

## Über die chemische Zusammensetzung der Bacillen des *Erythema nodosum*

von

Dr. V. Bovet.

Aus dem chemischen Laboratorium des Prof. M. Nencki in Bern.

(Vorgelegt in der Sitzung am 6. December 1888.)

In den Fortschritten der Medicin vom Jahre 1888, Aprilheft Nr. 7, findet sich eine interessante Abhandlung von Professor Demme in Bern über 5 Fälle von *Erythema nodosum* mit Purpura, von acuter multipler Hautgangrän gefolgt. Als Ursache dieser eigenthümlichen, vorzugsweise jugendliche Individuen befallenden Erkrankung der menschlichen Haut fand Demme eine von ihm isolirte und als Erythemstäbchen bezeichnete Spaltpilzart. In dem Gewebssafte der Erythembeulen, in den auf einzelnen Erythemknoten bestehenden blasenartigen Erhebungen und Pusteln, sowie in den zur Hautgangrän führenden, bei intacter Epidermis untersuchten plaques fand Demme in verhältnissmässig reichlicher Zahl zweierlei wohl characterisirte Mikroorganismen, u. zwar:

a) 1·3 bis 1·5  $\mu$  Durchmesser haltende Mikrokokken als Mono- und Diplokokken, sowie in Zoogloehaufen, und ganz vereinzelt in Staphylokokkenform auftretend.

b) 2·2 bis 2·5  $\mu$  lange und 0·5 bis 0·7  $\mu$  breite, an den Enden etwas abgerundete zierliche Stäbchen. Dieselben fanden sich seltener in Einzelexemplaren, dagegen meist in kleineren oder grösseren Häufchen von mehreren Individuen zusammengelagert vor. In vereinzelt Exemplaren war deutliche Sporenbildung nachweisbar. Die Färbung der Stäbchen mit basischen Anilinfarben erhielt sich auch bei Anwendung der Gram'schen Flüssigkeit.

Durch Uebertragungen auf Meerschweinchen konnte Demme feststellen, dass nicht die Mikrokokken, sondern nur die Stäbchen dieselbe Krankheit verursachen und folglich als Urheber des Erythema nodosum zu betrachten sind.

In einzelnen Fällen wird diese Hautkrankheit von schweren allgemeinen Erscheinungen, wie hohe Temperatur, grosse Schwäche, blutiges Erbrechen und starke Somnolenz begleitet; es schien daher von Interesse, die Stoffwechselproducte dieses pathogenen Mikroben zu erforschen, und es war dies die nächste Veranlassung zu der in Folgendem zu beschreibenden Untersuchung. Nach Demme erfolgt das üppigste Wachstum der Erythemstäbchen auf Fleischinfuspepton-Agar oder erstarrtem Hammelblutserum bei einer Temperatur von 36 bis 37°. Auf Agar tritt an der Impfstelle, regelmässig erst nach 48 bis 60 Stunden, ein rundes, glänzendes, weisses, von der Oberfläche sich scharf abhebendes punktförmiges Scheibchen auf, welches am 3. oder 4. Tag linsengross geworden und eine zierliche, höchst regelmässige, vom Centrum nach der Peripherie verlaufende Strahlung darbietet. Am 6. oder 7. Tage erreicht die Cultur die Grösse eines 5 Centimes-Stückes und zeigt leicht gefrausten Rand; die excentrisch verlaufenden Strahlungen ragen jetzt deutlich über die Ebene der Scheiben hervor und nehmen einen paraffinähnlichen, bei schräg auffallender Beleuchtung silberähnlichen Glanz an. Auf erstarrtem Hammelblutserum bilden sie den Impfstichen entsprechende, paraffinähnlich schillernde Streifen mit zarter, einer Fischflosse ähnlichen Strahlung.

Dieser Spaltpilz ist aërobiotisch; bei Luftausschluss bleibt das Wachstum aus.

Auf Pepton-Glycerin-Bouillon vorgenommene Uebertragungen der mir freundlichst von Professor Demme überlassenen Reinculturen seines Bacillus zeigten so rasches und üppiges Wachstum, dass ich diese Nährflüssigkeit wählte, um Massenculturen anzulegen. 7 Liter steriles 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Glycerin und 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Pepton (Witte) enthaltende Rinderbouillon wurde mit den Demme'schen Reinculturen geimpft und bei einer Temperatur von 37 bis 38° im Thermostaten stehen gelassen, wobei sich die Stäbchen rasch entwickelten. Nach acht Tagen war eine dicke Schicht von an den Boden des Kolbens gesunkener Bacterien sichtbar, und die

Flüssigkeit begann sich zu klären, als Zeichen, dass die Hauptvermehrung vorbei war. Von jedem Kolben zur Controlle auf Nähragar vorgenommene Impfungen gaben alle die oben beschriebenen charakteristischen Colonien, und auch die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass überall die Erythemstäbchen durch keine andere Spaltpilzart verunreinigt waren.

Der Kolbeninhalt hatte saure Reaction und die auf dem Boden befindlichen Spaltpilze konnten von der Nährlösung durch Filtration auf einem feinen Leinwandläppchen sehr gut getrennt werden. Dieser Umstand machte es wünschenswerth, die isolirten Erythembacillen chemisch zu analysiren, und indem ich später auf die Untersuchung der Nährlösung zurückzukommen gedenke, erlaube ich mir vorerst die Zusammensetzung der Leibessubstanz dieser Mikroben hier mitzutheilen.

Die abfiltrirten und mit destillirtem Wasser nachgewaschenen Bacillen hinterblieben als ein geruchloser, gelblicher Rückstand. Sie wurden zur Entfernung des Waschwassers auf Fliesspapier liegen gelassen, bis der äusserste Rand der feuchten Masse einzutrocknen begann, worauf sie auf ein trockenes, gewogenes Filter gebracht wurden. Ihr Gewicht betrug jetzt 4·148 *g*. Im Luftbade bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet, verloren sie 2·9532 *g* an Gewicht = 71·19% Wasser. Die so getrockneten, 1·1856 *g* wiegenden Bacterien wurden zuerst mit Aether, dann mit Alkohol extrahirt, wobei sie, aus dem Verluste berechnet, 0·1284 *g* = 10·83% am Gewichte verloren. Direct gewogen beträgt der Aetherextract 0·0233 *g* = 1·99%, der Alkoholextract 0·1061 = 8·97%, zusammen also 10·96%. Auf Phosphorsäure, respective Lecithin geprüft, gab der Aetherextract negatives Resultat, wohl nur in Folge der geringen Menge der angewandten Substanz. Der in Aether und Alkohol unlösliche Rückstand der Bacterien wurde verbrannt.

#### *C* und *H* Bestimmung:

1. 0·2122 *g* (0·1962 *g* aschefreie) Substanz im offenen Rohre verbrannt geben 0·3749 *g* CO<sup>2</sup> und 0·1347 *g* H<sub>2</sub>O = 48·18% *C* und 7·05% *H* der aschehaltigen oder 52·14% *C* und 7·33% *H* der aschefreien Substanz.

2. 0·2015 *g* (0·1962 *g* aschefreie) Substanz geben 0·3712 *g* CO<sub>2</sub> und 0·1334 *g* H<sub>2</sub>O = 48·09% *C* und 6·98% *H* der

aschehaltigen oder  $52.3\%$  C und  $7.6\%$  H der aschefreien Substanz. Asche =  $0.0173g = 8.21\%$ .

Die Asche enthielt Phosphorsäure, Spuren von Chlor, sodann an Basen: Kalium, Calcium und Magnesium. Die Bacillen enthielten auch Schwefel.

*N* Bestimmung:

1.  $0.2051g$  ( $0.189g$  aschefrei) Substanz geben bei  $16.5^\circ$  Temperatur und  $764mm$  Barometerstand:  $20.56cm^3$  Ngas =  $10.77\%$  N der aschehaltigen,  $11.71\%$  der aschefreien Substanz.

2.  $0.150g$  der Substanz gaben  $15cm^3$  Ngas bei  $19.5T$  und  $710mm$  Bst =  $10.72\%$  N der aschehaltigen oder  $11.49\%$  der aschefreien Substanz.

Nimmt man an, dass der Stickstoff der mit Alkohol und Aether extrahirten Bacillen einzig und allein von Eiweissstoffen herrührt und setzt den Stickstoffgehalt des Eiweisses auf  $16\%$  an, so würde die procentuelle Zusammensetzung der bei  $110^\circ$  getrockneten Leibessubstanz der Erythemstäbchen im Mittel aus meinen Analysen ungefähr folgende sein:

In Alkohol lösliche Stoffe	$8.97\%$
Nur in Äther lösliche Stoffe	$1.99\%$
Asche	$7.5\%$
Eiweissstoffe	$64.2\%$
Cellulose und sonstige stickstofffreie Substanzen	$17.34\%$

Der Alkoholextract der Bacillen ( $0.12g$ ), der eine gelbliche, amorphe Masse bildete, wurde mit  $20cm^3$  Wasser auf dem Wasserbade digerirt, von dem ungelösten Fett filtrirt, auf ein kleines Volumen verdunstet, sodann in 2 Hälften getheilt und je eine Hälfte einem Meerschweinchen subcutan injicirt. Es zeigte sich bei den Thieren nicht die geringste toxische Wirkung. Ebenso hatte der Alkoholextract der eingedampften Nährlösung auf die Thiere keine giftige Wirkung. Allem Anscheine nach bilden also die Erythemstäbchen im Gegensatze zu anderen pathogenen Bacterien keine giftigen Ptomaine.