

## Untersuchungen über die Natur der von dem *Gliscrobacterium* gebildeten schleimigen Substanz.

Von

**Dr. Pasquale Malerba.**

(Der Redaction zugegangen am 5. Juli 1891.)

In der unter Mitwirkung des Herrn Dr. Sanna-Salaris<sup>1)</sup> ausgeführten Arbeit über die schleimige Substanz, die von dem von uns in einem menschlichen Harn entdeckten *Bacterium gliscrogenum* gebildet wird, sagten wir, dass man dieselbe noch nicht in ihrem Charakter definiren konnte, und nahmen uns deshalb vor, eine genaue chemische Untersuchung dieser Substanz auszuführen.

Von da ab habe ich mich wiederholt mit dem Studium dieser Substanz beschäftigt und gestehe, dass ich sehr ernste Schwierigkeiten gefunden habe, sie in hinreichender Quantität und in einem befriedigend reinen Zustande zu erhalten. Dieser Spaltpilz wächst und vermehrt sich bedeutend in peptonisirter Fleischbrühe und producirt in dieser Flüssigkeit eine grosse Quantität schleimiger Substanz; daher habe ich zuerst versucht, dieselbe auf diesem Wege zu erhalten. Jedoch die Schwierigkeit, die Substanzen frei von Pepton und von anderen Substanzen, die reichlich darin vorhanden sind, darstellen zu können, hat mich bewogen, diesen Weg zu verlassen.

So habe ich mich dem normalen Harn zugewendet, einerseits weil er das natürliche Nahrungsmittel des *Bacterium*

<sup>1)</sup> Rendiconto dell' Acc. delle scienze fisiche e matematiche. F. 1, 1888; F. 6, 1888; F. 32, 1888.

ist, andererseits weil es leichter war, die Substanz zu reinigen. Zu diesem Zwecke wurde normaler Harn (immer von demselben Individuum) in einer Erlenmeyer'schen Flasche aseptisch gesammelt, sterilisirt und mit Culturen des *Bacterium gliscrogenum* inoculirt.

Die Flasche wurde im Luftbad bei einer Temperatur von 37° (optimum) 24–36 Stunden lang erhalten; nach dieser Zeit erhält der Harn den höchsten Schleimgehalt. Die schleimigen Harne wurden dann mit dem 3–4fachen Volumen Alkohol gefällt, der Niederschlag in Wasser aufgelöst, abermals mit Alkohol gefällt und mit einer Mischung von Alkohol und Wasser gewaschen, welche mit Essigsäure angesäuert war (60 Vol. Alkohol, 50 Vol. Wasser und 2 Vol. Essigsäure); nachdem der Niederschlag im Wasser wieder gelöst war, wurde die Lösung mit Alkohol behandelt und der Niederschlag mit einer hydroalkoholischen, mit wenig Weinsäure verdünnten Mischung gewaschen (60 Alkohol, 50 Wasser, 2 Weinsäure). So gelang es, die Substanz von allen in dem Harne existirenden Beimischungen, d. h. Farbstoffen, Uraten, Salzen, frei zu machen, wie durch Untersuchung auf Spuren dieser Stoffe in dem Niederschlage constatirt wurde. Nur war es nicht möglich, die Substanz von Erdphosphaten frei zu machen, trotz Auswaschen mit der Essigsäure enthaltenden Flüssigkeit.

Die auf diese Art erhaltene Substanz erwies sich als vollständig weiss, sehr schleimig, elastisch, wieder löslich in Wasser gleich nach der Fällung, unlöslich nach etwas längerem Verweilen unter concentrirtem Alkohol. Ueber Schwefelsäure oder im Luftbad bei 105° getrocknet, schrumpft sie zusammen, nimmt eine gelbliche Farbe an, wird hart und so zerbrechlich, dass man sie pulverisiren kann. Sowohl die frische Substanz, welche lange unter dem Einflusse des Alkohols geblieben ist, als ihr Pulver sind wenig löslich in Essigsäure, auch wenn sie concentrirt ist, ebenso in anderen organischen Säuren, in den Mineralsäuren dagegen vollständig löslich.

Die Substanz, als sehr gut getrocknetes Pulver, auf einem Platinbleche verbrannt, riecht, wenn auch nicht sehr

intensiv, nach verbranntem Harn; die Dämpfe bläuen rothes Lakmus-Papier, in Folge von Ammoniakentwicklung.

Wird sie nach der Methode von Lassaigne mit einem Stück Kalium behandelt, so bildet sich Cyankalium, welches mit Ferriferrosumlösung und Salzsäure blauen Niederschlag gibt.

Mit Aetzkalilauge und Kupfersulfat gekocht färbt sie sich violett-blau.

Mit Millon's Lösung erwärmt färbt sie sich roth.

Concentrirte Salzsäure löst sie und die Flüssigkeit nimmt eine roth-violette Färbung an. Mit Essigsäure gekocht färbt sie sich nach Hinzufügen von concentrirter Schwefelsäure violett-röthlich.

Mit einer Spur von Zucker und Schwefelsäure gekocht gibt sie eine roth-braune Färbung.

Sie wird von Salpetersäure (bei dem Erwärmen) gelöst, die Flüssigkeit wird dann gelb und nach Zufügung von Ammoniak orangeroth.

Alle diese Reactionen beweisen, dass die betreffende Substanz ein stickstoffiger Körper von der Art der Albumine oder ihrer Derivate sein muss. Doch meinte<sup>1)</sup> Prof. Albertoni, welcher ebenfalls diese Substanz studirt hat, ohne sie zu isoliren, indem er sich auf die Reaction von Baumann und auf die von Schiff stützte, dass sie ein Kohlehydrat sei. Ich muss zugeben, dass ich selbst zunächst zu dieser Ansicht gekommen war, und nur aus dem Grunde, weil man die Anwesenheit einer albuminischen Substanz nicht leugnen kann, glaubte ich, dass man auch in der nicht ganz reinen Substanz Kohlehydrate finden könnte.

Um mich darüber zu versichern, machte ich folgende Versuche: Ich liess die Substanz mit verdünnter Schwefelsäure (1—30 Stunden) kochen, um Zucker oder wenigstens eine reducirte Substanz erhalten zu können; aber nachdem

<sup>1)</sup> Comunicazione letta all' Accad. delle scienze in Bologna, Gennajo 1889.

die Schwefelsäure eliminirt war, habe ich in der concentrirten Flüssigkeit weder eine Reduction mit Kupfersalz, noch mit Wismutoxyd in alkalischer Lösung erhalten. Nach 30stündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure habe ich von dieser Substanz keine Lävulinsäure erhalten, welche nach Wehmer und Tollens<sup>1)</sup> auf diesem Wege aus allen Kohlehydraten entstehen soll.

Wie kann man nun den Eintritt der Reaction von Schiff hier erklären, nämlich die purpurrothe Färbung des mit einer alkoholischen Lösung von Xylidin und Eisessig zu gleichen Theilen getränkten Papierstreifens, also die Bildung von Furfurol, wie sie zuerst Udránszky beschrieben hat? Von Albertoni und dann von mir ist diese Reaction mit dem Gliscrin constatirt. Es ist kein Zweifel, dass die Substanz bei Behandlung mit Schwefelsäure Furfurol entwickelt, aber diese Furfurolbildung ist, nach Udránszky<sup>2)</sup>, nicht ausschliesslich charakteristisch für die Kohlehydrate. Er erhielt vielmehr Furfurolbildung, als er auf dieselbe Weise Glycuronsäure, Fibrin und Globulin behandelte. Er schloss daraus, dass die Entstehung des Furfurols aus den Albuminstoffen die Existenz von chemischen Beziehungen der letzteren zu den Kohlehydraten beweist. Diese Beziehungen hatte früher schon Schützenberger nachgewiesen, indem er unter den Spaltungsproducten der Albumine eine Art Dextrin fand. Ich habe die Furfurolreaction mit Eieralbumin, sowohl mit krystallisirten, ebenso auch mit anderen Albuminstoffen erhalten. In der That empfiehlt Udránszky, die Reaction auf Furfurol nur mit eiweissfreiem Harn auszuführen. Die Reaction von Baumann beweist nichts zu Gunsten des Kohlehydrats, weil nicht bloß die Kohlehydrate durch Behandlung des Harns mit Natronlauge von 10% und Benzoyl-

<sup>1)</sup> Wehmer und Tollens. Ueber die Bildung von Lävulinsäure als eine Reaction aller wahren Kohlehydrate. Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 243, S. 314–334.

<sup>2)</sup> Ueber die Bildung von Furfurol aus Eiweiss. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 33.

chlorid niedergeschlagen werden, sondern auch das Cystin<sup>1)</sup> und ebenso die Albumine, wie ich selbst constatiren konnte.

So kann der weisse Niederschlag allein ohne andere Proben das Vorhandensein von Kohlehydrat im Glycerin nicht hinreichend beweisen. In der That sagt Wedenski, für die Erkennung der Kohlehydrate in dem normalen Harn, dass der zweifelhaft krystallinische Niederschlag, den man nach Baumann's Methode erhält, bei 40° erweicht, bei 60° schmilzt und ungefähr 66,82% C und 5,51% H enthält, also einen durchschnittlichen Werth zwischen dem Werthe eines Benzoyläthers eines Kohlehydrats der Amylum-Gruppe und zwischen dem Werthe eines anderen Benzoyläthers der Traubenzucker-Gruppe vorstellt<sup>2)</sup>.

Ueberdies constatirten Udránszky und Baumann, dass mit Natronlauge und Benzoylchlorid auch gewisse Diamine niedergeschlagen werden<sup>3)</sup>.

Die Probe von Pettenkofer auf die Gallensäuren, parallel mit gleichen Theilen trockenen Gliscrins mit Rohrzucker wiederholt, gab eine prächtige kirschrothe Farbe mit letzteren und eine schmutzige rothe Farbe mit dem Gliscrin.

Das Gliscrin hat auch keine Aehnlichkeit mit dem Gummi von Landwehr<sup>4)</sup>. Landwehr sagt in der That, dass man, um dies Gummi aus dem Harn abzuschneiden, eine hinreichende Quantität Kupferphosphat und Natronlauge im Ueberschusse hinzufügen muss; alsdann schlägt die Verbindung des Kupferoxyds mit dem Kohlehydrate sich in blauen Flocken nieder.

Diese Flocken werden auf dem Filter gesammelt, sorgfältig gewaschen und in möglichst geringer Quantität concentrirter HCl gelöst; die salzsaure Lösung wird mit Alkohol

<sup>1)</sup> Goldmann u. Baumann, Zur Kenntniss der schwefelhaltigen Verbindungen des Harns. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 12, S. 254—261.

<sup>2)</sup> Wedenski, Zur Kenntniss der Kohlehydrate im normalen Harn. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 122.

<sup>3)</sup> Udránszky und Baumann, Das Benzoylchlorür als Reagens. Berichte d. d. chem. Gesellsch., Bd. 21, S. 2744—2751.

<sup>4)</sup> Centralblatt f. d. med. Wiss., 1885, No. 31, S. 369—372.

behandelt (3—4 Vol.), der trockene Niederschlag stellt ein weisses, stickstoffloses Pulver dar.

Das thierische Gummi zersetzt sich nach Landwehr sehr leicht und es bildet sich dabei ein reducirender Körper. Nun, wenn man den schleimigen Harn mit Kupfersulfat behandelt, schlägt sich die Substanz als kleine Flocken nieder, auch ehe man Natronlauge zufügt. Wenn man zuerst die Natronlauge zufügt, erhält man einen starken Niederschlag, weil das Gliscrin sich zusammen mit den Erdphosphaten niederschlägt.

Wenn man den so behandelten Harn filtrirt und dem Filtrat Kupfersulfat beifügt, erhält man grün-blaue Flocken, welche auf die Art von Landwehr behandelt, d. h. auf dem Filter gesammelt, gewaschen und in Salzsäure gelöst und mit Alkohol behandelt keinen Niederschlag geben. Hieraus ergibt sich, dass die Natronlauge die Substanz schon eliminirt hat. Dagegen erhält man einen Niederschlag bei Behandlung mit Salzsäure und mit Alkohol, wenn man Natronlauge und Kupfersulfat ohne vorherige Filtration zufügt. Die Flocken zeigen die Reactionen der Albuminsubstanzen und geben weder bei dieser Behandlung, noch auf anderem Wege eine reducirende Substanz. Dem thierischen Gummi Landwehr's ist der Körper in keiner Weise ähnlich.

Auch darf die Analogie der gliscrogenen Bacterien mit anderen Spaltpilzen, welche schleimige Substanzen in kohlehydrathaltigen Flüssigkeiten entstehen lassen, nicht zur Annahme verleiten, dass auch hier ein Kohlehydrat das Product der Thätigkeit sei.

Die gliscrogenen Bacterien gleichen in der That anderen bis jetzt bekannt gewordenen Bacterien, welche die Flüssigkeit, in der sie wachsen, schleimig machen, nur in diesem Punkte. Sie unterscheiden sich dagegen in morphologischer und biologischer Hinsicht, ebensowie hinsichtlich der Producte, die sie liefern.

In der That stellt der *Bacillus viscosus sacchari* (Kramer) Stäbchen dar, 1  $\mu$  breit und 2—5  $\mu$  lang, leicht an den Extremitäten zugerundet, und die Stäbchen bilden

oft Ketten bis zu 50 Gliedern. Sie zeigen keine eigenthümliche Bewegung ausser der Molecularbewegung. Sie verflüssigen die Gelatine; ihr Temperaturoptimum ist 22° C.; sie wachsen bloß auf neutralen oder schwach alkalischen Nährböden.

Der *Bacillus viscosus vini* (Kramer) bildet Stäbchen von 0,6 oder 0,8  $\mu$  Breite und 2—6  $\mu$  Länge, zuweilen bis 14  $\mu$ . Dieser Spaltpilz gehört zu den anaeroben Bacterien und wächst nur auf sauren Nährböden. Kramer konnte ihn aber bis jetzt nicht auf soliden Nährböden züchten, sondern nur im Weine oder in saurer Lösung von Glucose<sup>1)</sup>.

Das Milchbacterium von Schmidt-Müllheim bildet Micrococcen von 1  $\mu$  Durchmesser. Die morphologischen und biologischen Charaktere dieser Microorganismen sind daher sehr verschieden von denjenigen, welche das *Gliscrobacterium* kennzeichnen, wie man aus den bezeichneten Veröffentlichungen ersehen kann. Uebrigens scheint es, dass zwischen diesen und jenen noch der Unterschied besteht, dass das erstere die schleimige Substanz gibt als Product seiner Thätigkeit auch in Kohlehydrate nicht enthaltenden Lösungen, die anderen dagegen die charakteristische Eigenschaft besitzen, in den Kohlehydrate enthaltenden Flüssigkeiten schleimige Substanz zu bilden.

Neapel, April 1891.

Physiol. Inst. der königl. Universität.

---

<sup>1)</sup> Kramer, E., Studien über schleimige Gährung. Monatsbericht für Chemie, Bd. X, S. 467—505, 1889.

---