

Anhang I.

Zur Frage: Ist das Speichelferment ein vitales oder chemisches Ferment?

Von

Harald Goldschmidt aus Kopenhagen.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Königl. Thierarzneischule zu Dresden.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. März 1886.)

Im Anschluss an die obenerwähnten Untersuchungen habe ich zur Lösung der Frage, ob das diastatische Ferment den vitalen Fermenten angehöre, eine Anzahl von Kulturversuchen mit Speichel, Drüsenstücken und Drüsenextracten angestellt.

a) Versuche mit Drüsenextracten.

Von einer fein zerkleinerten Schweineparotis wurden Extracte mit Glycerin und mit Carbolwasser zubereitet. — Von den hergestellten Extracten wurden kleine Portionen mit Stärke in den Brütöfen gestellt, um festzustellen, ob die Extracte fermenthaltig seien. Da nach 2 Stunden starke Zuckerreaction eingetreten war, und da eine auch bei Umschütteln von einer Mischung von Stärke und Extract nach wenigen Minuten eintrat, so war damit das Vorhandensein wirksamer Fermente in wirksamer Menge dargethan. Um zu erkennen, ob es belebter Natur sei, wurden nach Koch's Methode Kulturversuche mit festem Nährboden angestellt, nachdem vorher eine mikroskopische Untersuchung des Extractes vorgenommen worden war. Zu den Kulturversuchen wurde Fleischwasserpepton-Gelatine benutzt. Dieselbe wurde mit Drüsenextract bereitet und davon 3 Platten nach Vorschrift gegossen. Die Platten standen in feuchten Kammern eingeschlossen bei Zimmertemperatur. Zur mikroskopischen Untersuchung des Extractes wurden Deckglaspräparate, welche mit Methylviolett, Fuchsin etc. gefärbt worden waren, angefertigt. Dieselben wurden mit homogenen Immersionen untersucht. — Man fand eine Menge von verschiedenen Mikroorganismen (Mikrokokken, Bacterien und Bacillen).

Auf den mit Extract bereiteten Platten hatten sich nach 2 Tagen mehrere verschiedene Kolonien entwickelt. — Von den einzelnen Kolonien wurden mikroskopische Präparate gefertigt und nach Färbung mit Methylviolett oder Fuchsin untersucht.

Gleichzeitig wurden Stichkulturen¹⁾ in Reagirgläsern (mit Gelatine) sammt Impfungen in frisch zubereiteten Kleister gemacht. — Die mikroskopischen Präparate zeigten Mikrokokken, Bacterien und Bacillen, welche den im Extract gefundenen Organismen ähnlich waren. Ausserdem fand man noch einen Schimmelpilz, der auf den Platten ein sehr feines, durchscheinendes, sternförmiges, die Gelatine nicht verflüssigendes Myclium bildete.

Die Stichkulturen zeichneten sich durch nichts Besonderes aus; sie wuchsen meist in der Tiefe.

Der Schimmelpilz wuchs sehr langsam, und die einzelnen Kolonien dem Stiche entlang bildeten keine fortlaufende Reihe, sondern zeigten sich als einzeln liegende, sich nach allen Richtungen ausbreitende, hübsche, sternförmige Pilzkolonien. Die Sterne waren gegen die Ueberfläche der Gelatine am grössten, und in einigen Fällen bildete sich zuerst ein compacteres Centrum, wahrscheinlich aus Pilzsporen bestehend, von welchem die Ausläufer in allen Richtungen ausgingen. Der von den Plattenkulturen geimpfte Kleister wurde auf Zucker untersucht. Erst nach 5 Tagen war Zucker in dem Gefässe, welches mit dem Schimmelpilz geimpft war, vorhanden. Der ganze Versuch wurde mit demselben Resultat wiederholt.

Ich war bei diesen Versuchen von der Voraussetzung ausgegangen, dass, wenn im Speichel besondere diastatisch wirkende Lebewesen vorhanden wären und wenn sich dieselben ausserhalb des thierischen Organismus entwickeln könnten, diese auf, resp. in der Gelatine, wenn dieselbe ein passender Nährboden wäre, wachsen und grosse Kolonien bilden müssten; jedenfalls wäre es anzunehmen, dass eventuell erscheinende «Fermentkolonien» in überwiegender Menge gegen etwaige Luftpilze hervortreten müssten, und dass Kleister, welcher mit diesen Pilzen geimpft resp. besät würde, zum Theil bald in Zucker übergehen müsse. Die oben erwähnten Versuche gaben indessen in Bezug auf massenhaft vorkommende besondere Pilzkolonien ein negatives Resultat, und der einzige Zucker bildende Pilz rührte offenbar von der zu den Extracten freizutretenden unreinen Luft her.

1) Ueberall ist das als Nährboden benutzte Material lege artis als steriles Material zubereitet.

b) Versuche mit Drüsenstücken.

Mit desinficirten Instrumenten (Messer, Scheere und Pincette) wurden auf möglichst antiseptischem Wege kleine Stücke von einer Speicheldrüse (Parotis vom Schweine) genommen und rasch in Gläser mit verflüssigter Gelatine gebracht. — Die Reagirgläser mit der bald erstarrenden Gelatine, in welcher die Drüsenstücke theils an der Oberfläche, theils unter derselben sich befanden, wurden bei Zimmertemperatur gestellt und täglich beobachtet. — Nach 5 Tagen fing Luftentwicklung in der Umgebung von einem an der Oberfläche der Gelatine befindlichen Drüsenstück an, was sich durch Blasenentwicklung in der Gelatine zeigte. Wenige Tage später wurde die Gelatine flüssig und in eine gelbliche Masse umgewandelt. Gleichzeitig konnte durch den Wattenpfropfen ein übler Geruch wahrgenommen werden. Ein ähnlicher Vorgang lief, wenn auch später, in einigen anderen Reagirgläsern ab.

In einigen Gläsern dagegen traten gar keine Veränderungen auf. Die Gelatine blieb starr und klar. Die Drüsenstücke blieben unverändert. Es traten keine Pilzwucherungen in ihrer Umgebung auf. Von der Gelatine mit Wachsthumsvorgängen, resp. Pilzwucherungen, wurden Stichkulturen, mikroskopische Präparate und Impfungen in Stärke hergestellt.

In den mikroskopischen Präparaten fand man Organismen, welche dem *Bacterium termo* ähnlich waren. Die Stichkulturen zeichneten sich dadurch aus, dass sie schnell die Gelatine verflüssigten, einen üblen Geruch entwickelten und eine eigenthümliche Form hatten: oben sehr breit, beinahe halbkugelförmig, unten viel schmaler und abgerundet; die Farbe war hellgrün. Bei Impfungen in Kleister wurde letzterer in Zucker umgewandelt.

Ein Drüsenstück, welches kein Wachstum zeigte, wurde nach 7 Wochen aus der Gelatine genommen und in ein Glas mit steriler Stärke gebracht; am nächsten Tag hatte es den grössten Theil der Stärke in Zucker umgewandelt.

Dieser letztgenannte Versuch bestätigte meine Vermuthung, dass das Wachstum in den anderen Gläsern durch die Anwesenheit von Luftpilzen (wahrscheinlich *Bacterium termo*, welcher möglicher Weise beim Herausnehmen der Drüsenstücke aus der Drüse an dieselben gelangt ist) veranlasst worden ist.

Dass die Stärke-Impfungen von diesen Gläsern ein positives Resultat gaben, erklärt sich wohl daraus, dass die das Drüsenstück umgebende verflüssigte Gelatine als ein Drüsenextract zu betrachten ist.

Der Versuch wurde wiederholt; das Resultat war dasselbe.

Es scheint demnach in den Speicheldrüsen kein vitales Ferment zu sein, welches sich in Gelatine entwickeln könnte.

c) Kulturversuche mit Parotidenspeichel vom Pferde.

Von frischem antiseptischem Speichel wurden Plattenkulturen gemacht. Es traten keine Wachstumserscheinungen ein.

Ebensowenig hatten Stichkulturen von demselben Speichel positives Resultat. Plattenkulturen von gewöhnlichem — nicht antiseptisch aufgefangenem — Speichel gaben einige Male positives Resultat, d. h. es bildeten sich auf den Platten sehr kleine, in Masse auftretende Kolonien, welche von einer runden Form und weisslich-gelber Farbe waren. Nicht jedesmal und nur auf der Originalplatte traten dieselben in solchen Massen auf, dass die Gelatine gleichzeitig mit dem Erscheinen der Kolonien verflüssigt wurde. In andern Fällen und jedesmal auf den Platten I und II) blieb die Gelatine fest und die Kolonien, welche höchstens 1 mm. im Durchschnitt waren, entwickelten sich nicht weiter.

Die Stichkulturen konnten wegen Mangel an Zeit nicht in genügender Menge gemacht werden.

Verdauungsversuche (mit Kleister) mit kleinen Stücken von Gelatine, welche mit den erwähnten Kolonien besetzt war, gaben positive Resultate.

[Ein kleines Stück von einer Hundesubmaxillärdrüse, welches möglichst antiseptisch aus der in Alkohol aufbewahrten Drüse herausgenommen war, und welches erst etwas sterile Stärke in Zucker umgewandelt hatte, gelangte in ein mit steriler Gelatine gefülltes steriles Reagirglas. Nachdem die Gelatine im Brütöfen flüssig gemacht worden, wurde das Reagirglas schräg gestellt und die Gelatine abgekühlt. Im Glase — und besonders in der Umgebung des Drüsenstückes — entwickelten sich eine Menge sehr kleiner, den obenerwähnten ähnlicher Kolonien.

Verdauungsversuche mit einem Theil der diese Kolonien enthaltenden Gelatine gaben indessen negative Resultate.]

Endlich wurden Plattenkulturen gemacht mit einer Mischung von antiseptischem Speichel und steriler Stärke, welche erst nach längerer Zeit, und nachdem die Gefässe mehrmals geöffnet worden, Zuckerreaction gegeben hatten. Die Platten waren nach wenigen Tagen mit Schimmelpilzkolonien, welche Stärke verzuckerten, bedeckt.

Die ganze (unter c) erwähnte Versuchsreihe könnte also, wenn man von den Schimmelpilzen absieht, darauf deuten, dass im Speichel (und in der Speicheldrüse) unter besondern Verhältnissen ein vitales Ferment vorkomme.

1) Die Gelatine auf diesen 2 Platten war geimpft von resp. Originalplatte und Platte I.

Die Natur desselben und die Verhältnisse, unter welchen das Ferment sich entwickeln kann, gehen jedoch aus den Versuchen nicht klar hervor.

Die im ersten Artikel erwähnten Versuche mit Pferde- resp. Menschenspeichel, die nach sehr starker Verdünnung noch ein in Bezug auf Verzuckerung von Stärke positives Resultat gaben, scheinen auch auf eine Vermehrungsfähigkeit des Speichelferments zu deuten.

Bei fernern Untersuchungen wird das Augenmerk darauf zu richten sein, dass zu den Kulturversuchen ein stärke- mehl- oder zuckerhaltiger Nährboden oder eine dem Blute ähnliche Masse benutzt werde.

Als Objecte würden antiseptischer Speichel, antiseptische Drüsenextracte und Drüsenstücke zu wählen sein. Ganz besonders aber muss man Objecte wählen, in denen die lebenden Keime in lebhafter Entwicklung begriffen sind. Dies ist zu vermuthen in Digestionsflüssigkeiten, also in steriler Stärke, welche mit Speichel oder mit antiseptischen Drüsenstücken theilweise verzuckert ist.