

**247. Alexander Poehl: Ueber einige biologisch-chemische Eigenschaften der Mikroorganismen im Allgemeinen und über die Bildung der Ptomaine durch die Cholerabacillen im Speciellen.**

(Eingegangen am 19. April; mitgeteilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

In den meisten Fällen ist die Ptomainbildung der Lebensthätigkeit von Mikroorganismen zuzuschreiben, indem einzelne derselben die Eiweisskörper des sie umgebenden Mediums spalten. In den Verdauungswegen des lebenden menschlichen Organismus ist die Ptomainbildung eine gewöhnliche Erscheinung, und ich begann meine Beobachtungen in dieser Richtung an den Mikroorganismen der Fäces. Bienstock<sup>1)</sup> hat bekanntlich in normalen Fäces überhaupt nur Bacillen gefunden und darunter eine Bacillenart, von der er behauptet (pag. 21), dass es der spezifische Spaltpilz der Zersetzung des Eiweisses sei. Bei Gelegenheit der bacteriologischen Untersuchungen über die Desinfection von menschlichen Dejectionen, die ich gemeinsam mit Prof. Eichwald und Dr. Schneider ausgeführt<sup>2)</sup>, hatte ich mich davon überzeugt, dass in den Dejectionen von Menschen, deren Magensaft nicht jene Rolle der Quarantäne spielte, welche Bienstock im normalen Zustande des Magensaftes erkannte, die Anzahl der eiweisszersetzenden Mikroorganismen eine bedeutende ist. Wir hatten es bei unseren Untersuchungen mit den Fäces der mannichfaltigsten Kranken des Obuchow'schen Hospitals zu thun, und daher fanden wir ausser den von Bienstock beschriebenen Bacillen auch viele Mikroorganismen, die keine Sporen führten, besonders Kokken. Die gleichzeitige Bildung von Oxydations- und Reductionsproducten im Darmtractus weist schon darauf hin, dass die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen hier eine bedeutende Rolle spielt. Hoppe-Seyler<sup>3)</sup> hat die Eiuwirkung der Bakterien auf die Eiweisskörper mit der Wirkung der Aetzalkalien (Schützenberger<sup>4)</sup>) verglichen und auf das gleichzeitige Auftreten von Oxydations- und Reductionsproducten verwiesen.

Die Ptomaine gehören zu den Reductionsproducten, und somit glaube ich, dass wir bei Prüfung der Mikroorganismen auf ihr Vermögen, Reductionsprocesse zu bedingen, ein diagnostisches Mittel erhalten können, die Befähigung zur Ptomainbildung zu erkennen. Zu diesem

<sup>1)</sup> Bienstock, Zeitschr. für klin. Medicin 1884, I, pag. 1—48.

<sup>2)</sup> Prof. Eichwald, Dr. Poehl und Dr. Schneider, Ueber die Desinfection menschlicher Dejectionen. Regierungsanzeiger Russland (Prawitels-twenny Westnik) 1885, No. 109, und Tagesbl. der Moskauer und St. Petersburger Aerzte (russ.) (1886), pag. 151.

<sup>3)</sup> Hoppe-Seyler, Pflüger's Arch. Bd. XII, pag. 1—17.

<sup>4)</sup> Schützenberger, Compt. rend. 1876, pag. 1108 u. s. w.

Zwecke stellte ich eine Reihe von Versuchen mit den verschiedensten Mikroorganismen an. Um das Reductionsvermögen der Bakterien während ihrer Lebensthätigkeit zu erkennen, versetzte ich die Kochsche Nährgelatine unter Beobachtung nachstehender Vorsichtsmaassregeln mit geringen Mengen (ca. 0.05 pCt.) Eisenchlorid und rothen Blutlaugensalzes. Die geringe Menge der beiden Salze rief bei vergleichender Prüfung mit gewöhnlicher Nährgelatine keine auffallend hemmende Wirkung auf die Entwicklung der Colonieen hervor. In sterilisirte Probircylinder, welche die oben erwähnte, mit den Eisensalzen versetzte Nährgelatine enthielten, wurden durch Einstechen, unter Cautelen der Asepsis, mittelst eines mit bestimmten Bakterien infectirten Platindrahtes in der Gelatine Culturen erzeugt. Einige solcher Stichculturen wiesen schon nach 12—24 Stunden deutliche Reduction durch Bildung von Berlinerblau am Ende des Impfstiches auf, bei manchen trat die Blaufärbung des Impfstiches später auf, bei manchen war selbst bei weit vorgeschrittener Verflüssigung der Gelatine keine Reduction zu beobachten. Sehr bezeichnend ist der Umstand, dass meist die Reduction einige Millimeter (4—8) unter der Oberfläche der Nährgelatine beginnt. Es scheint der Sauerstoff der Luft, welcher durch den, wenn auch sehr engen Stichcanal Zutritt hat, der Reduction hinderlich zu sein. Nach eingetretener Blaufärbung des Stichcanals, welche mit der Entwicklung der Mikroorganismen zunimmt, tritt häufig eine Blaufärbung der Nährgelatine auf, die von den reducirten Stellen des Stichcanals sich in der Nährgelatine gleichmässig ausbreitet. Aber auch in diesem Falle dringt die Blaufärbung nicht bis an die Oberfläche der Nährgelatine, sondern es bleibt selbst nach wochenlangem Cultiviren eine Schicht von 4—8 mm der Gelatine unverfärbt. Selbstverständlich gilt Obenerwähntes nur für Culturen, welche keine Verflüssigung des Nährbodens bedingen. Bekanntlich weisen die meisten Ptomaine Reductionsvermögen auf, und somit ist die Blaufärbung der Gelatine durch die löslichen und von der Gelatine imbibirten Reductionsproducte bedingt.

Das Versetzen der Nährgelatine mit rothem Blutlaugensalz und Eisenchlorid muss mit gewisser Vorsicht ausgeführt werden. Ausser der Beobachtung der Cautelen der Asepsis muss darauf Rücksicht genommen werden, dass bei Zusatz erwähnter Salze zu einer stark erwärmten Nährgelatine die Empfindlichkeit für Reductionsprocesses wesentlich erniedrigt wird. Wir haben es hier offenbar mit Bildung von Eisenalbuminaten zu thun, daher darf der Zusatz nach beendigter Sterilisation der Nährgelatine erst nach Abkühlung bis fast zum Erstarrungspunkte zugesetzt werden. Eine noch grössere Schwierigkeit bei oben erwähnten Versuchen bietet der Umstand, dass die Empfindlichkeit der Reaction nur in schwach saurem Medium zu erwarten ist; da aber einzelne Mikroorganismen ihre Lebensthätigkeit nur in schwach

alkalischen Medien entwickeln, so hatte ich meine Versuche für diese Fälle in folgender Weise geändert: Der schwach alkalische Nährboden wurde mit rothem Blutlaugensalz und Eisenchlorid versetzt, darauf die Mikroorganismen verimpft, und über das Auftreten oder Ausbleiben der Reduction überzeuete ich mich, nach Abschluss der Beobachtung, durch Zusatz von Salzsäure zu den Sticheulturen. Wenn Reduction stattgefunden hatte, trat die Bildung von Berlinerblau nach Säurezusatz auf. In Fällen, wo ich mit Mikroorganismen experimentirte, die sich nur bei Bluttemperatur entwickelten, wie z. B. viele der Fäcesbacillen, und da bekanntlich die Koch'sche Nährgelatine bei solcher Temperatur schmilzt, so hatte ich die betreffende Nährgelatine von Koch mit gleichen Theilen einer 1procentigen Agaragargelatine versetzt. Diese Mischung, deren Schmelzpunkt weit über der Bluttemperatur liegt, wurde in oben beschriebener Weise mit den beiden Eisensalzen unter Beobachtung der erwähnten Vorsichtsmaassregel versetzt. Die Culturen wurden stets vor directem Lichte geschützt, um die Zersetzung des Ferricyankaliums zu vermeiden.

Zu den Versuchen sind die verschiedensten Mikroorganismen normaler und kranker Fäces, des Newawassers<sup>1)</sup>, des St. Petersburger Wasserleitungswassers, ferner der Typhusbacillus, der Streptococcus pyogenes und der Bacillus der Cholera asiatica von Koch genommen. Die Culturen der Cholerabacillen waren durch Dr. Rapschewsky aus Spanien gebracht, und ich erhielt dieselben durch Prof. J. Afanassieff. Beiden genannten Collegen bringe ich meinen Dank zum Ausdruck. Die Kommabacillen, die Typhusbacillen, die Streptokokken, viele Mikroorganismen der Fäces, der Sputa, einige des Newawassers und des Wasserleitungswassers riefen ausgesprochene Reductionsercheinungen hervor, während einige Mikroorganismen, worunter auch der Bacillus subtilis, selbst bei wochenlanger Cultivirung keine Reduction aufwiesen. Auffallend war der Umstand, dass unter den die Röhrgelatine unter gewöhnlichen Bedingungen verflüssigenden Mikroorganismen gerade wenige Reduction aufwiesen.

Bei Gelegenheit der Untersuchung von Mikroorganismen, die in alkalischen Medien sich entwickeln (Cholerabacillus), machte ich die Beobachtung, dass nach Zusatz von Salzsäure zur entwickelten Stichcultur in der Eisenchlorid und rothes Blutlaugensalz haltenden Masse neben der Bildung von Berlinerblau ein rothes Pigment sich bildete. Dieses Pigment wird von Amylalkohol vollständig aufgenommen, bei Zusatz von Chlorkalklösung (in geringen Mengen) nimmt die Pigment-

---

<sup>1)</sup> A. Pöhl, Chemische und bacteriologische Untersuchungen betreffend die Wasserversorgung St. Petersburgs. St. Petersburger Medicin. Wochenschrift 1884, No. 31—33.

bildung zu, und man erhält intensiv gefärbte Lösungen. Das Spectrum der Amylalkohollösung zeigt den rothen und orangen Theil bis D beleuchtet, während der übrige Theil des Spectrums verdunkelt ist, nur zwischen F und G erweist sich dasselbe weniger beschattet. Eine genauere spectroscopische Prüfung, um den Gang der Absorption für verschiedene Concentrationen zu bestimmen, wie ich solches für Farbenreactionen in Vorschlag gebracht<sup>1)</sup>, beabsichtige ich noch auszuführen. In Chloroform ging das Pigment nicht über. Als Beleg dafür, dass die Rothfärbung nicht durch die Anwesenheit von geringen Mengen von Eisenchlorid bedingt ist, kann der Umstand dienen, dass bei Culturen derselben Bakterien, welche zur Controle in gewöhnlicher Nährgelatine gezogen wurden, gleichfalls nach Zusatz von Salzsäure eine Rothfärbung auftrat und zwar mit denselben Eigenschaften. (Es liefert nämlich Eisenchlorid mit der Acetyldiacetsäure eine ähnliche Rothfärbung.) Es ist sehr viel Wahrscheinlichkeit dafür vorhanden, dass wir es mit dem von Brieger<sup>2)</sup> in pathologischen Harnen gefundenen Skatolderivat zu thun haben, einem jener Spaltungsproducte, welches neben dem Indol bei der Zersetzung der Eiweisskörper sich bildet. Erwähntes Skatolderivat hat neuerdings auch Plosz<sup>3)</sup> und Krukenberg<sup>4)</sup> spectroscopisch untersucht, und für die von mir beobachtete Concentration stimmen die Spectra recht gut überein. Die Leichtlöslichkeit in Amylalkohol und die Einwirkung des activen Chlors sprechen zu Gunsten der Identität, dagegen spricht nur die Unlöslichkeit oder wenigstens geringe Löslichkeit in Chloroform. Es ist übrigens die Möglichkeit auch nicht ausgeschlossen, dass wir es mit dem Chromogen zu thun haben, welches bei der Trypsinverdauung der Eiweisskörper schon von Tiedemann und Gmelin beobachtet wurde, und welches nach Kühne<sup>5)</sup> auch bei den Choleraejectionen vorkommen soll und von Krukenberg<sup>6)</sup> eingehend beschrieben ist.

Ich hatte leider keine Gelegenheit, die Untersuchungen in Bezug auf Reductionsvermögen mit den Prior-Finkler'schen Mikroben der Cholera nostras anzustellen. Es wäre solches interessant, um den biologisch-chemischen Unterschied der Mikroben der Cholera nostras und derjenigen der Cholera asiatica festzustellen. Meiner Ueberzeugung nach muss der Unterschied gerade in der Ptomainbildung liegen. Als

<sup>1)</sup> A. Pöehl, Anwendung optischer Hilfsmittel bei der gerichtl.-chem. Ermittlung von Pflanzengiften. St. Petersburg 1876.

<sup>2)</sup> Brieger, Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. IV, p. 414.

<sup>3)</sup> Plosz, Zeitschr. für physiol. Chemie 1884, p. 84—89.

<sup>4)</sup> Krukenberg, Zur Charakteristik einiger Farbenreactionen. Würzburg 1884, p. 17.

<sup>5)</sup> Kühne, Lehrbuch d. physiol. Chemie. Leipzig 1868, p. 151.

<sup>6)</sup> Krukenberg, l. c. p. 7—16.

Beleg für diese Behauptung kann ich Nachstehendes aufweisen: Schon vor 1½ Jahren hatte ich Gelegenheit, bei einem Falle von Cholera nostras (aus der Praxis von Prof. Eichwald) die Einwirkung der Prior-Finkler'schen Mikroorganismen auf Syntonin zu beobachten. Ich stellte damals den Versuch an, um eventuelle Ptomaïne, deren Bildung ich erwartete, zu untersuchen, und daher nahm ich ca. 500 g Syntonin in Arbeit. Meine Enttäuschung war nicht gering, als ich selbst nach 7 Tagen keine Ptomaïne finden konnte. Schon nach ca. 24 Stunden war fast die ganze Masse verflüssigt und zum grössten Theil peptonisirt, darauf trat allmählich die Bildung von Ptomopepton<sup>1)</sup> auf, aber Ptomaïne konnte ich nicht finden. Der Versuch wurde in einem Kolben ausgeführt unter Cautelen der Asepsis.

Der biologisch-chemische Unterschied zwischen den Mikroben der Cholera nostras und asiatica besteht, meiner Meinung nach, wesentlich darin, dass die Kommabacillen von Koch mehr sauerstoffbedürftig sind als diejenigen von Prior und Finkler. Als Beleg dafür können uns einerseits die Unterschiede in den Stichculturen dienen. Die Entwicklung der Kommabacillen von Koch geht offenbar bei Stichculturen nur dort in lebhafter Weise vor sich, wo der Sauerstoff der Luft seinen Zutritt hat; sie tragen also vollkommen den Charakter von aëroben Organismen. Die Stichculturen der Prior-Finkler'schen Bacillen dagegen entwickeln sich auf der ganzen Länge des Stichcanals gleichmässig.

Bei den Prior-Finkler'schen Stichculturen tritt schnelle Verflüssigung ein, und die sich bildende Flüssigkeit füllt den ganzen sich erweiternden Stichcanal; trotz solchem Abschluss des Sauerstoffs der Luft durch diese Flüssigkeit geht doch die Entwicklung rapid vor sich. Folglich ist man zu der Annahme berechtigt, dass die Mikroorganismen der Cholera nostras durchaus nicht das Sauerstoffbedürfniss der asiatischen Kommabacillen aufweisen. Ein anderer Beweis für das ausserordentliche Sauerstoffbedürfniss der Kommabacillen von Koch lässt sich ersehen aus dem bekannten Versuche von Schottelius, welcher gefunden hat, dass in einer Mischung von Choleraejektionen, mit der 10fachen Menge Fleischbouillon versetzt, nach 24 Stunden auf der Oberfläche der Flüssigkeit sich ausschliesslich nur Kommabacillen finden. Er schlägt dieses Verfahren zur Herstellung von Reinculturen vor und als einfaches Mittel, die bacteriologische Diagnose auf Kommabacillen in Excrementen zu stellen. Da die Kommabacillen von Koch trotz ihres Sauerstoffbedürfnisses im Darne sich sehr lebhaft entwickeln, so müssen dieselben reducirende Erscheinungen in dem sie umgebenden Medium hervorrufen, und dieser Umstand muss meiner Meinung

<sup>1)</sup> A. Poehl, Diese Berichte XVI, 1155 und 1979.

nach die Bildung von Ptomainen involviren. Zudem weisen auch meine obenerwähnten Versuche durch die Bildung von Berlinerblau in den Stichelculturen das Reductionsvermögen auf und somit auch die Möglichkeit der Ptomainbildung. Der Umstand, dass bei der Cholera asiatica Ptomaine ohne Zweifel eine Rolle spielen, ist schon allein aus den pathologisch-anatomischen Befunden ersichtlich, welche zeigen, dass bei dieser Erkrankung nicht nur eine Infection, sondern auch eine Intoxication vorgeht. Zudem ist der Nachweis von Ptomainen durch die Untersuchungen von Klebs, Pouchet, Nicati und Rietsch in Choleraejectionen wie auch in frischen Choleraleichen geliefert, und es ergibt sich, dass die physiologischen Versuche mit den gewonnenen Ptomainen an Thieren pathologische Erscheinungen hervorriefen, welche ziemlich übereinstimmende Krankheitserscheinungen boten und den Typus der Choleraerkrankung erkennen liessen.

In Anbetracht obenerwähnter Umstände kann ich nicht umhin, meine Meinung auszusprechen, dass wir unter den therapeutischen Mitteln bei der Cholera vor Allem eine grössere Aufmerksamkeit den Oxydationsmitteln zuwenden müssen. Erstens wäre zu berücksichtigen, dass die meisten Ptomaine durch Oxydationsmittel zerstört werden, zweitens dürfte die Einführung der Oxydationsmittel in den Darmtractus die Ptomainbildung direct verringern. Die Oxydationsmittel wie Wasserstoffsperoxyd, Hypermanganate u. s. w. müssen selbstverständlich in die Verdauungswege so eingeführt werden, dass sie im Dünndarm ihre Wirkungen äussern, was auf dem durch Unna in Vorschlag gebrachten Wege vermittelt der mit Keratin überzogenen Arzneiformen möglich ist.

Schliesslich glaube ich noch eine Beobachtung erwähnen zu müssen, trotzdem dieselbe nicht abgeschlossen ist. Gelegentlich der Verimpfung der asiatischen Cholera in eine schwach alkalische Nährgelatine, welche rothes Blutlaugensalz und Eisenchlorid enthielt, erhielt ich Stichelculturen, welche vollkommen den Charakter der Stichelculturen von Cholera nostras zeigten. Die weitere Verimpfung dieser modificirten Organismen in gewöhnliche Nährgelatine einerseits und solche mit Eisensalzzusatz ergab Stichelculturen, die sowohl in dem einen wie in dem andern Falle ausgesprochene Verflüssigung aufwiesen, und zwar wieder unter Beibehaltung des Typus der Cholera nostras mit dem Unterschiede nur, dass in dem Probircylinder, welcher die Eisensalze enthielt, die Verflüssigung schneller vor sich ging. Leider werde ich für einige Monate diese Beobachtungen an Kommabacillen nicht weiter verfolgen können, da andere dringende Arbeiten meine Zeit vollkommen in Anspruch nehmen.

Es wäre nämlich nöthig, sich die Gewissheit zu verschaffen, ob nicht im gegebenen Falle die angewandte Reincultur der Cholera bacillen eine Verunreinigung erlitten hat. Wenn dieser Umstand mit Ge-

wissheit ausgeschlossen ist, kann man hierin eine biologisch-chemische Veränderung der Kommabacillen erkennen. Die Annahme, dass die Einwirkungen des Nährmediums in gewissen Grenzen die biologischen Eigenschaften der Mikroorganismen beeinflusst, hat ja sehr viel Wahrscheinlichkeit für sich, und dieser Umstand gab mir die Veranlassung zur Veröffentlichung einer derartigen un abgeschlossenen Beobachtung, und es würde mich freuen, wenn ich durch diese Veröffentlichung zu Versuchen in dieser Richtung Veranlassung geben würde.

Weitere Prüfungen der Mikroorganismen in ihrer Einwirkung auf Leukanilin, Indophenol und ähnliche Reagentien, die zur Feststellung einer chemischen differentiellen Diagnose von Bacterien dienen können, habe ich in Arbeit.

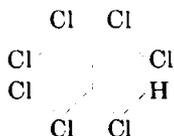
St. Petersburg, den 29. März 1886.

**248. Ad. Claus und C. Wenzlik: Ueber  $\beta$ -Heptachlor-naphtalin und  $\beta$ -Pentachlornaphtochinon.**

[Mitgetheilt von Ad. Claus.]

(Eingegangen am 3. Mai; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

Wie früher von Ad. Claus und H. v. d. Lippe angegeben ist<sup>1)</sup>, entsteht aus dem Tetrachlor- $\alpha$ -naphtochinon durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid ein Heptachlornaphtalin, welchem die Structur:



zukommt, und welches wir deshalb als  $\beta$ -Heptachlornaphtalin bezeichnen. Zur Darstellung wird 1 Gewichtstheil Tetrachlornaphtochinon mit 2 Gewichtstheilen Phosphorsuperchlorid im geschlossenen Rohre während 6—8 Stunden auf 250° C. erhitzt; das nach dem Auswaschen mit Wasser und Alkali bleibende Product wird durch oft wiederholtes Umkrystallisiren aus Alkohol und durch Sublimiren ge-

<sup>1)</sup> Diese Berichte XVI, 1019.