls noch mit Sicherheit darauf rechnen, asiatische Cholera vor sich zu haben. Erst wenn das Bakteriengemisch ein komplizierteres wird, fängt die mikroskopische Diagnose an unsicher zu werden.

Aber wenn ich behaupte, daß allein auf die mikroskopische Untersuchung hin die Diagnose gestellt werden kann, dann setze ich voraus, daß der Untersuchende große Übung und Erfahrung besitzt und außerdem einen gewissen Blick für die Formunterschiede der Bakterien hat, eine Eigenschaft, die ich nicht selten auch bei geübten Bakteriologen vermißt habe. Wer also die mikroskopische Prüfung der Choleraobjekte für die Diagnose in zuverlässiger Weise verwerten will, der muß sich zuvor die erforderliche Übung an zahlreichen geeigneten Präparaten, welche womöglich von ihm selbst angefertigt sind, aneignen und seinen Blick für das Erkennen des morphologischen Habitus der Cholera-Bakterien schärfen. Dies vorausgesetzt, ist die mikroskopische Diagnose von der größten Wichtigkeit, da sie nach den im Institut für Infektionskrankheiten während der letzten Epidemie gemachten Erfahrungen in nahezu 50 Prozent des zur Untersuchung eingeschickten Cholera-Materials allein schon ausgereicht hat, ein bestimmtes Urteil über die betreffenden Fälle abzugeben, das heißt also, daß es damit ermöglicht war, in etwa der Hälfte aller Untersuchungen schon wenige Minuten nach dem Eintreffen der Objekte die Diagnose zu stellen und telegraphisch an den Einsender das Ergebnis der Untersuchung zu melden. In allen diesen Fällen ist selbstverständlich die Prüfung später soweit vervollständigt, daß jeder Zweifel an der vorläufigen Diagnose ausgeschlossen blieb, und es ist nicht in einem einzigen Falle notwendig gewesen, das allein auf die mikroskopische Untersuchung hin abgegebene Urteil abzuändern. Was aber eine so schnelle Diagnose für die Cholera-Propylaxis bedeutet, das vermag jeder zu ermessen, der weiß, daß der Cholera gegenüber nie zu schnell gehandelt werden kann. Wie nützlich es ferner wäre, wenn recht viele Ärzte auf die mikroskopische Diagnose eingeübt wären, habe ich noch vor nicht langer Zeit in einem Falle erlebt, wo man sich vier Tage lang mit Kulturversuchen vergeblich abgemüht hatte, ohne zum Ziele zu kommen und wo die ersten mikroskopischen Präparate, wie ich nachträglich konstatieren konnte, genügt hätten, sofort die richtige Diagnose zu stellen.

<sup>1)</sup> Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1884, Nr. 32 u. 32 A. (Siehe diese Werke Bd. II, p. 21. D. Herausgeber.)

## 2. Die Pepton-Kultur.

Bei seinen Untersuchungen über die chemischen Reaktionen der Cholera-kulturen hatte *Dunham*<sup>1)</sup> gefunden, daß die Cholera-bakterien in einer sterilisierten Lösung von 1 Prozent Pepton und 0,5 Prozent Kochsalz sich bei Bruttemperatur sehr schnell vermehrten. Schon nach sechs Stunden hatte sich die Flüssigkeit sichtlich getrübt und gab mit Schwefelsäure die bekannte Cholera-rot-Reaktion. Da ebenso behandelte Kulturen in Fleischbrühe ohne und mit Peptonzusatz viel weniger günstige Resultate gaben, so ließ sich aus diesen Beobachtungen entnehmen, daß eine reine Peptonlösung, welche einen entsprechenden Gehalt an Kochsalz hat, ein besonders guter Nährboden für die Cholera-bakterien sein muß. Von dieser Erfahrung wurde seitdem aber nur dann Gebrauch gemacht, wenn man die Cholera-rot-Reaktion in möglichst reiner Erscheinung erhalten wollte. Für den beschleunigten Nachweis der Cholera-bakterien in Dejektionen usw. hat sie meines Wissens keine Anwendung gefunden. Erst im Laufe der letzten Epidemie hat *Dunbar* im Hamburger hygienischen Institute die *Dunham*-sche Entdeckung zur Untersuchung von Cholera-objekten benutzt und zu einem brauchbaren Verfahren gestaltet. Man wendet dasselbe jetzt in der Weise an, daß in die sterilisierte einprozentige Peptonlösung, welche sich in Reagensgläsern befindet, ein oder mehrere Platinösen der Dejektion, oder wenn dieselbe Schleimflocken enthält, einige solcher Flocken bringt und bei einer Temperatur von 37° hält. Die Cholera-bakterien besitzen, wie *Hesse*<sup>2)</sup> so überzeugend nachgewiesen hat, ein sehr hohes Sauerstoffbedürfnis; sie streben nach der Flüssigkeitsoberfläche und vermehren sich daselbst ungestört von den übrigen Fäkes-bakterien, welche, wenigstens anfangs, mehr in den tieferen Schichten der Flüssigkeit bleiben. Wenn man nach einiger Zeit, sobald nämlich die Flüssigkeit die ersten Spuren von Trübung zeigt, mit der Platinöse Tröpfchen von der Oberfläche der Peptonlösung entnimmt und mikroskopisch untersucht, dann findet man bei reichlichem Vorhandensein der Cholera-bakterien in dem Aussaat-Material oft schon nach 6 Stunden an der Oberfläche der Peptonlösung eine Reinkultur von Cholera-bakterien. Sind weniger vorhanden gewesen, dann erscheinen sie später an der Oberfläche und mehr oder weniger gemischt mit Fäkesbakterien (hauptsächlich *Bact. coli*), so daß die mikroskopische Untersuchung schließlich in Zweifel lassen kann, ob die vorgefundenen gekrümmten Bakterien Cholera-bakterien sind. Auf jeden Fall wird aber das ursprüngliche Untersuchungsmaterial durch die Peptonkultur an Cholera-bakterien, sofern dieselben überhaupt vorhanden sind, so angereichert, daß die weitere Untersuchung und Isolierung, welche allein mit der Gelatineplatten-Kultur und ähnlichen Verfahren unsicher oder aussichtslos war, nun eine erhebliche leichtere geworden ist. Es hat sich nämlich sowohl bei den Untersuchungen im hygienischen Institut zu Hamburg, als auch im Institut für Infektionskrankheiten herausgestellt, daß in einer gewissen allerdings nur kleinen Zahl von leichten und wegen des sehr geringen Gehalts an Cholera-bakterien besonders schwierigen Fällen die Peptonkultur noch positive Resultate ergeben hat, in denen mit dem Gelatineplatten-Verfahren nichts mehr zu finden war. Diese Erscheinung erkläre ich mir vorläufig so, daß die in solchen Fällen überwiegenden Fäkesbakterien in der Plattenkultur die Cholera-bakterien, welche ihnen nicht wie in der Peptonflüssigkeit ausweichen können, überwuchern und in ihrer Entwicklung so zurückhalten, daß sie verkümmert und für das bloße Auge, selbst für schwache Vergrößerungen unsichtbar bleiben. Auf jeden Fall hat sich bei dieser Gelegenheit die Peptonkultur dem Plattenverfahren so überlegen gezeigt, daß ich sie bei keiner Untersuchung entbehren möchte. Zu einem bestimmten Urteil berechtigt sie nur,

<sup>1)</sup> Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 1887, Bd. II, p. 337.

<sup>2)</sup> Ebenda, Bd. XIV.

wenn die Cholera Bakterien in Reinkultur an der Oberfläche der Flüssigkeit angetroffen werden. In den übrigen Fällen bietet sie nur den allerdings unentbehrlichen Vorteil der Anreicherung an Cholera Bazillen. Die beste Zeit zur Untersuchung der Peptonlösung ist 6 bis 12 Stunden nach der Aussaat, mitunter muß man länger warten. Es ist eben notwendig, von Zeit zu Zeit eine Probe zu untersuchen, um das Maximum der Entwicklung der Cholera Bakterien zu treffen. Später werden sie von anderen Bakterien auch in den oberen Flüssigkeitsschichten überwuchert und verdrängt und es kann der Fall eintreten, daß sie bei einer zu späten Untersuchung nicht mehr gefunden werden.

Zu erwähnen ist noch, daß es nach den im Institut für Infektionskrankheiten gemachten Erfahrungen vorteilhaft ist, den Kochsalzzusatz auf 1 Prozent zu erhöhen und die Flüssigkeit kräftig alkalisch zu machen, wenn sie es nicht schon an und für sich ist. Es eignet sich auch nicht jedes der käuflichen Peptonpräparate dazu. Wir benutzen mit Vorliebe das von W i t t e in Rostock bezogene Präparat. Da das Pepton des Handels, selbst aus derselben Fabrik, nicht gleichmäßigen Alkaligehalt besitzt, so kann für den Zusatz von Soda keine bestimmte Gewichtsmenge angegeben werden<sup>1)</sup>. Es ist deswegen notwendig, ehe ein bestimmtes Pepton für diesen Zweck in Gebrauch genommen wird, daß dasselbe durch Vorversuche auf seine Fähigkeit, als bevorzugtes Nährmittel für Cholera Bakterien zu dienen, geprüft und daß die erforderliche Menge von Soda, welche etwa noch hinzugesetzt werden muß, um die üppigsten Kulturen zu erhalten, bestimmt wird.

### 3. Die Gelatineplatten-Kultur.

Das Aussehen der Cholera Kolonien in Gelatineplatten ist ein so charakteristisches, namentlich wenn dieselben in überwiegender Zahl oder gar in Reinkultur vorhanden sind, daß dieses Verfahren, obwohl es an Feinheit von der Peptonkultur, wie erwähnt wurde, übertroffen wird, nicht entbehrt werden kann. Pepton- oder Gelatineplatten-Kultur müssen sich gegenseitig ergänzen. Durch die Peptonkultur wird das Objekt in wenigen Stunden an Cholera Bakterien so angereichert, daß auch die Gelatineplatte, welche ohne diese Hilfe nur vereinzelte oder in gewissen Fällen selbst gar keine Kolonien zur Entwicklung gebracht hätte, nunmehr mit charakteristischen Kolonien übersät ist.

In der Technik des Gelatineplatten-Verfahrens hat sich nichts geändert. Es werden in der bekannten und in allen Lehrbüchern der Bakteriologie beschriebenen Weise drei Verdünnungen hergestellt und in Doppelschalen gegossen. Je wärmer dieselben gehalten werden, um so schneller erscheinen die Kolonien, man wird daher zur möglichsten Beschleunigung des Verfahrens die Platten einer Temperatur aussetzen, bei welcher die Gelatine gerade noch fest genug bleibt, damit die Cholera Kolonien nicht zu stark verflüssigen und ihr charakteristisches Aussehen behalten. Diese Temperatur liegt bei einer gut präparierten 10prozentigen Gelatine bei 22°. Die Kolonien erreichen unter diesen Verhältnissen in 15 bis 20 Stunden ihr charakteristisches Aussehen. Da ein geringes Überschreiten dieser Temperatur das Erweichen der Gelatine und Zerfließen der Kolonien zur Folge hat, so ist es durchaus notwendig, die Platten in einem auf 22° eingestellten Brütapparat zu halten, welcher nicht größeren Schwankungen als einen halben Grad über und unter 22° hat. Wenn die Kulturen bei einer zu hohen Temperatur gehalten werden oder wenn die Gelatine nichts taugt und schon bei 22° zu weich ist, dann verflüssigen die Cholera Kolonien die Gelatine in größerem Umfange und sie bekommen dann ein Aussehen, welches demjenigen der F i n k l e r s c h e n Bakterien sehr ähnlich ist. Ungeübte können deswegen leicht in den Irrtum verfallen, wenn sie ungeschickt operiert haben, F i n k l e r s c h e statt der

<sup>1)</sup> Das im Institut gebrauchte Pepton enthält in einem Gramm Substanz 0.025 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (durch Titrieren unter Anwendung von Lackmuspapier als Indikator bestimmt).

Cholera-Bakterien vor sich zu haben, ein Irrtum, welcher während der letzten Epidemie in der Tat wiederholt vorgekommen ist.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit eine Legende, welche sich seit einer Reihe von Jahren in der Bakteriologie erhalten hat und von einem Lehrbuch ins andere kritiklos übernommen ist, ein Ende machen, nämlich der Annahme, daß die Finkler'schen Bakterien in irgendwelcher Beziehung zur sogenannten Cholera nostras stehen und zur Verwechslung mit den Bakterien der asiatischen Cholera Veranlassung geben könnten. Die Finkler'schen Bakterien wurden ursprünglich aus mehrere Tage alten, in fauligem Zustande befindlichen Dejektionen eines an Brechdurchfall Erkrankten gezüchtet. Ein Beweis für das regelmäßige und ausschließliche Vorkommen derselben bei Cholera nostras konnte von ihrem Entdecker schon damals nicht geliefert werden und ich habe deswegen von Anfang an mich gegen die diesen Bakterien vindizierte Bedeutung ausgesprochen. Später habe ich sehr oft Gelegenheit gehabt, Fälle von Cholera nostras zu untersuchen, habe aber niemals die Finkler'schen Bazillen getroffen. Ebenso ist es anderen geübten Bakteriologen gegangen. Auch Finkler selbst hat sie, wie er mir vor einiger Zeit mündlich mitteilte, nicht wieder gefunden. Die umfassendsten Untersuchungen in dieser Richtung sind gelegentlich der letzten Epidemie gemacht, wo Tausende von choleraverdächtigen Fällen, unter denen doch zahlreiche Fälle von Cholera nostras gewesen sind, bakteriologisch geprüft wurden, aber nicht in einem einzigen sind die Finkler'schen Bakterien einwandfrei nachgewiesen. Wo sie angeblich gefunden wurden (z. B. in der Klinik von Peter in Paris) kann es für den Kenner keinen Augenblick zweifelhaft sein, daß es sich um grobe Irrtümer eines Anfängers in der Bakteriologie gehandelt hat. Nach diesen Erfahrungen sollten die Finkler'schen Bakterien, welche bis jetzt nur Verwirrung angerichtet und in einem mir bekannt gewordenen Falle sogar einen recht folgenschweren Irrtum veranlaßt haben, doch endlich von der Bildfläche verschwinden und aufhören, als Schreckgespenst für angehende Cholera-Bakteriologen zu dienen.

Unter gewöhnlichen Verhältnissen, d. h. wenn frische Cholera-Bakterien in einer richtig präparierten Gelatine und bei einer nicht zu niedrigen Temperatur sich entwickeln, entspricht das Aussehen der Kolonien dem vielfach beschriebenen und in Photographien<sup>1)</sup> dargestellten Bilde. Abweichungen in der Zusammensetzung der Gelatine, langsame Entwicklung bei niedriger Temperatur, können ein abweichendes Aussehen bedingen, auf dessen richtige Beurteilung man geübt sein muß. Ältere, lange Zeit im Laboratorium fortgezüchtete Kulturen geben ebenfalls ein von dem typischen mehr oder weniger abweichendes Wachstum. Bei frischen Cholera-Bakterien habe ich bis jetzt erst ein einziges Mal ein solches atypisches Wachstum auf Gelatine gesehen, welches sich dadurch auszeichnet, daß die Kolonien eine sehr geringe Neigung zur Verflüssigung besitzen und sich infolgedessen anfangs platten- oder schildartig ausbreiten. In allen übrigen Eigenschaften, namentlich in den später zu beschreibenden, maßgebenden, stimmten diese Bakterien mit den gewöhnlichen Cholera-Bakterien vollkommen überein und mußten infolgedessen als echte Cholera-Bakterien angesehen werden. Mit Rücksicht auf solche, wie ich hier aber ausdrücklich bemerke, nur ganz ausnahmsweise beobachtete Abweichungen im Wachstum auf Gelatineplatten, wird man Fälle, welche zweifelhaft zu sein scheinen, durch Anwendung anderweitiger Kriterien vollständig klar zu stellen haben.

#### 4. Die Agarplatten-Kultur.

Dieses Verfahren ist eigentlich nur eine Modifikation des vorhergehenden, unterscheidet sich aber von demselben in einigen wesentlichen Punkten. Das Wachstum der

<sup>1)</sup> Vgl. Riedel, Die Cholera 1887; Gaffkys Bericht über die Choleraexpedition; Fränkel und Pfeiffers Mikrophotogr. Atlas.

Cholerabakterien auf Agar ist kein so charakteristisches wie das in Gelatine, und man ist nicht imstande, sie nach ihrem Aussehen allein ohne weiteres als Cholerakolonien zu bezeichnen. Dennoch kann ein geübter Blick auch die auf Agar gewachsenen Cholerakolonien mit ziemlicher Sicherheit von den gewöhnlichen Fäkes- und Wasserbakterien unterscheiden. Sie bilden, wenn sie sich auf der Oberfläche von Agar entwickelt haben, mäßig große Kolonien mit einem eigentümlichen hellgraubraunen transparenten Aussehen, während fast alle anderen hier in Frage kommenden Bakterien weniger transparente Kolonien bilden. Die fraglichen Kolonien müssen, um sicher zu gehen, jedesmal mikroskopisch darauf geprüft werden, ob sie auch aus Bakterien bestehen, die morphologisch mit den Cholerabakterien übereinstimmen. Käme es allein auf das makroskopische Aussehen dieser Kolonien an, dann würde die Agarplattenkultur den Gelatineplatten gegenüber gar keine Vorteile bieten und zur weiteren Ausbildung der bakteriologischen Diagnose keine Verwertung finden können. Der bedeutende Gewinn aber, den wir aus der Agarkultur ziehen können, liegt darin, daß die Agarkultur einer hohen Temperatur ( $37^{\circ}$ ) ausgesetzt werden kann und deswegen schon nach acht bis zehn Stunden Kolonien von einer Größe liefert, welche für unsere weiteren Zwecke geeignet ist. Da es hierzu notwendig ist, die Kolonien auf der Oberfläche und nicht im Innern der Agarschicht, wo sie sich erheblich langsamer entwickeln und kleiner bleiben, wachsen zu lassen, so mischt man nicht das Aussaatmaterial mit dem verflüssigten Agar, wie es beim Gelatineverfahren stets geschieht, sondern gießt das verflüssigte Agar in Doppelschalen, läßt es erstarren und breitet dann das Aussaatmaterial mit einer Platinöse auf der Oberfläche des Agars aus. Da aber ferner frisch gegossenes Agar an der Oberfläche eine dünne Flüssigkeitsschicht abscheidet, welche der Entwicklung isolierter Kolonien hinderlich sein würde, so müssen die mit Agar beschickten Doppelschälchen, ehe sie weiter benutzt werden können, einige Tage im Brütapparat stehen, bis die Flüssigkeit verdunstet ist. Selbstverständlich werden die geimpften Agarplatten in den auf  $37$  bis  $38^{\circ}$  eingestellten Brütapparat gebracht. Ganz vereinzelt Cholerakolonien sind unter vielen anderen auf der Agarplatte kaum herauszufinden, aber wenn sie nur einigermaßen zahlreich sind, dann fallen sie sofort auf. Aus diesem Grunde eignet sich die Agarkultur nicht für ein Ausgangsmaterial, welches an Cholerabakterien sehr arm ist; um so mehr dagegen, nachdem dasselbe durch die Peptonkultur angereichert ist. Wir verwenden dasselbe daher fast ausschließlich zur weiteren Vervollständigung der Peptonkultur. Mit letzterer erhält man nach sechs bis zehn Stunden eine an Cholerabakterien reiche Flüssigkeit, die nach weiteren acht bis zehn Stunden auf Agar verhältnismäßig große Kolonien, also Reinkulturen von Cholerabakterien entstehen läßt. Diese können dann, nachdem sie mikroskopisch geprüft sind, teils zur Anlegung von Reinkulturen in Peptonlösung dienen, welche in kurzer Zeit die Cholerarot-Reaktion ermöglichen, teils können sie, wenn sie zahlreich und groß genug sind, direkt zum Tierversuch verwendet werden.

### 5. Die Cholerarot-Reaktion (Indolreaktion).

Bekanntlich kommt diese fast gleichzeitig von B u j i d und D u n h a m entdeckte Reaktion dadurch zustande, daß auf Schwefelsäurezusatz in den Cholerakulturen, welche Indol und salpetrige Säure enthalten, eine rote Färbung entsteht. Andere Bakterien produzieren ebenso wie die Cholerabakterien Indol, wieder andere vermögen Salpetersäure zu salpetriger Säure zu reduzieren, vielleicht gibt es auch solche, welche beide Eigenschaften mit den Cholerabakterien gemeinsam haben, aber keine der bis jetzt bekannten Bakterien, welche eine gekrümmte Form haben und aus diesem Grunde morphologisch mit den Cholerabakterien verwechselt werden können, liefern in ihren Kulturen gleich-

zeitig Indol und salpetrige Säure und diese Bakterien geben die Rotreaktion nicht. Aus diesem Grunde müssen wir der Cholera-rot-Reaktion für die Unterscheidung der Cholera-bakterien von ähnlich geformten Bakterien einen sehr hohen Wert beimessen. Wenn die Reaktion aber volle Sicherheit bieten soll, dann sind folgende Vorsichtsmaßregeln streng einzuhalten. Vor allen Dingen muß man sich ein geeignetes Pepton beschaffen, denn nicht jede Sorte Pepton liefert gleich gute Resultate. Wahrscheinlich ist diese Differenz, wie B l e i s c h <sup>1)</sup> nachgewiesen hat, darin begründet, daß Peptonsorten, welche die Reaktion nicht gut geben, entweder einen zu geringen oder einen zu großen Gehalt an Nitraten haben. Entweder muß man daher durch Vorversuche ein geeignetes Pepton auffinden und sich davon einen genügenden Vorrat beschaffen, oder man kann auch nitratarmen bzw. nitratfreien Peptonen, sofern man solche bekommen kann, nach dem Vorschlag von B l e i s c h Nitrat in entsprechender Menge zusetzen. Ein zweites Erfordernis für die Zuverlässigkeit der Reaktion ist, daß die zur Verwendung kommende Schwefelsäure vollkommen frei von salpetriger Säure ist. Als dritte Bedingung gilt, daß die Reaktion nur mit einer Reinkultur von Cholera-bakterien angestellt wird. Wenn dies nicht der Fall ist, dann bleibt beim Gelingen des Experimentes der Einwand, daß von anderen Bakterien das Indol oder die salpetrige Säure herrührt, nicht ausgeschlossen.

Da die Reaktion mit Kulturen, die in Fleischbrühe, auch wenn sie peptonhaltig ist, gewachsen sind, nicht so gleichmäßig und deutlich ausfällt, so sollte dieselbe stets mit Kulturen in einer Peptonlösung angestellt werden.

## 6. Der Tierversuch.

Daß die Kulturen der Cholera-bakterien, wenn sie Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingespritzt werden, toxisch wirken können, war schon längere Zeit bekannt, aber die Angaben darüber lauteten widersprechend. Erst durch die Arbeiten von R. P f e i f f e r <sup>2)</sup> ist es sichergestellt, daß das Gift vorwiegend in den Cholera-bakterien selbst enthalten ist und daß man nur dann gleichmäßige und zuverlässige Resultate erhält, wenn nicht flüssige Kulturen, sondern die auf Agar gewachsenen Kulturen in bestimmter Menge in die Bauchhöhle von Meerschweinchen gebracht werden. Nach P f e i f f e r s Vorgang verfährt man so, daß man von der Agaroberfläche mit einer Platinöse, welche ungefähr 1,5 mg der Kultur zu fassen vermag, eine volle Öse entnimmt, in 1 ccm sterilisierter Bouillon verteilt und in die Bauchhöhle injiziert. Auf diese kleine Operation muß man sich selbstverständlich ebenfalls einüben; denn bei Ungeübten kommt es recht oft vor, daß sie die Injektionsflüssigkeit nicht in die Bauchhöhle, sondern ganz oder teilweise in den angestochenen Darm injizieren. Die Größe der Versuchstiere ist nicht gleichgültig; je größer die Tiere sind, um so größer muß auch die tödliche Dosis sein. Eine Platinöse von der angegebenen Größe kann als sicher tödliche Dosis für ein Meerschweinchen von 300 bis 350 g Gewicht gelten. Ist die Versuchsanordnung richtig, dann gelingt das Experiment ausnahmslos und es treten bald nach der Injektion von Cholera-kultur die eigentümlichen von P f e i f f e r eingehend beschriebenen Vergiftungserscheinungen auf, vor allem der schnelle, in jedem Versuch mit dem Thermometer zu verfolgende Temperaturabfall, dem schließlich der Tod folgt. Da eine oder wenige auf Agar kräftig zur Entwicklung gekommene Kolonien schon für eine den Tierversuch ausreichende Menge der Kultursubstanz liefern kann, so ergibt sich daraus der große Vorteil möglichst frühzeitig angelegter Agarkulturen. Auf den Tierversuch muß ebenso wie auf die Cholera-rot-Reaktion deswegen großer Wert gelegt werden, weil derselbe in verhältnismäßig kurzer Zeit eine

<sup>1)</sup> Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. XIV.

<sup>2)</sup> Ebenda, Bd. XI u. XIV.

Eigenschaft der Cholerabakterien erkennen läßt, welche ihnen ausschließlich zukommt. Unter allen gekrümmten, d. h. spirillenartigen Bakterien, welche bei der Untersuchung auf Cholera in Frage kommen, ist bisher keine gefunden, welche in der angegebenen Dosis auch nur annähernd ähnliche Symptome bewirkt, wie die Cholerabakterien.

Die im vorhergehenden beschriebenen sechs Einzelverfahren geben uns die Mittel an die Hand, um in allen Fällen zu einer sicheren und schnellen Diagnose zu gelangen. Es kommt nur darauf an, dieselben in richtiger Weise, d. h. in zweckmäßiger Reihenfolge und Kombination anzuwenden.

Die früher benutzten Kulturen im hohlen Objektträger und auf Kartoffeln, sowie die Gelatinekulturstichkultur sind durch die hier beschriebenen Hilfsmittel überflüssig gemacht.

Die richtige Entnahme der Untersuchungsobjekte, deren eventuelle sachgemäße Verpackung, Versendung usw. als bekannt vorausgesetzt, würde der Gang der eigentlichen Untersuchung sich nun folgendermaßen gestalten.

1. Zunächst werden mikroskopische Präparate, womöglich von Schleimflocken angefertigt und untersucht. Zeigt sich in denselben die früher beschriebene charakteristische Anordnung der Cholerabakterien oder eine Reinkultur derselben, was, wie gesagt, in nahezu der Hälfte der Fälle zutreffen kann, dann erklärt man schon daraufhin den Fall für asiatische Cholera. Zur nachträglichen vollkommenen Sicherung dieser Diagnose wird gleichzeitig eine Gelatineplattenkultur und eine Peptonkultur angelegt. Erstere kommt in einen auf 22°, letztere in einen auf 37° eingestellten Brütapparat (es müssen also beständig zwei Brütapparate mit verschiedenen Temperaturen zur Verfügung stehen). Nach etwa 8 Stunden finden sich an der Oberfläche der Peptonkultur Cholerabakterien in Reinkultur, in welchem Falle die Indolreaktion angestellt wird, und die Gelatineplatten zeigen nach etwa 20 Stunden die charakteristischen Formen der Cholerakolonien. Es wurde bereits erwähnt, daß im Institut für Infektionskrankheiten diese nachträgliche Prüfung die vorläufige Diagnose in solchen Fällen ausnahmslos bestätigt hat.

2. Wenn die mikroskopische Untersuchung unsicher bleibt, dann sind von dem Untersuchungsmaterial sofort Gelatineplatten und Peptonkulturen anzulegen, womöglich auch schon Agarplatten. Die Gelatineplatten bleiben bei einer Temperatur von 22°, Agarplatten und Peptonkultur bei 37°. Von sechs Stunden nach Beginn des Versuches an werden die Peptonkulturen von Zeit zu Zeit auf das Auftreten von gekrümmten Bakterien mikroskopisch untersucht. Sobald sich letztere zeigen, werden von neuem Agarplatten und zwar jetzt aus der Peptonkultur angelegt, um möglichst schnell große Cholerakolonien zu bekommen. Dies kann schon zehn Stunden nach der Aussaat der Fall sein und man ist dann schon imstande, wenn die Zahl derselben sehr reichlich ist und inzwischen die Gelatineplatten Cholerakolonien ebenfalls in überwiegender Mehrzahl zur Entwicklung gebracht haben, die Diagnose auf Cholera abzugeben, welche nachträglich durch einige Peptonreinkulturen (von der Agar- oder Gelatineplatte angelegt) und die damit angestellten Indolreaktionen kontrolliert wird.

3. Es kann nun aber ferner der Fall eintreten, daß zwar in der Peptonkultur, wenn auch etwas später und in geringerer Zahl, Kommabazillen auftreten, während gleichzeitig auf den Gelatineplatten ganz vereinzelte oder gar keine charakteristischen Kolonien zu finden sind. Dann kommt alles auf eine richtige Benutzung der Agarplatten an, welche aus den Peptonkulturen geimpft werden. Auf diesen zeigen sich möglicherweise auch unter solchen schwierigen Verhältnissen noch verdächtige Kolonien. Diese müssen sofort in Reinkulturen auf frischen Agarplatten, in Peptonröhrchen und in Gelatineplatten fortgepflanzt und sobald als möglich für die Indolreaktion und den Tierversuch verwendet

werden; denn in solchen zweifelhaften Fällen wird auch der Tierversuch stets zu machen sein, um ganz sicher zu gehen. Es kann auch von Vorteil sein, von den ersten Peptonkulturen, welche noch wenige Kommabakterien mikroskopisch erkennen lassen, sofort eine zweite Generation in Peptonlösung zu kultivieren, um eine weitere Anreicherung der etwa vorhandenen Cholera-bakterien und damit eine wesentliche Erleichterung der ferneren Untersuchung zu erzielen.

Auch in solchen schwierigen Fällen, welche übrigens nicht häufig sind, kann die Untersuchung in höchstens zwei Tagen beendet sein.

Da aus der letzten Epidemie mehrfach über Fälle berichtet ist, in denen die Cholera-bakterien bei wiederholten Untersuchungen nur vorübergehend gefunden wurden, so wird man es auch in Zukunft unter Umständen bei einem einmaligen negativen Befund nicht bewenden lassen, sondern die Untersuchung wiederholen müssen.

Eine besondere Besprechung erfordert noch die Untersuchung von Wasser auf den Gehalt an Cholera-bakterien.

Dieselbe ist im Laufe der vorjährigen Epidemie vielfach gemacht, aber mit Ausnahme der positiven Befunde von C. F r ä n k e l<sup>1)</sup> und L u b a r s c h<sup>2)</sup> stets mit negativem Erfolg, selbst an solchen Stellen, wo die Cholera-bakterien bestimmt im Wasser erwartet werden mußten. Von antibakterieller Seite ist das Mißlingen des Nachweises selbstverständlich gegen die Bedeutung der Cholera-bakterien verwertet. Nun ist aber nach allen bisherigen Erfahrungen der Mensch das feinste Reagens auf das Vorhandensein von Cholera-bakterien und das Vorkommen von Choleraerkrankungen unter Menschen, welche nur durch Vermittelung des Wassers infiziert sein konnten, liefert schon an und für sich den unwiderleglichen Beweis dafür, daß Cholera-bakterien in dem betreffenden Wasser gewesen sein müssen. In der letzten Epidemie sind vielfach derartige Vorkommnisse beobachtet, vor allem das Verhalten der Choleraepidemie in den Städten Hamburg, Altona und Wandsbeck, welches in unbestreitbarer Weise gezeigt hat, daß das Wasser Träger des Cholera-infektionsstoffes sein kann. Deswegen habe ich auch aus den bisherigen vergeblichen Versuchen, die Cholera-bakterien im Wasser zu finden, nicht den Schluß gezogen, daß sie nicht darin vorhanden sind, sondern daß unsere Untersuchungsmethode zu unvollkommen ist, um sie unter den sehr schwierigen Verhältnissen, welche sich dem bakteriologischen Nachweis von Infektionsstoffen im Wasser bieten, aufzufinden.

Die Hauptschwierigkeit liegt darin, daß das Wasser mehr oder weniger zahlreiche andere Bakterien enthält, welche in den künstlichen Kulturen die Cholera-bakterien sofort überwuchern und ersticken. Ganz besonders gilt dies von stark verunreinigten Wässern, welche Zuflüsse von städtischen Schmutzwässern, Fäkalien usw. erhalten, und gerade diese sind es, welche auf Gehalt an Cholera-bakterien untersucht werden mußten. Aus diesem Grunde konnte man mit den früher zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln nur dann etwas zu finden hoffen, wenn das Wasser vor der Untersuchung stark verdünnt wurde, um auf diese Weise den Einfluß der anderweitigen Bakterien einigermaßen zu eliminieren. Natürlich hatte die Verdünnung des Wassers wieder zur Folge, daß nur sehr geringe Mengen, in der Regel nur Bruchteile eines Tropfens untersucht werden konnten. Unter diesen Verhältnissen ließ sich auf einen Erfolg nur dann rechnen, wenn entweder die Zahl der Cholera-bakterien im Wasser außerordentlich groß, oder wenn umgekehrt die Zahl der anderen Bakterien sehr gering waren, Verhältnisse, welche vom Zufall abhängig sind und möglicherweise nur ganz ausnahmsweise vorkommen. Solchen Zufälligkeiten

<sup>1)</sup> Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1892, Nr. 41.

<sup>2)</sup> Ebenda, 1892, Nr. 43.

wird es vermutlich zuzuschreiben sein, daß es mir gelungen ist, in einem indischen Tank, *Fränkel* im Wasser des Dortmunder Hafens, *Lubarsch* im Kielwasser eines Elbdampfers die Cholera-bakterien nachzuweisen. In den beiden ersteren Fällen scheint die große Anzahl der Cholera-bakterien, im letzteren die geringe Zahl der Wasserbakterien der Untersuchung zu Hilfe gekommen zu sein.

Um nicht ferner von solchen Zufälligkeiten abhängig zu sein, blieb nichts anderes übrig, als sich nach einer besseren Untersuchungsmethode umzusehen und in dieser Beziehung lag nach den günstigen Erfahrungen, welche mit der Anreicherung von Choleraflüssigkeiten durch die Peptonkultur gemacht waren, nichts näher, als dasselbe Prinzip auch auf die Wasseruntersuchung anzuwenden<sup>1)</sup>.

Anfangs wurden ganz wie bei dem geschilderten Peptonverfahren ein oder wenige Tropfen des zu untersuchenden Wassers der Peptonlösung zugesetzt. Da aber aus den früheren vergeblichen Wasseruntersuchungen zu entnehmen war, daß nur ganz ausnahmsweise sehr zahlreiche Cholera-bazillen im Wasser angetroffen werden, so wurde das Verfahren dahin abgeändert, daß möglichst große Mengen des Wassers verarbeitet wurden und zwar in der Weise, daß dem Wasser unmittelbar eine genügende Menge Pepton und Kochsalz (von jedem 1 Prozent) zugesetzt und die Mischung dann bei 37° gehalten wurde.

Nach 10, 15 und 20 Stunden sind von der Peptonkultur Agarplatten zu beschicken. Die mikroskopische Untersuchung der Peptonkultur ist in diesem Falle von untergeordneter Bedeutung, da man fast aus jedem Wasser auf die angegebene Weise gekrümmte Bakterien heranzüchtet, welche den Cholera-bakterien morphologisch sehr ähnlich sind. Dagegen werden alle ihrem Aussehen nach verdächtigen auf der Agarplatte zur Entwicklung gekommenen Kolonien zuerst mikroskopisch geprüft und, sofern sie aus gekrümmten Bakterien bestehen, weiter gezüchtet zur Anstellung der Indolreaktion und des Tierversuches, welche bei Wasseruntersuchungen unter allen Umständen die Diagnose vervollständigen müssen. Nach den bisherigen Erfahrungen scheint es zweckmäßig zu sein, die zu prüfende Wassermenge nicht größer als etwa 100 cm<sup>3</sup>) zu nehmen und besser eine Anzahl Einzelproben zu verarbeiten, als über diese Menge hinauszugehen.

Das soeben beschriebene Verfahren hat sich im Institut für Infektionskrankheiten durchaus bewährt, es sind mit Hilfe desselben während der Winterepidemie in Hamburg, Altona und Nienleben die Cholera-bakterien im Elbwasser, in einem Brunnen in Altona, auf den Rieselfeldern von Nienleben, im Saalewasser und im Leitungswasser der Anstalt nachgewiesen<sup>3)</sup>. In diesen Fällen, in welchen es zum ersten Male gelungen ist, in einer größeren Zahl von verdächtigen Wasserproben die Cholera-bakterien aufzufinden, ist selbstverständlich alles aufgeboten, um jeden Irrtum auszuschließen. Die meisten Untersuchungen sind gleichzeitig von mehreren der im Institut beschäftigten Herren gemacht. Es wurden ferner zum Vergleich andere nicht choleraverdächtige Wasserproben und von den verdächtigen Stellen wiederholt, auch nach dem Aufhören der Epidemie, Proben untersucht. Es ergab sich dabei, daß die verschiedenen Untersucher fast immer zu übereinstimmenden Resultaten gelangten, daß die stets durch Indolreaktion und Tierversuch als Cholera-bakterien identifizierten Mikroorganismen nur in den Gewässern gefunden

<sup>1)</sup> Vermutlich demselben Gedankengang folgend, haben *van Ermengens*, *Bujwid* und *Arrens* Verfahren angegeben, welche dem oben beschriebenen ähnlich sind. *Van Ermengens* ist es auch gelungen, mit Hilfe desselben die Cholera-bakterien in einem Wasserlaufe nachzuweisen, an dessen Ufern Cholera herrschte. (Vgl. *van Hassel*, Rapport sur l'épidémie de choléra 1892 dans la commune de Paturages.)

<sup>2)</sup> Gemeint sind wohl *ccm.* D. Herausgeber.

<sup>3)</sup> Nähere Angaben über die Verhältnisse, unter denen diese Befunde gemacht sind, behalte ich mir für eine andere Mitteilung vor.

wurden, welche zu Choleraerkrankungen in Beziehung standen, und daß schließlich beim Aufhören der Epidemie auch die Choleraerkrankungen geschwunden waren.

Es finden sich, wie bereits erwähnt wurde, fast regelmäßig, auf jeden Fall sehr häufig, im Wasser der verschiedensten Herkunft gekrümmte Bakterien, welche ebenso wie die Choleraerkrankungen sich in den oberen Schichten der Peptonkultur anhäufen. Im Institut für Infektionskrankheiten sind bereits fast ein Dutzend derartige zu den Spirillen gehörige Bakterien gesammelt. Auch von anderen Bakteriologen sind solche Spirillen im Wasser aufgefunden. Alle diese unterscheiden sich für ein geübtes Auge schon mehr oder weniger durch das Aussehen der Agar- und Gelatinekolonien von den Choleraerkrankungen, sehr leicht und sicher aber durch das Fehlen der Indolreaktion und der toxischen Wirkung auf Meerschweinchen. In den menschlichen Dejektionen scheinen sie nur höchst selten und wohl nie in großer Menge vorzukommen, so daß eine Erschwerung der bakteriologischen Choleradiagnose durch dieselben nicht zu fürchten ist.

---

Schon das früher übliche Verfahren zur bakteriologischen Choleradiagnose, welches sich auf Gelatineplattenkultur, Stichelkultur usw. beschränkte, erforderte eine nicht geringe Übung, wenn es rasch und sicher zum Ziele führen sollte. Vielfache Übung und vollständiges Beherrschen der Technik erfordert aber in noch höherem Maße das etwas kompliziertere neue Verfahren und es ist daher gewiß nicht überflüssig, wenn zum Schlusse nochmals mit besonderem Nachdruck darauf hingewiesen wird, daß jeder der Cholera bakteriologisch zu diagnostizieren hat, sich die erforderliche Übung beizeiten aneignen sollte und sofern er sie nicht besitzt, besser tut, die Untersuchung an geeignete Stellen abzugeben.

---