

36472

96
1902

Beiträge
zu den
Methoden der Typhus Untersuchungen.

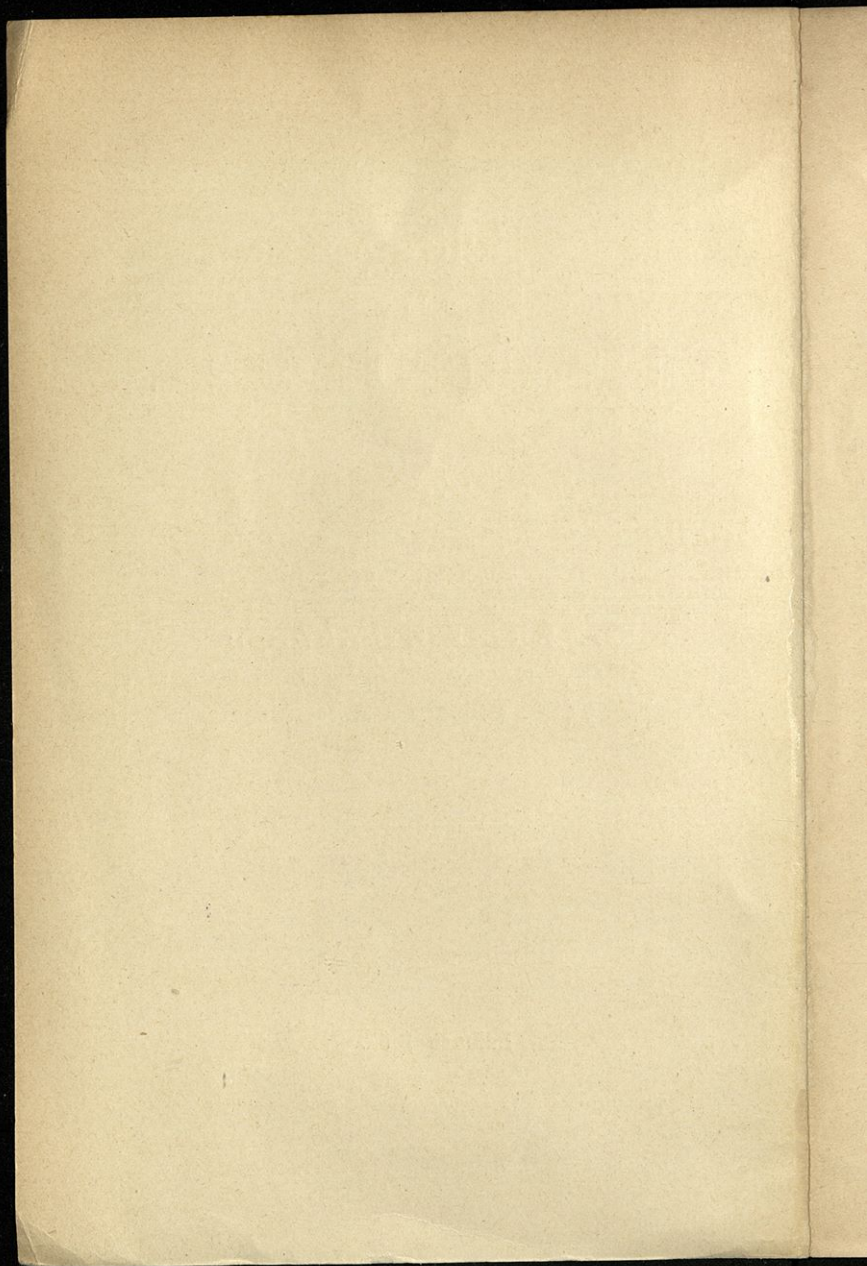
Von Stabsarzt

Dr. J. E. Hirtenhuber

Chefarzt der 28. Infanterie-Truppen-Division.

Laibach 1902.

Buchdruckerei Ig. v. Kleinmayr & Fed. Bamberg.



Beiträge

zu den

Methoden der Typhus-Untersuchungen.

Von Stabsarzt

Dr. J. E. Hirtenhuber

Chefarzt der 28. Infanterie-Truppen-Division.



Laibach 1902.

Buchdruckerei Ig. v. Kleinmayr & Fed. Bamberg.

030041018

Unter den bakteriologischen Untersuchungen, welche von dem Arzte, speziell von dem Militärarzte, oft gefordert werden, bildet die Untersuchung auf Darmtyphus gewiß eine der häufigsten Aufgaben. Daß diese Untersuchungen oft mit großen Schwierigkeiten auszuführen sind, ist eine bekannte Tatsache, abgesehen von den technischen Schwierigkeiten, hauptsächlich der Fehler wegen, die so leicht unterlaufen und das Resultat als Irrtum darstellen. Die Widalsche Serumreaktion ist zwar für die Entscheidung bei atypischen Typhusfällen als eine große Errungenschaft zu bezeichnen und vom klinischen Standpunkte als genügend beweisend zu betrachten, jedoch das Hauptziel der Untersuchung ist doch die Darstellung einer Reinkultur von Typhusbazillen aus irgendeinem Untersuchungsmaterial der Erkrankten, wie: Blut, Harn oder Darminhalt (Faeces). Mit Rücksicht auf die bezeichneten Schwierigkeiten mag nachstehende Untersuchung dem jungen, nicht gründlich bakteriologisch geschulten Arzte einen Fingerzeig geben, auf welche Weise der richtige Weg der Untersuchung zu betreten wäre, um voraussichtlich ein positives Resultat anhoffen zu können.

Beauftragt vom Garnisons-Chefarzt in Laibach, die chemische, mikroskopische und bakteriologische Untersuchung der im Dezember 1901 erfolgten Erkrankungen der 3. und 4. Batterie des k. und k. 7. Divisions-Artillerie-Regiments vorzunehmen, wählte ich mir die Kranken, von denen ich das Untersuchungsmaterial entnahm, so aus, daß ich sowohl verdächtige Fälle wählte, bei welchen die klinische Diagnose noch nicht festgestellt wurde, als auch solche, bei welchen die klinische Beobachtung im hiesigen Garnisonsspital bereits eine fixe Typhusdiagnose ergab. Da ich die Leute von der Artillerie-Kaserne aus bereits meistens kannte und sie sofort bei ihrer Marodmeldung

beobachten konnte, so war mir das oft sehr undeutliche klinische Bild vom Beginn an etwas näher gerückt. Da bei mehreren Fällen die Fieberkurve vom typischen Darmtyphus beträchtlich abwich, indem dieselbe früh und abends beinahe keine Remissionen darbot und außerdem bei sehr vielen Fällen Obstipation oft durch eine Woche fortbestand, Roseola oft sehr spät auftrat und auch der Milztumor undeutlich war, so dachte ich anfänglich auf Typhus recurrens, und meine ersten Untersuchungen betrafen das Blut der Fingerkuppe, doch konnte ich in keinem Falle die Obermeyerschen Spirillen antreffen.

Das erste Objekt der Untersuchung, welches zwar keinen ausschlaggebenden Beweis für Typhus erbrachte, jedoch die Diagnose auf Darmtyphus näherrückte, war der Harn, der auch bei den sogenannten verdächtigen Fällen, die hoch fieberten, sonst aber noch ein ungestörtes Allgemeinbefinden darboten, die charakteristische Diazoreaktion zeigte. Wenn diese Reaktion auch keine präzise diagnostische Bedeutung hat, da sie auch bei schweren Fällen von Tuberkulose, Pneumonie und Masern auftritt, so hat sie bei Darmtyphus von der ersten Woche an doch einen klinischen Wert, wenn andere wichtige diagnostische Zeichen fehlen, als: deutlicher Milztumor, Roseola, Pulsverlangsamung, Diarrhöe, wie es auch in der „Deutschen militärärztlichen Zeitschrift“ (Heft 8 und 9) vom Jahre 1901 in dem Berichte des Oberstabsarztes und Vorstandes der hygienisch-bakteriologischen Untersuchungsstation des VIII. Armeekorps Dr. Hünermann dargestellt wird. Diese Reaktion wäre also in keinem Falle zu unterlassen.* Zur Vornahme der bakteriologischen Untersuchungen benützte ich das Laboratorium der hiesigen landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation, dessen Vorstand, Herr Direktor Dr. Ernst Kramer, der außer allen wissenschaftlichen Instrumenten und Behelfen mir seine Beihilfe und sein ausgedehntes tiefes Wissen mit größter Zuvorkommenheit anbot; besonders die verschiedenen Nährböden und präzise Sterilisierung wäre mir ohne seine gütige Beihilfe schier unmöglich gewesen, gewissenhaft darzustellen und durchzuführen.

* Bezüglich der Methode siehe Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik von Dr. Otto Seifert und Friedrich Müller, Wiesbaden 1899.

Die ersten bakteriologischen Untersuchungen stellte ich am 27. Dezember 1901 an, wozu die Nährböden schon vorbereitet waren.

Ich entnahm Blut von mehreren Leuten des Divisions-Artillerie-Regiments Nr. 7 sowie Darminhalt von einem Offiziersdiener (Wild) des gleichen Regiments, welche Leute sich im hiesigen Garnisonsspital in Behandlung befanden. Alle diese Leute fieberten hoch, Frühtemperatur 39°, bei keinem war jedoch ein deutliches Typhussymptom (wie Roseola oder Milztumor) nachweisbar. Um Malaria ausschließen zu können, wurde mehreremals das Blut untersucht, und zwar sowohl in frischen als in Trockenpräparaten, die letzteren wurden nach der Ehrlichschen Methode gefärbt, in keinem Falle konnten Plasmodien nachgewiesen werden, daher auch Malaria auszuschließen war.

Das Blut für die bakteriologischen Untersuchungen, und zwar Impfungen, wurde mit sterilisierter Pravaz-Spritze direkt aus der Milz gewonnen. Die Untersuchungen des Blutes durch Impfungen auf Esmarchsche Kartoffelscheiben sowie auf verschiedene Nährböden, welche in Petri-Schalen ausgegossen wurden, ergaben kein positives Resultat, so daß die weiteren Untersuchungen hauptsächlich mit Darminhalt (Faeces) fortgesetzt wurden.

Folgende Nährböden wurden bei den Untersuchungen benützt: Holzsche Kartoffelwassergelatine mit 0·05 % Phenol Zusatz, Elsnersche Kartoffelwassergelatine mit 1 % Jodkali Zusatz, Hüppesche 10 %ige Fleischextrakt-Pepton-Gelatine, weiters Esmarchsche sterilisierte Kartoffelscheiben. Später wurde noch Löfflersche Nährbouillon und Nähragar zur Fortpflanzung der gewonnenen Reinkultur verwendet.* Bei der Untersuchung wurde folgender Vorgang eingeschlagen:

1.) Es wurde Darminhalt direkt auf Esmarchsche Kartoffelscheiben geimpft.

2.) Eine Öse von Darminhalt wurde direkt auf Holzsche Kartoffelwassergelatine und eine zweite auf Elsnersche Kartoffelwassergelatine geimpft und hierauf in Petri-Schalen ausgegossen.

* Bezüglich der Methode der Darstellung dieser Nährböden siehe Dr. Josef Schrank: „Anleitung zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen“, Wien 1894.

3.) Von dem Darminhalte wurden Verdünnungen in der Art hergestellt, daß 1 cm³ der Flüssigkeit in 10 cm³ destillierten und sterilisierten Wassers eingetragen wurden, und mit dieser Verdünnung wurden nun Holzsche und Elsnersche Kartoffelwassergelatine in der Weise geimpft, daß ein, drei und fünf Tropfen zugesetzt wurden, und hierauf wurde die Gelatine in Petri-Schalen gegossen. Von den Nährböden zeigte sich unter den Gelatinen die Elsnersche Kartoffelwassergelatine mit 1 % Jodkali Zusatz als die günstigste, da in derselben die geringsten Spuren von Trübungen deutlich zu erkennen waren, weniger günstig war die Hüppesche Fleischwasser-Pepton-Gelatine, so daß die Impfungen auf dieselbe bald unterlassen wurden.

Die Entwicklung der Kulturen ging folgendermaßen vor sich:

a) Auf den Esmarchschen Kartoffelscheiben entwickelte sich bereits nach 48 Stunden bei 22° im Thermostate ein schleimiger, gelblicher Belag, der bei der mikroskopischen Untersuchung vorwiegend aus einem Gemisch von Stäbchen (Bazillen) bestand, welche sich sowohl im Löfflerschen Methylblau als auch mit Ziehlschen Karbolfuchsin leicht färbten. Behufs Isolierung der Arten wurden mit diesen Kulturen weitere Plattenkulturen angelegt, über deren Entwicklung später das Weitere folgt.

b) Die Entwicklung der Kulturen in den Petri-Schalen ging folgendermaßen vor sich:

In den mit Faeces nach Punkt 2 direkt geimpften Gelatinen entwickelte sich binnen vier Tagen eine große Menge von Kolonien, besonders aber von solchen, welche die Gelatine verflüssigen, es konnte daher nicht daran gedacht werden, eine Überimpfung vorzunehmen, es waren größtenteils saprophytische, nicht pathogene Bakterienarten, wie Heubazillus (*Bacillus subtilis*).

Besser ging die Entwicklung bei den nach Punkt 3 gemachten Verdünnungen vor sich; es entwickelten sich fixe, die Gelatine nicht verflüssigende Kolonien, welche unter der Lupe in den Petri-Schalen untersucht und herausgefischt werden konnten, und von diesen wurden Stich- und Strichkulturen in den verschiedenen Nährböden angelegt. Bei der

weiteren Prüfung erwiesen sich dieselben jedoch hauptsächlich aus *Bacterium coli* bestehend, worauf auch schon das schnelle Wachstum bei Zimmertemperatur hindeutete.

Da die Kartoffelkultur von Gaffky benutzt wurde, um den Typhusbazillus von solchen Bakterienarten zu unterscheiden, welche durch andere Kulturmerkmale nicht mit Sicherheit von ihm zu unterscheiden waren, so wurde der sub *a* beschriebene schleimige Belag auf den Esmarchschen Kartoffelscheiben zur weiteren Überimpfung verwendet, und zwar in der Art, daß wieder Verdünnungen desselben benutzt wurden. Es wurde eine Platinöse voll Belag in 10 cm³ sterilisierten und destillierten Wassers übertragen und darin sorgfältig verteilt, und mit dieser Verdünnung wurde Elsnersche Kartoffelwassergelatine mit je einem, drei, fünf und sieben Tropfen geimpft und hierauf in Petri-Schalen gegossen.

Die Entwicklung der Kolonien ging in den Petri-Schalen regelmäßig vor sich, am besten in der Schale mit fünf Tropfen der Verdünnung. Es wurden hiebei Kolonien beobachtet, welche mit denen, wie sie von Typhusbazillen beschrieben werden, Ähnlichkeit hatten. Dieselben waren in den tieferen Lagen schmutzigweiß, zitron- oder wetzsteinförmig, in den oberen Lagen breiteten sie sich weit aus, erschienen mattgrau, als feines, lappig begrenztes Häutchen der Gelatine aufliegend, mit langsamem Wachstum. Mit solchen Kulturen wurden sodann auf Elsnerscher Gelatine Stich- und Strichkulturen angelegt. Sie entwickelten sich als kräftig weißer Faden in den Stichkulturen, an der Oberfläche in der Form einer dünnen, zarten, durchscheinenden Haut von Perlmutterglanz. Auf den Esmarchschen Kartoffelscheiben, welche mit diesen herausgefischten Kolonien geimpft wurden, entwickelte sich ein üppiges Wachstum, welches aber äußerlich kaum bemerkbar war, versuchte man aber nach 48 Stunden mit der Platinnadel von der Oberfläche eine geringe Menge abzustreifen behufs mikroskopischer Untersuchung, so hatte man den Eindruck, als ob die ganze Fläche in eine zusammenhängende Haut verwandelt wäre. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich plumpe Stäbchen (Bazillen) mit abgerundeten Enden, häufig auch zu Fadenverbänden ausgewachsen, mit

lebhafter Eigenbewegung. Es wurden auch gefärbte Trockenpräparate gemacht und auch konstatiert, daß sich die Bazillen nach der Gramschen Methode nicht färben. Da aber die Typhusbazillen mit *Bacterium coli* und noch anderen Bazillen große Ähnlichkeit der Form nach zeigen, so begnügte ich mich nicht mit der formellen Untersuchung, sondern es wurden auch die biologischen Unterschiede von den anderen Bakterien untersucht, und die zwar chemischen Veränderungen und Gährungserscheinungen mit Milch und Zuckerlösung. Es wurden daher die gewonnenen Kulturen in Erlenmeyerschen Gährkölbchen mit sterilisierter Milch und Traubenzuckerlösung vermengt und im Thermostate bei Brut-Temperatur gehalten. In der Milch trat nach 24 Stunden weder Koagulation noch Milchsäurebildung auf, in der Traubenzuckerlösung entwickelte sich keine Kohlensäure, auch keine saure Reaktion.

Am 7. Jänner l. J. erhielt ich durch die Güte des Herrn Universitätsprofessors Dr. Prausnitz aus Graz eine junge Typhusreinkultur; nachdem ich dieselbe sowohl im hängenden Tropfen als in gefärbten Präparaten untersucht hatte, verglich ich die aus der hiesigen Reinkultur (welche aus Faeces gewonnen wurde) bereiteten Präparate mit der Originalkultur und konstatierte unter dem Mikroskop und in gefärbten Präparaten eine genaue Übereinstimmung der Bazillen der Form nach.

Hierauf wurde mit dem Blutserum von Artilleristen, welche im Dezember 1901 an Darmtyphus erkrankten, der Widal'sche Versuch angestellt, und zwar zuerst mit der aus Graz erhaltenen Reinkultur und hierauf mit der aus den Faeces gezüchteten Kultur, in beiden Fällen war das Resultat positiv. Der Vorgang war folgender:

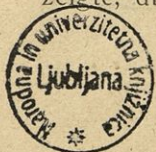
Durch Einstich in die Fingerkuppe des Kranken wurde 1 cm³ Blut in einer sterilisierten Eprouvette aufgefangen und mit destilliertem Wasser 1 : 20 bis 1 : 40 verdünnt, von dieser Verdünnung wurde ein kleines Tröpfchen auf das Deckgläschen gebracht, mit der sterilisierten Platinöse eine geringe Quantität der Reinkultur abgestreift und dem Tröpfchen zugesetzt und hierauf im hängenden Tropfen beobachtet. Es zeigte sich sowohl bei der Kultur aus Graz als auch bei der

hier aus den Faeces gewonnenen Aufhören der Eigenbewegung der Stäbchen als Agglutination, indem sich die Bazillen in Haufen aneinander lagerten. Diese Erscheinung erklärt Gruber durch das Verquellen der Hüllen der Bakterienleiber durch die im Blutserum vorhandenen Antikörper. Die Bakterienzellen werden nach dieser Auffassung klebrig, verlieren ihre Eigenbewegung und vereinigen sich zu Ballen. Das Nähere ist in Professor Dr. Karl Günthers „Einführung in das Studium der Bakteriologie, Leipzig 1898“, sehr instruktiv zu finden.

Gleichzeitig mit der gewonnenen Reinkultur aus Faeces wurde auch versucht, den Harn als Material zur Gewinnung einer Typhusreinkultur zu benutzen. Ich nahm frischen Harn eines Anfang Jänner l. J. an Darmtypus im hiesigen Garnisonsspitale erkrankten Landwehrmannes, der Harn war klar, von schwach saurer Reaktion und setzte nach dem Zentrifugieren ein ziemliches Sediment; bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich viele Bakterien und Harnsäurekrystalle. Mit dem Harne wurden sterilisierte Esmarchsche Kartoffelscheiben geimpft, auf denselben entwickelte sich bald ein massiger Belag, der aus einem Gemisch von Bazillen bestand; dieser Belag wurde wieder behufs Isolierung der Arten auf Elsnersche Kartoffelwassergelatine überimpft, es entwickelten sich alsbald Kolonien, welche aber schon äußerlich solche Eigenschaften darboten, welche für pathogene Bakterien nicht charakteristisch sind, es gelang mir durchaus nicht, eine für Typhus charakteristische Reinkultur zu isolieren, obwohl das Blut deutlich die Widalsche Serumreaktion ergab.

Im Februar l. J. wurde die Erprobung der aus den Faeces gezüchteten Bazillen bezüglich der Entwicklung auf Löfflersche Nährbouillon in folgender Weise fortgesetzt:

In 10 cm³ Nährbouillon wurde eine Öse von der Typhuskultur, welche ich von Professor Prausnitz erhielt, eingetragen, in die gleiche Menge Bouillon wurde auch eine Öse von der aus den Faeces gewonnenen Reinkultur übertragen, hierauf kamen die Bouillons in den Brutschrank; es trat nach zwölf Stunden in den mit Bouillon beschickten Eproutetten eine opalisierende Trübung auf, welche, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, durch sich lebhaft bewegende Bazillen bedingt wurde.



Mit diesen in der Bouillon aufgeschwemmten Bakterien wurde hierauf die Serumreaktion vorgenommen. Da jedoch die Widalsche Reaktion am sichersten mit jungen Typhusstämmen gelingt, so wurden von der bereits getrübbten Bouillonkultur je 60 Tropfen in eine sterilisierte Bouillon übertragen und, mit einem Tropfen verdünnten Blutserum beschickt, in den Brutschrank gestellt; nach acht Stunden bildete sich in beiden Eprovetten ein geringer Niederschlag, hierauf untersucht, zeigten sich die Bazillen ohne Eigenbewegung in Haufen gelagert, agglutiniert. Das Serum war bis hundertfach verdünnt. Die Beweiskraft dieser Reaktion liegt gerade in dem Grade der Verdünnung, da das Serum normaler Individuen die Agglutination der Typhusbazillen bei Verdünnungen von 1:40 oder 1:50 nicht mehr zustande bringt, darum wird auch die Bouillon-Serumreaktion erst bei hundertfacher Verdünnung als positiv angesehen. (Siehe die zitierte Publikation des Oberstabsarztes Dr. Hünemann in der „Deutschen militärärztlichen Zeitschrift“.) Bezüglich der Widalschen Reaktion soll noch bemerkt werden, daß die Beeinflussung der Bakterien durch das Serum energischer und schneller bei 37° als bei Zimmertemperatur eintritt, und oft auch dann erst nach einigen Stunden sich das Maximum der Wirkung zeigt. Weiters muß die Typhuskultur möglichst jung und lebensfrisch sein, damit die zu beeinflussenden Bazillen gut beweglich seien. Der Unterschied dieser Reaktion von der sogenannten Gruberschen besteht nur darin, daß hier nicht Serum von erkrankten, sondern von künstlich immunisierten Tieren verwendet wird, und daß durch die Agglutination der geprüften Bakterienart es sich zeigt, daß dieselbe Spezies vorliegt, mit welcher das serumliefernde Tier beim Immunisierungsprozesse vorbehandelt wurde.

Zur weiteren Unterscheidung der aus den Faeces gewonnenen Bazillen von typhusähnlichen oder von *Bacterium coli* wurde noch der von Kitasato 1889 publizierte chemische Versuch angestellt, nach welchem Typhusbazillen kein Indol (Rotfärbung) produzieren.

Zu diesem Zwecke wurde eine zuckerfreie, 24 Stunden alte, bei 37° gewachsene Typhus-Bouillonkultur mit Kaliumnitrit und Schwefelsäure versetzt, und zwar 10 cm³ der Bouillon-

kultur mit 1 cm³ einer 1/50 %igen wässerigen Lösung von Kaliumnitrit und hierauf einige Tropfen Schwefelsäure; es trat jedoch keine Rotfärbung auf, wie eine solche das Bacterium coli produziert.

Aus den Untersuchungen ergibt sich, daß die aus den Faeces (des Offiziersdieners Wild) gewonnene Reinkultur Bazillen enthält, welche sowohl der Form nach als bezüglich des Verhaltens gegen Färbungen, weiters in Bezug auf die Widalsche Serumreaktion sowie chemische und biologische Eigenschaften (wie Fehlen der Indolreaktion, Verhalten gegen Milch und Zuckerlösungen) allen Anforderungen entsprechen, welche wir an die Eberth-Gaffkyschen Typhusbazillen stellen können, woraus der Schluß gerechtfertigt erscheint, daß sie mit denselben identisch sind. Durch stete Überimpfung auf verschiedene Nährböden sowie Nährbouillon wird die Reinkultur für Reaktionszwecke stets vorrätig gehalten.

Durch diese Untersuchung wurde auch experimentell wissenschaftlich der Beweis erbracht, daß die infektiöse Erkrankung bei der 3. und 4. Batterie des 7. Divisions-Artillerie-Regiments durch Einwanderung von Typhusbazillen in den Darmkanal verursacht wurde.

Aus den angeführten Versuchen, welche teils mit, teils ohne Erfolg waren, kann der Arzt die Vorzüge und Nachteile des eingeschlagenen Versuchsweges leicht beurteilen und gegebenenfalls den richtigen Weg betreten, stets muß er sich aber auf Täuschungen gefaßt machen. Selbst die so leicht ausführbare Widalsche Serumreaktion hat nicht immer einen absoluten Wert, auch wenn sie negativ ausfällt, da die spezifische Eigenschaft des Blutes gegenüber Typhusbazillen oft wohl sehr frühzeitig auftritt, im allgemeinen aber mit dem siebenten bis neunten Krankheitstage sich einzustellen pflegt, in manchen Fällen sich sogar erst nach der Entfieberung zeigt, woraus ersichtlich ist, daß der Termin für den Eintritt der Reaktion kein absolut fixer ist und daß eigentlich nur die Herstellung einer Reinkultur den Abschluß der Untersuchung bilden sollte. Aber auch der Gewinnung der Reinkultur stehen oft kaum zu bewältigende Hindernisse entgegen, denn, wie die einschlägige Literatur nachweist, es gelingt oft aus

verschiedenen Ursachen nicht, eine Reinkultur aus einem Untersuchungsmaterial herzustellen, aus welchem es anderen ohne besondere Mühe gelang; zur Erläuterung dieser Tatsache führe ich den Befund Karlinski's an, nach welchem der Typhusbazillus vor dem neunten Krankheitstage überhaupt nicht im Stuhle vorkommen soll, woraus folgt, daß man sich mit dem negativen Befunde aus einem Untersuchungsmaterial nicht begnügen darf, sondern der Reihe nach die übrigen, wie Blut und Harn, zu durchforschen hat, bevor man sich in positiver oder negativer Richtung ausspricht. Das Resultat lohnt reichlich die Mühe, da es zur Erweiterung in der Erkenntnis auf dem Gebiete dieser jungen, aber hoffnungsvollen Wissenschaft anspornt.

Laibach im März 1902.



NARODNA IN UNIVERZITETNA
KNJIŽNICA



00000479525

Außer den bereits angeführten Werken führe ich noch folgende behufs genauer Information an:

Kompendium der Wasseruntersuchung von Dr. W. Migula, Wiesbaden 1901.

Methoden der praktischen Hygiene von Dr. K. B. Lehmann, Wiesbaden 1901.



is
1.
1.

