Über die Beziehung zwischen der H-Konzentration der Zerebrospinalflüssigkeit, Lymphe und Blutsera und der thermostabilen bakteriziden Wirkung derselben.

Von

Takeo Shimidzu.

(清水 武夫)

(Aus Prof. T. Kumagai's medizinischer Klinik an der
Tohoku Universität zu Sendai.)

Bekanntlich wirken die Körpersäfte des Menschen sowie der Tiere auf verschiedene Bakterien bakterizid. Diese bakterizide Wirkung ist teils thermostabil und entspricht dem schon vielfach erforschten Alexin oder Komplement. Es gibt auch eine andere bakterizide Wirkung, die thermostabil ist. Neuerdings hat Ikegami¹⁾ genauere Untersuchungen darüber, insbesondere die der Zerebrospinalflüssigkeit angestellt. Er hat bewiesen, dass die bakterizide Wirkung der Zerebrospinalflüssigkeit des Menschen und des Kaninchens, falls dieselbe 30 Minuten lang bei 90°C erhitzt wird, im Vergleich zu der der aktiven, sehr stark bakterizid wirken kann. Dieser bakterizide Stoff unterscheidet sich durch seine Thermostabilität von dem Alexin; auch soll er sich von dem von Leukozyten herrührenden bakteriziden Stoffe durch Filtrierbarkeit durch Berkefeldsche Filter unterscheiden. Dies veranlasste ihn zur Annahme der Abhängigkeit der bakteriziden Wirkung von einem anderen noch nicht bekannten bakteriziden Stoff in der Zerebrospinalflüssigkeit. Angesichts der Tatsache, dass der Liquor nicht nur thermostabiles bakterizides Vermögen besitzt, sondern ein eigenartiges oben beschriebenes Phänomen zeigt, schliesst Ikegami aus seinen Versuchen, dass derselbe, ausser der bakteriziden noch eine antagonistisch auf sie wirkende Substanz enthält, die durch halbstündiges Erhitzen bei 90°C zersetzt wird, sodass erst dann sein bakterizides Vermögen offenkundig wird. Es ist aber möglich, dass eine solche Behandlung irgend welche chemische Veränderungen auf die Zerebrospinalflüssigkeit ausübt und das Gedeihen der Bakterien sehr beeinträchtigt. Andererseits ist auch der

Einfluss der physikalischen Veränderung der Flüssigkeit auf das Wachstum der Bakterien nicht ausser Acht zu lassen.

Seit der Einführung der physikalischen Chemie in die Biologie ist die Beziehung zwischen dem Nährboden und Wachstum der Bakterien sehr eingehend erforscht, und es sind eine Reihe von wertvollen Arbeiten über die Wachstumsgrenze, optimale H-Konzentration, Hemmungs- sowie Vernichtungsgrenze der Bakterien veröffentlicht worden. Bei dem von Ikegami beobachteten Phänomen ist es wohl möglich, dass auch das Kohlenoxyd im Liquor durch hohe Hitze leicht aus demselben ausgetrieben und infolgedessen eine Veränderung von PH herbeigeführt wird. Dieser Gedanke veranlasste mich zu einem weiteren Versuch, die Beziehung zwischen dem Wachstum der Bakterien und PH noch einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen und zugleich über das Wesen der fördernden bakteriziden Wirkung der erhitzten, inaktivierten Zerebrospinalflüssigkeit nach Ikegami Aufschluss zu erhalten.

Methodik.

Zu diesen Versuchsreihen bediente ich mich ausschliesslich des menschlichen Liquors. Alle Instrumente waren chemisch und bakteriologisch sauber vorbereitet. Der Liquor wurde wie gewöhnlich unter aseptischem Verfahren durch Lumbalpunktion entnommen, und die Formbestandteile durch Abzentrifugieren weggeschafft. Nach der Entnahme pflegt der Liquor schnell in der Alkalität zuzunehmen. Da er erst nach 24 Stunden einen konstanten Wert der Reaktion erreicht, so habe ich die Versuche 24 Stunden nach der Entnahme ausgeführt.

Als Bakterien standen uns Typhusbazillen zur Verfügung, welche 24 Stunden lang in Bouillon gezüchtet waren. Die Kultur war ums 5 faché verdünnt, eine kleine Öse davon wurde in die Versuchslösung übertragen. Es wurde je 1 ccm Liquor in ein aseptisches Reagenzröhrchen verteilt und behandelt; 0,5 ccm davon wurde dann in ein anderes Reagenzröhrchen gebracht und mit Bacillen geimpft. Das übrige diente zur Bestimmung von PH. Das Wachstum der Bakterien wurde in Platten beobachtet, wobei man zuerst Agar bei 50°C löste, zu welchem ein kleine Öse von gezüchteter Versuchslösung gemischt wurde. Die Mischung wurde dann in Petrische Schale gegossen und im Brutschrank 24 Stunden lang bei 37°C aufbewahrt. Danach wurden die Kolonien auf den Agarplatten zur Vergleichung der bakteriziden Fähigkeit gezählt.

Die gezüchtete Versuchslösung wurde auch im Brutschrank bei 37°C gelassen und nach Ablauf einer gewissen Frist die oben beschriebene Plattenmethode weiter ausgeführt.

Bei über 3000 Kolonien wurde die Kolonienzahl auf der Agarplatte als reichlich (R) und bei unzählbaren, wie gesät vorkommenden als unendlich bezeichnet (∞). Die Bestimmung²⁾ der H-Konzentration wurde mittels des Potentiometers mit Chinhydronelektrode ausgeführt.

Versuchsergebnisse.

Das Verhältnis zwischen PH der Bouillon und dem Wachstum der Typhusbazillen.

Über das Verhältnis zwischen PH der Nährböden und dem Wachstum der Bakterien ist noch keine befriedigende Aufklärung erzielt worden. Nach Norton³⁾ ist die antiseptische Wirkung eines Mittels von der H-Konzentration abhängig. Shohl und Janney⁴⁾ konnten bei PH 6,0–7,0 das Wachstumsoptimum der Kolibazillen im Harn und bei PH 4,6–5,0 Hemmung derselben nachweisen. Auf der Seite der Alkalität trat die Wachstumshemmung der Bazillen bei PH 9,2–9,6 auf, obgleich der Grad des Wachstums bei den verschiedenen Bakterienstämmen ein verschiedener ist. Bei Typhusbazillen soll das Wachstum noch in einem beschränktem Gebiet der H-Konzentration möglich sein. Brüen⁵⁾ hat mitgeteilt, dass die Typhusbazillen bei PH 4,7–5,6 abstarben, während Schönholz⁶⁾ und Meyer fanden, dass das Wachstum derselben bei unter PH 5,0 und über 8,8 verhindert wurde; von letzteren wurde die optimale H-Konzentration als 6,8–7,0 bezeichnet. Sie arbeiteten mit Pepton-Bouillon.

Toyota's⁷⁾ Versuch ergab, dass Typhusbazillen bei unter PH 4,6 und über PH 9,3 getötet wurden; ihre Wachstumsgrenze erstreckte sich von PH 4,8 bis 9,15 und das Optimum zwischen PH 6,6 und 7,0.

Alle Autoren haben aber für die Bestimmung der H-Konzentration Kolorimeter angewandt, wenngleich die Versuchslösungen sehr verschiedene waren. Da die Ansichten der Autoren darüber noch einig sind, habe ich die Voruntersuchung mit der Bouillon-Kultur angestellt.

Tabelle

Das Wachstum der Typhusbazillen in Bouillon

PH	4,80	5,00	5,42	5,68	5,89	6,00	6,20	6,30	6,54	6,60	6,69	6,78	6,92	7,21	7,31	7,43
Kolonienzahl nach dem Aussaat																
sofort	53	71	97	83	117	157	67	108	157	112	95	79	38	90	27	57
6 Stdn.	0	0	0	28	132	165	194	462	608	R	R	R	R	R	R	R
12 Stdn.	0	0	0	21	58	102	205	854	R	R	R	∞	∞	∞	∞	∞
24 Stdn.	0	0	0	2	14	32	332	R	R	R	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Wie aus der Tabelle I hervorgeht, wurden die Typhusbazillen bei unter PH 5,42 innerhalb 6 Stunden vernichtet, bei PH 6,2 das Wachstum gehemmt, bei PH 6,3 zahlreiche Kolonien nach 24 Stunden, bei PH 6,6 entwickelten sich reichliche Kolonien nach 6 und bei PH 6,69 unendliche nach 24 Stunden.

Betrachtet man diejenige H-Konzentration als optimal, bei welcher unendliche Kolonien 12 Stunden nach der Impfung entwickelt sind, so bemerkt man, dass die optimale H-Konzentration des Wachstums für Typhusbazillen sich zwischen PH 6,78–7,75 bewegt, d. h. die PH-Schwankung ist viel grösser im Vergleich zum Resultate der obigen Autoren.

Zwischen PH 8,74–9,08 ist das Wachstum gehemmt, bei PH 9,13 kein Wachstum mehr nach 24 Stunden, und die Typhusbazillen wurden bei über PH 9,28 innerhalb 6 Stunden vollständig vernichtet.

Bakterizide Wirkung von Zerebrospinalflüssigkeit, deren H-Konzentration durch Erhitzung bei verschiedenen Temperaturen verändert wurde.

Über die abtötende oder wachstumhemmende Wirkung der Zerebrospinalflüssigkeit auf die Bakterien ist bis heute wenig berichtet worden, und die Ansichten gehen noch auseinander. Ikegami hat, wie schon erwähnt, eine genauere Untersuchung darüber ausgeführt und fast definitives Resultat erzielte. Die von Ikegami gefundene bakterizide Wirkung der stark erhitzten Zerebrospinalflüssigkeit könnte davon herrühren, dass die in der Zerebrospinalflüssigkeit enthaltene Kohlensäure durch Hitze ausgetrieben und H-Konzentration derselben verändert wurde. Hierzu habe

I.

von verschiedener H-Konzentration.

7,75	7,87	8,21	8,30	8,51	8,64	8,74	8,80	8,83	8,88	8,97	9,03	9,08	9,13	9,25	9,28	9,30	9,38
148	42	118	103	127	235	191	72	227	219	82	237	66	72	92	67	142	93
R	R	R	174	R	R	276	62	152	136	70	421	311	24	69	0	0	0
∞	R	∞	472	R	R	124	124	189	346	37	864	281	2	1	0	0	0
∞	∞	∞	R.	R	R	22	76	285	58	13	821	119	0	0	0	0	0

ich einige Versuchsreihen angestellt, um das Wachstum der Typhusbazillen und die H-Konzentration der zu prüfenden Zerebrospinalflüssigkeit zu untersuchen. Das Reagenzröhrchen, das eine Menge von Zerebrospinalflüssigkeit enthält, wurde durch Wasserstrahlenpumpe vorsichtig ausgepumpt, um die zurückgebliebene Gase auszutreiben. Der Liquor wurde auch 30 Minuten lang bei verschiedenen Temperaturen erhitzt.

Tabelle II.

- (1) Menschen-Zerebrospinalflüssigkeit: T. S., Lumbago;
Menge ca. 18 ccm, A. D. 160 E. D. 105, ganz wasserklar,
W. R. (—), Nonne I. Phase u. Pleozytose negativ.

Art der Zerebrospinal-Flüssigkeit		Nativ	60°C 30'	80°C 30'	100°C 30'	Ausgepumpt	Kontrolle (Bouillon)
PH		8,66	8,77	8,90	9,04	8,75	7,50
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	97	88	121	108	84	86
	6 Stunden n. d. Aussaat	151	85	58	4	76	215
	12 Stunden n. d. Aussaat	62	6	2	0	2	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	21	4	0	0	2	∞

- (2) Der menschliche Liquor: K. T., Dementia paralytica;
Menge ca. 21 ccm, A. D. 182 E. D. 110, wasserklar,
Wassermannsche Reaktion ++, Nonne I. Phase u. Pleozytose positiv.

Art der Zerebrospinal-Flüssigkeit		Nativ	60°C 30'	80°C 30'	100°C 30'	Ausgepumpt	Kontrolle (Bouillon)
PH		8,38	8,71	8,98	9,01	8,56	7,50
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	77	89	112	84	117	128
	6 Stunden n. d. Aussaat	121	82	12	8	74	∞
	12 Stunden n. d. Aussaat	86	53	8	0	43	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	33	9	0	0	18	∞

Wie man aus der Tabelle II ersieht, verschiebt sich die H-Konzentration gemäss dem Erhitzungsgrade nach Alkalität, und erreicht durch halbstündiges Erhitzen bei 100°C einen Wert, bei welchem das Wachstum der Typhusbazillen auf Bouillon gehemmt wird. Die Tatsache, dass die H-Konzentration, welche bei der Bouillonkultur Hemmungswirkung ausübt, beim Liquor abtötend wirkt, kommt wahrscheinlich daher, dass die Nährmaterialien beider Kulturmischungen verschieden sind.

Meine Untersuchungen von 20 Fällen ergaben den durchschnittlichen Wert von PH 8,63 bei der aktiven Zerebrospinalflüssigkeit; halbstündiges Erhitzen bei 100°C im Wasserbad ergab den durchschnittlichen Wert von PH 8,98. Pumpt man Gase durch Vakuumvorrichtung aus Liquor 1 Stunde lang aus, so beträgt PH 8,72, was dem des 30 Minuten lang bei 60°C erhitzten Liquors entspricht.

Die Veränderung der H-Konzentration scheint also mit dem bakteriziden Vermögen des Liquors gewissermassen parallel zu gehen.

Bakterizides Vermögen der Zerebrospinalflüssigkeit, deren H-Konzentration durch Zusatz von Chemikalien verändert wurde.

Bei diesem Versuche habe ich PH des Liquors auf verschiedene Weise durch Zusatz von 10% Natrium carbonicum zur Veränderung gebracht, um damit zu prüfen, ob tatsächlich das bakterizide Vermögen desselben im Vergleich zur nativen Zerebrospinalflüssigkeit erhöht werden kann. Das Resultat findet man in der folgenden Tabelle III.

Wie die Tabelle III zeigt, erreicht der Liquor einen PH Wert von 8,88–8,92, falls 0,02 ccm von 10% Natrium carbonicum-Lösung zu 1 ccm von nativem Liquor zugesetzt wurde, wie auch in den Fällen, bei welchen der Liquor 30 Minuten lang bei 100°C behandelt wurde.

Dass der erhitzte Liquor in Bezug auf das bakterizide Vermögen viel stärker als der native ist, scheint auf einer Veränderung des PH-Wertes durch Erhitzen des Liquors und auf der durch Chemikalien hervorgerufenen de H-Konzentration zu beruhen.

Weiterhin wurde die folgende Untersuchung angeführt. 1 ccm von dem aktiven Liquor wurde abpipettiert und mit verschiedenen Mengen 5%iger KH_2PO_4 -Lösung versetzt, um PH des Liquors zum Optimum für Typhusbazillen bei Bouillon-Kultur zu korrigieren. Das Resultat ist aus der Tabelle IV ersichtlich.

Kolonienzahl	P _H	8,58	8,73	8,87	8,92	8,96	9,04	9,11	9,23	9,28	8,96	7,48
		Sofort n. d. Aussaat	6 Stunden n. d. Aussaat	12 Stunden n. d. Aussaat	24 Stunden n. d. Aussaat	Sofort n. d. Aussaat	6 Stunden n. d. Aussaat	12 Stunden n. d. Aussaat	24 Stunden n. d. Aussaat	Sofort n. d. Aussaat	6 Stunden n. d. Aussaat	12 Stunden n. d. Aussaat
		76	19	31	128	52	46	39	68	137	28	39
		28	26	32	78	27	35	0	3	0	13	R
		142	1	10	21	3	3	0	0	0	0	∞
		27	0	3	0	0	0	0	0	0	0	∞

Das bakterizide Phänomen wurde nach 24 Stunden bei P_H über 8,17 beobachtet. Bei P_H 7,53 entwickelten sich reichliche Kolonien nach 12 Stunden, und unendliche nach 24 Stunden; bei P_H 7,24 wucherten die Bazillen unendlich nach 18 Stunden. Dass die optimale H-Konzentration bei diesen Versuchen im Vergleich zu Bouillon-Kultur niedriger ist, ist wahrscheinlich auf Verschiedenheit der sich in der Bouillon und Zerebrospinalflüssigkeit befindlichen Bestandteile zurückzuführen.

Bakterizidie der hocherhitzten Zerebrospinalflüssigkeit, deren P_H durch Zusatz von Chemikalien verändert wurde.

Das Wachstum der Typhusbazillen wurde in dem Liquor untersucht, der bei 100°C 30' im Wasserbad erhitzt wurde, und dessen Reaktion durch Zusatz von 10% Na₂CO₃-Lösung in verschiedenen Mengen nach alkalischer Seite verschoben wurde. Behandelt man die Zerebrospinalflüssigkeit 30 Minuten lang bei 100°C, erhöht sich die H-Konzentration so stark, dass das Wachstum der Typhusbazillen beeinträchtigt wird. Es ist dann ohne weiteres klar, dass bei der Steigerung der Alkalität durch Zusatz von Na₂CO₃ das bakterizide Vermögen noch gesteigert wird, wie man aus der Tabelle V ersieht.

Tabelle IV.

- (1) G. S., Hirntumor ; Menge ca. 18 ccm, A. D. 650 E. D. 350, klar.
W. R. negativ.

Art des Liquors		Nativ	Versetzt mit 0,2 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,15 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,1 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,05 ccm 5% KH_2PO_4	Kontrolle (Bouillon)
P _{II}		8,67	6,69	6,88	7,06	7,53	7,52
Koloniengzahl	Sofort n. d. Aussaat	146	102	4	87	94	16
	6 Stunden n. d. Aussaat	121	R	41	199	265	R
	12 Stunden n. d. Aussaat	78	R	516	R	R	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	1	∞	R	∞	∞	∞

- (2) B. K., Neurasthenie ; Menge ca. 12 ccm, A. D. 128 E. D. 96, klar.
W. R. negativ.

Art der Zerebrospinalflüssigkeit		Nativ	Versetzt mit 0,01 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,02 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,03 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,04 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,05 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,06 ccm 5% KH_2PO_4	Kontrolle (Bouillon)
P _{II}		8,23	8,00	7,74	7,34	7,24	7,11	6,77	7,47
Koloniengzahl	Sofort n. d. Aussaat	147	63	95	167	128	79	61	67
	18 Stunden n. d. Aussaat	34	48	159	R	∞	∞	∞	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	14	36	169	∞	∞	∞	∞	∞

Ferner wurde das bakterizide Vermögen der hocherhitzten Zerebrospinalflüssigkeit, deren Reaktion durch Zusatz von 5% KH_2PO_4 -Lsg. korrigiert wurde, untersucht. Das Resultat ist in der Tabelle VI angegeben.

Tabelle VI.

(1) M. M., Apoplexie; A. D. 300 E. D. 100, Menge 25 ccm, klar, W. R. —.

Art des Liquors		Nativ	Bei 100°C 30/ inaktiviert	Versetzt mit 0,07 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,1 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,15 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,2 ccm 5% KH_2PO_4	Kontrolle (Bouillon)
PH		8,66	9,04	6,99	6,51	6,30	6,14	7,62
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	97	108	116	98	162	82	81
	6 Stunden n. d. Aussaat	151	4	R	R	R	R	R
	12 Stunden n. d. Aussaat	11	0	∞	∞	∞	∞	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	0	∞	∞	∞	∞	∞

(2) H. S., Lumbago; A. D. 160 E. D. 90, Menge 12 ccm; W. R. negativ.
Nonne I. Phase, Pandy und Pleozytose negativ.

Art des Liquors		Nativ	Bei 100°C 30/ inaktiviert	Versetzt mit 0,01 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,02 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,03 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,05 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,07 ccm 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,09 ccm 5% KH_2PO_4	Kontrolle (Bouillon)
PH		8,58	8,95	8,52	8,21	7,81	7,56	7,02	6,76	7,54
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	69	48	41	135	25	71	102	77	39
	10 Stunden n. d. Aussaat	16	1	2	225	R	R	∞	∞	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	0	0	R	∞	∞	∞	∞	∞

Die Tabelle VI zeigt, dass die Entwicklung der zahlreichen Kolonien bei PH 6,99 nach 6 Stunden zustande kommt, während diese nach 12 Stunden zahllos gewuchert sind.

Man sieht also, dass der hoherhitzte stark bakterizid wirksame Liquor seine bakterizide Wirkung verliert, sobald seine Reaktion durch Zusatz von Chemikalien passend für das Bakterienwachstum geändert wird.

Das Verhältnis zwischen der H-Konzentration der Lymphe und Blutsera und dem bakteriziden Vermögen derselben.

Nach den Untersuchungen von Schattenfroh, Pettersson, Ikegami u. s. w. ist es klar, dass die inaktivierte Lymphe und das inaktive Blutserum auf verschiedenen Bakterien abtötend wirken. Der Zweck meiner Untersuchung ist, das Verhältnis zwischen diesem bakteriziden Vermögen und der H-Konzentration dieser Körpersäfte klar zu machen. Zu dem Zwecke sind Typhusbazillen als Testobjekt verwendet worden.

Lymphe.

Meltzer,⁸⁾ Norris und Schneider⁹⁾ u. s. w. behaupteten, dass die Lymphe aus dem Ductus thoracicus der verschiedene Tiere durch Erhitzen bei 56°C ihre bakterizide Wirkung verliert. Ikegami¹⁰⁾ hat bewiesen, dass die des Kaninchens eine der Hitze widerstehende, bakterizide Wirkung hat und die erhitzte Lymphe des Hundes bald bakterizid, bald entwicklungshemmend wirkt. Die Lymphe soll die bakterizide Wirkung erst verlieren, wenn sie bei 70°C 30 Minuten lang erhitzt wird. Dieses Ergebnis konnte ich bei meiner Nachprüfung völlig bestätigen.

Tabelle VII.

(1) Hund : 7,2 kg, gefüttert. Lymphe milchig-weiss.

Art der Lymphe		Aktiv	56°C 30'	60°C 30'	65°C 30'	70°C 30'	75°C 30'	80°C 30'	85°C 30'	Bouillon
PH		8,45	8,57	8,62	8,64	8,67	8,67	8,71	8,74	7,58
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	130	67	121	94	172	125	64	48	97
	6 Stunden n. d. Aussaat	78	243	397	87	R	R	216	326	∞
	12 Stunden n. d. Aussaat	52	196	86	62	R	R	R	R	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	2	6	61	34	R	R	R	R	∞

(2) Hund : 6,5 kg, gefüttert. Lymphe milchig-weiss.

Art der Lymphe		Aktiv	56°C 30'	65°C 30'	70°C 30'	75°C 30'	80°C 30'	Bouillon
PH		8,34	8,37	8,39	8,42	8,47	8,73	7,58
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	82	104	111	58	42	53	56
	6 Stunden n. d. Aussaat	1	58	90	144	R	R	R
	12 Stunden n. d. Aussaat	4	9	27	110	∞	∞	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	2	R	R	∞	∞	∞

Als Versuchstiere wurde Hund gewählt ; die Lymphe wurde durch eine direkt in den Ductus thoracicus eingeführte Kanüle aseptisch entnommen, welche nach 24 Stunden zentrifugiert und zur Untersuchung gebraucht wurde. Das sonstige Versuchsverfahren ist ganz gleich wie bei den vorangehenden.

Wie man aus Tabelle VII ersieht, wirkt sowohl die aktive und auch inaktivierte Lymphe bakterizid oder wachstumshemmend, wenngleich sie durch halbstündiges Erhitzen bei 56°C das Komplement verloren hat. Bei 2 von 8 Fällen ging das bakterizide Vermögen durch 30 Minuten lange Behandlung bei 65°C verloren ; alle Fälle zeigten sich durch gleich lange Behandlung bei 70°C unwirksam. Die H-Konzentration der Lymphe verschiebt sich meistens durch Erhitzen nach der alkalischen Seite.

Trotzdem das PH der Lymphe durch Steigerung der Erhitzungstemperatur allmählich zunimmt und von dem optimalen PH-Wert für das Wachstum der Typhusbazillen weit entfernt ist, geht das bakterizide Vermögen verloren. Dies deutet darauf hin, dass hier keine wesentliche Beziehung zwischen dem Wachstum der Typhusbazillen und der Veränderung der H-Konzentration der Lymphe besteht.

Bakterizidie der Lymphe, deren PH chemisch
verändert wurde.

Es wurden einige Versuche angestellt, bei welchen die H-Konzentration der aktiven Lymphe durch Zusatz von 5 % iger KH_2PO_4 -Lösung verändert wurde.

Tabelle VIII.

Hund; 6,5 kg, gefüttert. Lymphe milchig-weiss.

Art der Lymphe		Nativ	Versetzt mit 0,02 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,04 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,06 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,08 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,1 cem 5% KH_2PO_4	Kontrolle (Bouillon)
PH		8,75	8,22	7,85	7,21	6,99	6,72	7,60
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	82	27	66	120	96	36	28
	6 Stunden n. d. Aussaat	34	32	145	187	268	123	215
	12 Stunden n. d. Aussaat	2	21	R	R	R	R	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	88	∞	∞	∞	R	∞

Wie man aus der Tabelle VIII ersieht, entwickelten sich zahllose Kolonien erst nach 24 Stunden bei PH 7,85. Daraus geht hervor, dass der bakterizide Stoff in der Lymphe durch halbstündige Behandlung bei 70°C und durch Zusatz von KH_2PO_4 erst bei PH 7,85 beeinträchtigt wird.

Blutserum.

Über die bakterizide Wirkung des inaktivierten Blutserums verschiedener Tiere gegen verschiedene Bakterien ist eine grosse Reihe von Arbeiten erschienen. Es wird überflüssig sein, hier auf eine geschichtliche Zusammenstellung derselben einzugehen, da Ikegami eine ausführliche diesbezügliche Literatur angegeben hat. Untersucht wurden die Sera von Menschen, Hunden und Kaninchen.

Das Blut wurde beim Menschen aus V. mediana, beim Hunde aus V. femoralis und beim Kaninchen aus V. jugularis entnommen. Durch starke Zentrifugierung erhält man ein reines Blutserum.

Die bakterizide Wirkung des menschlichen Blutserums.

Es ist aus den Versuchen vieler Forscher bekannt, dass das aktive menschliche Serum die Typhusbazillen vernichtet. Hinsichtlich des inaktivierten menschlichen Serums gibt es jedoch eine Reihe von Autoren, die behaupten, dass das bakterizide Vermögen des Serums von Typhus-

kranken unter immunologischem Einfluss stehe, da das Krankenserum, wenn es inaktiv gemacht wird, keine Wachstumshemmung darbietet, während das Serum der gesunden Menschen diese Wirkung beibehält (Seiffert),¹¹⁾ was von Ikegami¹²⁾ abgelehnt wurde. Dieser hat nachgewiesen, dass alle menschlichen Sera eine thermostabile bakterizide Wirkung enthalten. Nach meinen Versuchen an 25 menschlichen Sera wurde ein unendliches Wachstum nur bei 3 Fällen beobachtet, wenn Sera durch halbstündiges Erhitzen bei 60°C inaktiviert wurden, während sich in sämtlichen Fällen, bei welchen die Sera 30 Minuten lang bei 56°C erhitzt wurden, ein bakterizides Phänomen entfaltete. Die Sera von diesen 3 Fällen stammten aus einem gesunden Manne, einem Neurastheniker und einem Wassermannsche Reaktion stark positiven, an Rückenmarkslues leidenden Patienten ab. Durch Erhitzen steigerte sich die H-Konzentration wie bei der Lymphe, man konnte jedoch kein Verhältnis zwischen der Veränderung des PH-Wertes und der bakteriziden Wirkung des Serums bestätigen. Jedenfalls konnte ich aus meinen Experimenten der Ansicht von Seiffert nicht beipflichten, wie Ikegami schon darauf aufmerksam gemacht hat, dass das bakterizide Vermögen des Serums bei Typhuskranken und -rekongaleszenten, wenn das Serum inaktiv gemacht wird, verloren geht. Das nähere findet man in der folgenden Tabelle IX.

Tabelle IX.
Menschen-Blutserum.

Nr. I. T. S.: Gesund.				Nr. III. K. S.: Ankylostomiasis.							
Nr. II. T. K.: Typhus abdominalis (VII. Woche)				Nr. IV. M. U.: Neurasthenie.							
Nr. d Patienten		I			II		III		IV		
Art der Blutsera		Nativ	56°C 30'	60°C 30'	Nativ	60°C 30'	Nativ	60°C 30'	Nativ	60°C 30'	Bouillon (Kontrolle)
PH		8,52	8,72	8,77	8,49	8,65	8,23	8,45	8,32	8,54	7,52
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	98	24	38	85	21	42	121	116	88	98
	6 Stunden n. d. Aussaat	2	7	74	4	121	14	0	1	179	R
	12 Stunden n. d. Aussaat	0	1	41	—	—	—	—	0	R	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	2	3	0	0	0	0	0	R	∞

Weiter wurde die Untersuchung vorgenommen, indem die H-Konzentration der aktiven sowie inaktivierten Sera durch Zusatz verschiedener Mengen von 5%iger KH_2PO_4 -Lösung bis zur optimalen H-Konzentration für das Bazillenwachstum korrigiert wurde. Wie man aus der Tabelle X ersieht, fand sich das bakterizide Vermögen in allen 15 aktiven Sera. Korrigiert man die H-Konzentration bis zur optimalen, nachdem die Sera durch halbstündiges Erhitzen bei 60°C inaktiviert wurden, so bemerkt man, dass bei einem Serum ein unendliches Wachstum beobachtet und bei den anderen ein bakterizides Vermögen beibehalten wird. Unter 10 Fällen dieses Versuches, hatten 2, je ein Typhusrekonvaleszenten- und ein Pleuritiskrankenserum, auch nach Zusatz von KH_2PO_4 -Lösung die bakterizide Wirkung. Das Resultat von einigen Beispielen findet man in der Tabelle X, 1 und X, 2 zusammengestellt.

Tabelle X, 1.

Kranke: F. A. Apoplexie.

Art der Blutsera		Nativ	Versetzt mit 0,05 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,07 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,1 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,12 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,14 cem 5% KH_2PO_4	(Bouillon) Kontrolle
PH		8,43	7,42	7,29	6,97	6,71	6,45	7,58
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	265	182	97	139	126	85	79
	6 Stunden n. d. Aussaat	0	0	0	0	0	0	R
	12 Stunden n. d. Aussaat	0	0	0	0	0	0	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	0	0	0	0	0	∞

Hundeserum.

Beim Hunde wirkt das aktive Serum bald bakterizid bald entwicklungshemmend auf Typhusbazillen, aber bei inaktiven Sera finden wir recht verschiedene Resultate. Bei 5 unter 10 Fällen der bei 60°C halbstündig erhitzten Sera beobachtete man ein unendliches Wachstum der Bakterien, während dieses in 5 Fällen gehemmt wurde, was mit den Versuchen von Ikegami übereinstimmt. Dabei kann man keine Beziehung zwischen dem Wachstum und Pri konstatieren.

Tabelle X, 2.

Nr. I. M. U.: Typhus abdominalis (Rekonvaleszenz).

Nr. II. T. S.: Neurasthenie.

Nr. III. T. K.: Typhus abdominalis (Rekonvaleszenz).

Nr. d. Patienten	I				II			III			Kolonienzahl
	Nativ	60°C 30' erhitzt	Versetzt mit 0,05 cem 5% KH ₂ PO ₄	Versetzt mit 0,07 cem 5% KH ₂ PO ₄	Nativ	60°C 30' erhitzt	Versetzt mit 0,05 cem 5% KH ₂ PO ₄	Nativ	60°C 30' erhitzt	Versetzt mit 0,05 cem 5% KH ₂ PO ₄	
Art der Blutsera											(Bouillon) Kontrolle
Pri	8,41	8,65	7,5	6,95	8,34	8,54	7,5	8,47	8,65	7,47	7,55
Sofort n. d. Aussaat	101	126	39	118	101	226	39	85	21	42	79
6 Stunden n. d. Aussaat	1	48	61	R	1	88	61	4	121	5	R
12 Stunden n. d. Aussaat	0	11	R	∞	—	—	—	—	—	—	∞
24 Stunden n. d. Aussaat	0	0	∞	∞	0	0	2	0	0	0	∞

Tabelle XI.

Das Blutserum des Hundes.

Nr. 1. 5,6 kg.

Nr. 2. 6,7 kg.

Nr. 3. 5,2 kg.

Nr. 4. 6,2 kg.

Nr. d. Hunde		1			2		3		4		
Art der Blutsera		Nativ	50°C 30'	56°C 30'	Nativ	60°C 30'	Nativ	60°C 30'	Nativ	60°C 30'	Bouillon
Ph		8,32	8,26	8,36	8,31	8,34	8,26	8,52	8,4	8,48	7,6
Kolonienzahl	Sofort n. d. Aussaat	106	49	97	229	82	69	98	131	68	86
	6 Stunden n. d. Aussaat	4	635	R	101	465	20	167	21	59	R
	12 Stunden n. d. Aussaat	0	R	R	58	R	38	R	0	39	∞
	24 Stunden n. d. Aussaat	0	∞	∞	138	∞	0	∞	0	12	∞

Die optimale H-Konzentration erhielt man durch Zusatz von 5%iger KH_2PO_4 -Lösung zum aktiven sowie inaktivierten Serum. Wie die Tabelle XII zeigt, wurde eine Hemmungserscheinung des aktiven Serums bei PH 7,63, reichliche Kolonien nach 24 Stunden bei PH 7,58, unendliches Wachstum bei PH zwischen 7,06–6,68 nachgewiesen.

In Fällen, bei welchen das inaktivierte Serum in gleicher Weise behandelt wurde, war das Wachstum im Vergleich zum aktiven sehr lebhaft; ein unendliches wurde nach 12 Stunden bei PH 8,07 beobachtet. Bei PH 6,62 und 6,57 wurden zahlreiche Kolonien nach 12 Stunden, zahllose nach 24 Stunden bemerkt. In allen in analoger Weise behandelten Fällen waren die Resultate ganz gleich. Also kann man konstatieren, dass keine Beziehung zwischen der H-Konzentration und dem bakteriziden Vermögen durch Erhitzen beim Hundeserum besteht.

In Fällen, bei welchen die H-Konzentration auf chemische Weise korrigiert wurde, wurde die bakterizide Wirkung vollständig vernichtet. Ferner ist das chemische Korrigieren der H-Konzentration nach halbstündigem Erhitzen der Sera bei 60°C für das Wachstum der Typhusbazillen fördernd.

Tabelle XIII.

Kaninchen.

(1) Aktives Serum. Kaninchen, 1,8 kg.

Kolonienzahl	Art der Blutsera	Nativ										Bouillon
		98	126	92	101	38	48	109	109	34	64	87
Sofort n. d. Aussaat												
12 Stunden n. d. Aussaat		176	∞	579	∞	∞	∞	∞	∞	R	R	∞
24 Stunden n. d. Aussaat		R	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
Kolonienzahl	Ph	Nativ	Versetzt mit 0,01 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,02 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,03 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,04 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,05 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,07 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,09 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,11 cem 5% KH_2PO_4	Versetzt mit 0,13 cem 5% KH_2PO_4	Bouillon
			7,89	7,56	7,31	7,17	7,06	6,95	6,61	6,59	6,41	7,55
			169	49	87	43	86	132	89	43	74	116
			53	21	12	3	16	11	161	78	4	∞
24 Stunden n. d. Aussaat		0	0	0	11	8	22	R	R	R	R	∞

Zusammenfassung.

1. Dass die 30 Minuten lang bei 100°C erhitzte Zerebrospinalflüssigkeit stark bakterizides Vermögen besitzt, beruht darauf, dass PH der Flüssigkeit geändert wird, so dass die für das Wachstum der Typhusbazillen ungeeignete Alkalität erzeugt wird.

2. Eine unendliche Entwicklung der Typhusbazillen wurde bei dem aktiven und inaktiven Liquor beobachtet, bei welchen die H-Konzentration durch Zusatz geeigneter Menge von KH_2PO_4 bis zur optimalen korrigiert wurde.

3. Das bakterizide Vermögen der inaktiven Lymphe für das Wachstum der Bazillen scheint keine Beziehung auf H-Konzentration zu haben.

4. In der grossen Mehrzahl erhielten menschliche Sera das bakterizide Vermögen nach halbstündigem Erhitzen bei 60°C, wobei konnte keine Beziehung zur H-Konzentration nachgewiesen werden.

5. Im aktiven menschlichen Serum, bei welchem PH chemisch korrigiert wird, zeigt sich keine Verringerung des bakteriziden Vermögens. Nach vorherigem halbstündigen Erhitzen derselben geht das bakterizide Vermögen durch Korrigieren von PH zum Optimum bald verloren bald wird beibehalten, indem keine konstante Beziehung der H-Konzentration bemerkt wird.

Literature.

- (1) Ikegami, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1926, **46**, 522.
- (2) Kolthoff, Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chem., 1925, **144**, 259.
- (3) Norton, Journ. of Inf. Dis., 1916, **18**, 180.
- (4) Shohl u. Janney, Journ. Urol., 1917, **1**, 211.
- (5) Brüenn, Inaug. Diss. Berlin, S. 24. (Zit. bei Toyota, Chugai-Iji-Shimpo, 1924, 421.)
- (6) Schoenholz u. Meyer, Journ. Inf. Dis., 1921, **28**, 384.
- (7) Toyota, Chugai-Iji-Shimpo, 1924, 207, 373, 429.
- (8) Meltzer u. Norris, Journ. Exp. Med., 1897, **2**, 701.
- (9) Schneider, Münch. med. Wochenschr., 1908, 499.
- (10) Ikegami, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1925, **45**, 124.
- (11) Soiffert, Deutsche med. Wochenschr., 1912, **38**, 305.
- (12) Ikegami, Tohoku Journ. Exp. Med., 1925, **6**, 567.