

XXVI.

Kleinere Mittheilungen.

1.

Ueber die chemische Zusammensetzung der Echinococcenflüssigkeit.

Von Dr. Immanuel Munk.

(Aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Hoppe-Seyler in Strassburg.)

Die bisherigen Untersuchungen haben in der Echinococcenflüssigkeit von anorganischen Bestandtheilen: Chlornatrium, von organischen: Zucker (Bernard, Lücke), Inosit und bernsteinsaures Natron (Heintz) nachgewiesen. Die Abwesenheit von Albuminaten erschien so constant, dass sie zur differentiellen Diagnose der Echinococcenflüssigkeit von den Transsudaten und übrigen Cystenflüssigkeiten geradezu verwerthet wurde. Ausser den Albuminaten wurden auch die Stoffe der regressiven Metamorphose der Eiweisskörper, wie Kreatin, Kreatinin, Xanthin, Harnstoff, Harnsäure u. s. w. darin vermisst oder waren wenigstens bisher noch nicht aus ihr dargestellt worden. Alles dies wies der Echinococcenflüssigkeit unter den im Thierkörper physiologisch oder pathologisch vorkommenden Flüssigkeiten eine ganz gesonderte Stellung an. Mit Harnstoffuntersuchungen nach anderer Richtung bin beschäftigt, benutzte ich die sich mir darbietende Gelegenheit, die aus einer Echinococcencyste der Leber auf der Klinik des Herrn Prof. Leyden durch Punction gewonnene Flüssigkeit, welche Herrn Prof. Hoppe-Seyler zur Untersuchung zugestellt war und mir von Letzterem bereitwilligst überlassen wurde, einer genaueren Prüfung auf einen Gehalt an Harnstoff, Kreatin u. s. w. zu unterwerfen; zugleich wurde eine ziemlich vollständige qualitative und, wo es anging, auch quantitative Analyse vorgenommen.

Die Echinococcenflüssigkeit, von der etwa 2 Liter entleert wurden, war ganz farb- und geruchlos, leicht opalisirend, sonst aber frei von jeder flockigen Trübung. Ihr specifisches Gewicht war = 1,012, die Reaction neutral. Bei der Einengung auf dem Wasserbade nahm sie allmählich eine gelbliche Färbung und schwach alkalische Reaction an. Es waren enthalten in 100 Theilen¹⁾:

| | |
|------------------|-------------------------------------|
| Wasser . . . | 98,426 |
| Fester Rückstand | 1,574 und zwar: Asche |
| | 0,968 Organische Substanz 0,606. |

¹⁾ Das spec. Gewicht war von Frerichs zu 1009, von Boedecker zu 1010, von v. Recklinghausen zu 1015, die Menge der festen Bestandtheile zu 1,41 pCt., 1,60 pCt., 2,0 pCt. gefunden worden.

Die Flüssigkeit wurde weder durch die Siedhitze noch durch Salpetersäure getrübt, dagegen trat beim Erhitzen mit concentrirter Salpetersäure eine Gelbfärbung ein, die auf Zusatz von Natronlauge in Orange überging und ferner eine deutliche Rothfärbung beim Erhitzen mit dem Millon'schen Reagens, so dass demnach geringe Mengen von Albuminstoffen vorhanden sein mussten. Wir wollen auf diese Spuren von Albuminaten keinen besonderen Werth legen und nur erwähnen, dass Erscheinungen von Entzündung des *Echinococcusbalges*, wie solche zuweilen nach der Punction oder aus unbekannten Ursachen eintritt und Eiweissgehalt der Cystenflüssigkeit zur Folge hat¹⁾, in unserem Falle vollständig fehlten, auch war dies die erste Punction, die bei der Patientin vorgenommen wurde. Mit Natronlauge versetzt, löste die Flüssigkeit viel schwefelsaures Kupferoxyd und färbte beim Erhitzen gelbrothes Kupferoxydul. Ebenso reducirete sie Wismuthoxyd, entfärbte Indigolösung, bräunte sich stark beim Erhitzen mit Natronlauge und liess nun nach Zusatz von Salpetersäure den Geruch nach gebranntem Zucker (Caramel) erkennen. Im Polarisationsapparat untersucht zeigte die Flüssigkeit keine Drehung.

1000 Ccm. wurden zur Untersuchung auf Zucker und Bernsteinsäure, welche letztere nach Heintz nur noch Boedecker daraus darstellen konnte, während ihr sicherer Nachweis Recklinghausen, Luecke, Frerichs und Valentiner nicht gelang, auf dem Wasserbade bei mässiger Temperatur zur Trockene eingedampft, und der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen. Es blieben somit die in absoluten Alkohol unlöslichen bernsteinsauren Alkalien zurück, während der Zucker in die alkoholische Lösung überging. Diese wurde nun auf dem Wasserbade auf 60 Cem. eingeengt, wobei sie eine tiefgelbe Färbung annahm; nach Behandlung mit gereinigter Thierkohle und Filtration in den Polarisationsapparat eingestellt, zeigte sie eine starke Rechtsdrehung, die auf Traubenzucker bezogen einem Gehalt von fast 1 pCt. entsprach; in den 60 Ccm., dem Gesamtextract aus 1000 Ccm. Flüssigkeit, waren also 0,6 Traubenzucker und mithin in der *Echinococcusflüssigkeit* selbst 0,06 pCt. Zucker vorhanden. Die Titrirung mit Fehling'scher Lösung ergab 0,077 pCt. Zucker. Der nach Verjagung des Alkohols in Wasser gelöste Rückstand wurde unter Quecksilberabschluss mit frischer, gut ausgewaschener Bierhefe versetzt; es kam in wenigen Stunden zu einer mässig lebhaften Gasentwicklung; das gebildete Gas wurde von Natronlauge vollständig absorbirt, somit hatte eine eigentliche alkoholische Gärung mit Bildung von CO_2 stattgefunden. Der Nachweis des Vorhandenseins von Traubenzucker war durch alles dies genügend geführt; schon Luecke²⁾ hatte mit ebenso positivem Erfolge an 3 verschiedenen *Echinococcusflüssigkeiten* die Rechtsdrehung und Gärungsfähigkeit der reducirenden Substanz erwiesen und sie darauf hin als Traubenzucker angesprochen. Es wäre noch hieran die Erörterung der Frage zu knüpfen, ob nicht der Traubenzucker ganz oder wenigstens theilweise ursprünglich als Glycogen vorhanden gewesen und erst nach der Entleerung unter der Einwirkung eines Fermentes, in gleicher Weise, wie dies mit dem Leberglycogen der Fall ist, in kürzester Frist in Dextrin und weiterhin in Traubenzucker umgewandelt worden ist. Die Opalescenz der entleerten

¹⁾ Frerichs, Klinik der Leberkrankheiten. Bd. II. S. 222.

²⁾ Dieses Archiv Bd. XIX. (1860.) S. 194.

Flüssigkeit konnte die Anwesenheit von Glycogen allenfalls vermuten lassen. In dessen hat die Prüfung auf Glycogen ein negatives Resultat ergeben, erstens verschwand die Opalescenz nicht beim Zusatz von Natronlauge, wie dies bei glycogenhaltigen Flüssigkeiten der Fall ist, zweitens färbte sich die Flüssigkeit mit Jod gelb, ohne dass ein rother resp. violetter Farbenton aufgetreten wäre. Jedoch möchten wir darauf allein hin das Vorkommen von Glycogen in Echinococcusysten nicht ohne Weiteres in Abrede stellen, um so weniger, als immerhin zwischen der Punction und dem Beginne unserer Untersuchung eine Anzahl von Stunden dazwischen lag, so dass unterdess die Umwandlung des Glycogen in Traubenzucker vollständig stattgefunden haben konnte. Diese Frage kann nur so endgültig entschieden werden, dass unmittelbar nach der Punction die Untersuchung auf Glycogen vorgenommen oder zur Verbinderung der Fermentation die entleerte Flüssigkeit sofort mit Alkohol gefällt wird. Zu unserem Bedauern hat eine zweite Punction nicht stattgefunden, so dass wir die Frage nach dieser Seite zu entscheiden ausser Stande waren.

Der in absoluten Alkohol unlösliche Rückstand von 1000 Cem. Flüssigkeit, der das bernsteinsaure Alkali enthalten musste, wurde in Wasser gelöst und die durch Salzsäure frei gewordene Bernsteinsäure von einem Gemisch gleicher Theile Alkohol und Aether aufgenommen, der Alkoholätherextract abgegossen und verdunstet; es krystallisierten zierliche Nadeln aus, die stark mit gelbem Farbstoff verunreinigt waren. In Wasser gelöst und mit kohlensaurem Natron bis zur Neutralisation versetzt, entstand durch Eisenchlorid ein brauner Niederschlag. Bei dem Mangel anderer besonders charakteristischer Reactionen konnte der sichere Nachweis, dass wir es mit Bernsteinsäure und nicht mit einer anderen organischen Substanz zu thun hatten, eigentlich nur durch die Elementaranalyse geführt werden und dazu hätten die wenigen Krystalle, die wir erhalten hatten, nicht ausgereicht. Der Nachweis von Bernsteinsäure war daher mit vollen Evidenz nicht zu führen.

Der oben erwähnte, zuckerhaltige Alkoholextract gab zur Trockne verdampft und in Wasser gelöst mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen reichlichen, weissen, flockigen Niederschlag, die Echinococcusflüssigkeit selbst mit demselben Reagens eine weisslich feinkörnige Trübung. Dies machte es wahrscheinlich, dass Substanzen, wie Harnstoff, Kreatinin, Kreatin oder Extractivstoffe in der Cystenflüssigkeit enthalten wären. Zur Prüfung auf Harnstoff und Kreatin wurden 500 Cem. der Flüssigkeit mit Bleiessig versetzt, filtrirt, in das Filtrat zur Entfernung des überschüssigen Bleies Schwefelwasserstoff eingeleitet, nach Abscheidung des gebildeten Schwefelbleies das Filtrat bei mässiger Temperatur eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol erschöpft; in diesen musste der Harnstoff für den Fall, dass er vorhanden, übergehen, während das Kreatin als in absoluten Alkohol so gut wie unlöslich zurückblieb. Das vom Alkohol aufgenommene wurde nach Verjagung des Alkohols in Wasser gelöst, zur Entfernung der Phosphate mit einigen Tropfen Barytmischung versetzt und mit salpetersaurem Quecksilberoxyd unter Zusatz von kohlensaurem Natron (zur möglichsten Abstumpfung der Säure) gefällt. Der abfiltrirte Niederschlag ward dann in Wasser zertheilt, Schwefelwasserstoff eingeleitet und nach Entfernung des gefallten Schwefelquecksilbers das Filtrat eingeeigt und zur Krystallisation des eventuell vorhandenen salpetersauren Harnstoffs stehen gelassen. Da in der etwas syrhopösen stark gelb gefärbten Flüssigkeit

die Krystallisation nicht recht vor sich ging, so wurde, um den Harnstoff aus der salpetersauren Verbindung frei zu machen, kohlensaurer Baryt hinzugesetzt, zur Trockene abgedampft und der Rückstand zur Entfernung des gebildeten salpetersauren Baryts mit absolutem Alkohol aufgenommen. Aus dem abfiltrirten Alkohol-extracte schieden sich beim Stehen über Schwefelsäure lange, spießförmige Krystall-nadeln aus, die mit dem gelben Farbstoff reichlich imprägnirt waren. Die Krystalle waren von neutraler Reaction und zeigten mit Salpetersäure versetzt mikroskopisch die charakteristischen Formen des salpetersauren Harnstoffs. Eine Probe von den Krystallen bis zur beginnenden Ammoniakentwickelung erhitzt und dann in wenig Wasser gelöst, färbte sich beim Zusatz von Natronlauge und einem bis einigen Tropfen Kupfersulphat deutlich violett (Biuretreaction). Nach alledem konnte über die Identität der ausgeschiedenen Krystalle mit Harnstoff kein Zweifel mehr sein.

Der in absoluten Alkohol unlösliche Rückstand der in Arbeit genommenen 500 Ccm., der Kreatin enthalten konnte, wurde in Wasser gelöst und über Schwefelsäure zur Krystallisation hingestellt, dann die Mutterlauge von den ausgeschiedenen Krystallen abfiltrirt, letztere zwischen Fliesspapier möglichst vom Wasser befreit und im Luftbade bei 100° C. getrocknet. Hierbei verloren sie theilweise die gelbe Färbung, die sie verunreinigte. Unter dem Mikroskop sah man neben zahlreichen NaCl-Krystallen sparsame, gelb gefärbte, schiefe Rhomben, die den Formen des Kreatins ausserordentlich ähnelten; in Wasser gelöst gaben die Krystalle mit salpetersaurem Quecksilberoxyd eine weisse Fällung, wie dies auch beim Kreatin der Fall ist. Da indess dies als ein genügender Nachweis von Kreatin nicht angesehen werden konnte, so zogen wir es vor, die als Kreatin vermuteten Krystalle in Kreatinin überzuführen und dies aus seinen charakteristischen Reactionen nachzuweisen. Zu dem Zwecke wurde die ganze Masse mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, die Schwefelsäure mit kohlensaurem Baryt gesättigt und der gebildete schwefelsaure Baryt kochend heiß abfiltrirt. Das eingegangene Filtrat zeigte alkalische Reaction; allmählich schied sich aus ihm ein krystallinisches, gelbweisses Pulver ab, das in Wasser gelöst durch salpetersaures Quecksilberoxyd unter Zusatz von Sodalösung gefällt wurde, desgleichen durch Silbernitrat. Um den unzweifelhaften Nachweis von Kreatinin führen zu können, wurde es in Alkohol gelöst und mit einigen Tropfen concentrirter alkoholischer Chlorzinklösung versetzt, es bildete sich zunächst eine Trübung und nach einigem Stehen setzte sich ein sehr feinkörniger, weißer krystallinischer Niederschlag ab. Nach Verdunstung des Alkohols schieden sich sehr feine Nadeln an den Wänden und dem Boden des Gefäßes ab, die in heissem Wasser sich lösten, während sie in Alkohol ungelöst blieben und aus der wässrigen Lösung beim Trocknen über Schwefelsäure wieder auskrystallisierten. Demnach hatten wir es offenbar mit Kreatinin-Chlorzink zu thun; hiermit war Kreatinin und aus dem Gange der chemischen Operationen das ursprüngliche Vorhandensein von Kreatin in der Echinococcenflüssigkeit beweisend dargethan. Leider fehlte es uns an Material, um eine quantitative Bestimmung des Harnstoff- und Kreatin gehaltes vorzunehmen; soviel aber ist sicher, dass es sich nicht etwa nur um Spuren von diesen Substanzen, sondern um relativ nicht ganz unbedeutende Mengen handelt, ist es uns doch gelungen, dieselben aus der verhältnissmässig nicht grossen Quantität von 500 Ccm. Flüssigkeit in Krystallen zu erhalten, mit

denen wir einige Male die zur Charakterisirung dieser Substanzen erforderlichen Reactionen ausführen konnten.

Unter den anorganischen Bestandtheilen, die zu 0,968 pCt., also zu fast 1 pCt. darin enthalten sind, nimmt, wie bereits bekannt, Natrium, fast ausschliesslich in seiner Chlorverbindung die erste Stelle ein. Kali war gar nicht nachweisbar; der mit Platinchlorid in dem wässrigen und salzsauren Aschenauszuge erhaltene Niederschlag bestand allein aus Ammoniumplatinchlorid, das beim Erhitzen Sublimirte erwies sich unter dem Mikroskope als Salmiakkristalle. Ausserdem liess sich die Gegenwart von Calcium und Magnesium darthun. Die Titirung mit Silberlösung ergab 0,37 pCt. Chlor, was auf NaCl, in welcher Form das Chlor hier ausschliesslich auftritt, einem Gehalt von 0,61 pCt. NaCl entspricht; demnach besteht weit über die Hälfte, fast zwei Dritttheile der Asche aus NaCl. Ausserdem konnte der Nachweis von kohlensauren und schwefelsauren Verbindungen aus den bekannten Reactionen geführt werden. Phosphate waren in der Asche nur in ausserordentlich geringen Mengen, fast nur in Spuren nachweisbar und zwar als phosphorsaures Calcium resp. Magnesium. Es ist diese auffallend geringe Menge von Phosphaten um so bemerkenswerther, als sonst die Phosphate in den serösen und Cystenflüssigkeiten nächst den Chloriden am reichlichsten vertreten sind. Hier standen sie an Quantität den Carbonaten und Sulfaten bedeutend nach. Diese Thatsache, sowie die der gänzlichen Abwesenheit der Kaliverbindungen dürfte nicht ohne Interesse sein.

Herrn Prof. Hoppe-Seyler, mit dessen freundlicher Unterstützung auch diese Untersuchung angestellt worden ist, sage ich hiermit besten Dank.

2.

Entgegnung an Herrn Prof. Klebs.

Von E. Tiegel.

In der Arbeit „Beiträge zur Kenntniss der pathogenen Schistomyceten, III, Archiv für experimentelle Pathologie etc. Bd. III, S. 305“ bespricht Herr Prof. Klebs auf Seite 316 u. ff. meinen Aufsatz „Ueber Coccobacteria septica im gesunden Wirbeltthörörper, dieses Archiv Bd. LX, S. 453“. Gegen Herrn Prof. Klebs habe ich folgende Einwendungen zu machen.

Auf Seite 316 sagt Klebs, es scheine ihm, ich hätte meine Versuche auf indirekte Veranlassung von Billroth unternommen. Warum ihm dies so scheint, weiss ich nicht.

Seite 317 sagt er, man könnte aus meinen einleitenden Worten entnehmen, es haben sich stets Bakterien in meinen Präparaten entwickelt. Was das für einleitende Worte sind, weiss ich wieder nicht, mache hier aber auf Seite 464 meiner Abhandlung aufmerksam, wo ich noch ausdrücklich erkläre, dass ich es für zufällig halte, nie ein bakterienfreies Pancreas gefunden zu haben.