

Zur quantitativen Bestimmung der Reduktionskraft von Bakterien und tierischen Organen.

Von

Dr. med. **Heinrich Wichern**, Assistenten der Klinik.

Mit einer Abbildung im Text.

(Aus der medizinischen Klinik zu Leipzig. Direktor: Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. Curschmann.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. August 1908.)

Zum Nachweis der Reduktionswirkung von Mikroorganismen ist eine größere Anzahl von Methoden bekannt. So hat Maassen⁽⁴⁾ die Überführung von Nitraten in Nitrite und die weitere Reduktion dieser zu Ammoniak durch Bakterien eingehend studiert; selenig- und tellurigsaurer Natrium werden, wie Klett⁽²⁾ gezeigt hat, durch viele Mikroorganismen zu rotem Selen oder schwarzem Tellur umgewandelt, und dadurch wird diese chemische Einwirkung zugleich sichtbar gemacht. Gerade diesen Vorteil haben auch alle schon früher beschriebenen Versuche, durch farbstoffhaltige Nährböden die reduzierenden Eigenschaften der Bakterien nachzuweisen. Von den zahlreichen, zu diesem Zwecke durchgeprüften Farbstoffen (vgl. u. a. Rothberger⁽⁸⁾) haben sich offenbar Lackmus und Methylenblau am besten bewährt.

Das Endziel fast aller Arbeiten, die sich mit dem Nachweis der Reduktion durch Bakterien beschäftigten, war die Auffindung von Unterscheidungsmerkmalen zwischen den einzelnen Bakterienarten und -gruppen; besonders spielte die praktisch so wichtige Differentialdiagnose des *Bact. typhi* und *coli* eine große Rolle. Da es nun nach den Untersuchungen Fr. Müllers⁽⁵⁾ und anderer kaum Mikroorganismen gibt, die überhaupt kein Reduktionsvermögen haben, so beruht hierbei der Unterschied der einzelnen Arten wohl vorwiegend auf quantitativen Verhältnissen; allerdings werden einige Farb-

stoffe, die durch gewisse Bakterien ziemlich leicht reduziert werden, von anderen nicht nachweislich verändert.

Eine quantitative Messung der reduzierenden Kraft der Bakterien war bisher nicht möglich; man konnte höchstens durch Vergleich der Zeiten, innerhalb welcher in den Kulturen eine vollständige Entfärbung des reduzierbaren Farbstoffs — wenn diese überhaupt eintrat — hervorgerufen wurde, einen gewissen Anhaltspunkt nach dieser Richtung hin gewinnen. In welchem Maße aber der Reduktionsvorgang während des Wachstums der Bakterien fortschritt, ließ sich bisher nicht genau verfolgen. A. Wolff⁽¹⁰⁾ berichtet nur über einen mißlungenen Versuch der quantitativen Bestimmung des reduzierten Farbstoffes durch Titrieren mit Kaliumpermanganat, Wasserstoff-superoxyd und chlorsaurem Kali. Die Schwierigkeit solcher Messungen liegt eben darin, daß teils die zur quantitativen Bestimmung notwendige Trennung des reduzierbaren Stoffes oder seines Reduktionsproduktes von den Kulturen, teils eine einfache quantitative Analyse dieser Körper überhaupt nicht möglich ist.

Gerade diese letztere Schwierigkeit traf bisher vor allem auf die hierbei ja am meisten in Betracht kommenden Farbstoffe zu. Um so wichtiger erscheint daher eine vor wenigen Jahren veröffentlichte Arbeit von Edm. Knecht⁽³⁾ und Eva Hibbert, die eine maßanalytische Bestimmung mehrerer Farbstoffe mit Leukoverbindungen unter Anwendung des jetzt im Handel erhältlichen Titantrichlorids ermöglicht. Nach ihren Angaben werden die stark angesäuerten Lösungen solcher Farbstoffe, wie Methylenblau, Malachitgrün, Krystallviolett, Rhodamin B, Eosin A usw. — meist unter Kochen — mit Titantrichloridlösung bei Sauerstoffabschluß versetzt, bis völlige Entfärbung eingetreten ist. Stellt man vorher die Titrierlösung mit Eisenoxydlösung ein, so läßt sich mit recht großer Genauigkeit die Menge des titrierten Farbstoffes berechnen.

Es lag natürlich nahe, diese Methode nachzuprüfen und sie für die Messung der Reduktionswirkung von Bakterien verwertbar zu machen. Der Zweck dieser Arbeit soll es daher sein, ein solches Verfahren zu schildern und, da eine ausführ-

liche Veröffentlichung der damit gewonnenen Ergebnisse erst später erfolgen soll, das Beispiel eines solchen Versuches anzuführen.

Von den Farbstoffen, deren quantitative Bestimmung von Knecht und Hibbert ausgeführt worden ist, scheiden für unsern Zweck sofort mehrere aus, die nach früheren Untersuchungen für die Beobachtung der Reduktionswirkung von Bakterien infolge entwicklungshemmender Eigenschaften usw. ungeeignet sind. Meine Untersuchungen haben sich daher auch zunächst auf das für viele Bakterien fast unschädliche Methylenblau beschränkt.

Ein großer Nachteil des von Knecht und Hibbert angegebenen Verfahrens ist es zweifellos, daß die Titration des Methylenblaus, wie der meisten anderen Farbstoffe, in Siedehitze geschehen muß. Es gelang mir nun nach mehreren Versuchen, auch in der Kälte die Titration des Methylenblaus auszuführen, wenn ich statt des von jenen beiden Autoren vorgeschriebenen Zusatzes von Seignettesalzlösung einige Kubikzentimeter einer 10—20 %igen Schwefelsäure zu der Farblösung hinzugab. Zur Einstellung der Titantrichloridlösung benutzte ich eine nach den Angaben Treadwells⁽⁹⁾ hergestellte Ferrichloridlösung, die in 10 ccm genau 0,1 g reines Eisen enthielt. Die Ergebnisse der Titration waren z. B. folgende:

1. Auf 10 ccm Ferrichloridlösung (= 0,1 g Fe) wurden verbraucht 54,5 ccm Titantrichloridlösung; die Titration von 20 ccm einer alkoholischen Methylenblaulösung (4 : 1000) ergab 13,6 ccm Titantrichloridlösung (berechnet 13,70 ccm).

2. Auf 10 ccm Ferrichloridlösung (= 0,1 g Fe) wurden verbraucht 60,95 ccm Titantrichloridlösung; die Titration von 50 ccm wässriger Methylenblaulösung (1 : 1000) ergab 9,50 ccm Titantrichloridlösung (berechnet 9,57 ccm).

Die hierbei benutzten Titanlösungen entsprachen in ihrer Konzentration den von Knecht und Hibbert gemachten Angaben. Für den Nachweis der Reduktionskraft von Bakterien kommen aber nur so geringe Farbstoffmengen in Betracht, daß zur Titration viel verdünntere Titanlösungen verwendet werden müssen. Es entsteht daher die Frage, welchen Einfluß eine stärkere Verdünnung der Titrierflüssigkeit auf die Reaktion ausübt

und wie weit sie überhaupt zulässig ist. Zahlreiche Versuche ergaben nun, daß anscheinend noch mit sehr dünnen Lösungen richtige Resultate erzielt werden können, die vollständige Entfärbung der zu titrierenden Lösung dann aber nur außerordentlich langsam eintritt, was für ausgedehntere Untersuchungen natürlich sehr hinderlich sein würde. Es erscheint daher ratsam, im allgemeinen nicht unter eine Verdünnung von 0,4—0,3 : 1000,0 herabzugehen; bei dieser Konzentration läßt sich die Lösung nach einiger Übung noch ziemlich sicher mit der Ferrichloridlösung einstellen, was mir zum Nachweis der Richtigkeit meiner Titrationswerte von besonderem Werte war. Folgende Beispiele mögen hier angeführt sein:

1. Auf 1 ccm Ferrichloridlösung (= 0,01 g Fe) wurden verbraucht 90,5 ccm Titantrichloridlösung; die Titration von 10 ccm einer wässerigen Methylenblaulösung (1 : 1000) ergab 28,5 ccm Titantrichloridlösung (berechnet 28,44 ccm).

2. 1 ccm Ferrichloridlösung (= 0,01 g Fe) verbrauchten 94,3 ccm Titantrichloridlösung; die Titration von 10 ccm derselben Methylenblaulösung ergab 29,8 ccm Titantrichloridlösung (berechnet 29,64 ccm).

Wenn also diese Beispiele zeigen, daß die Titration der Methylenblaulösungen auch mit recht verdünnten Titanlösungen noch eine ausreichende Genauigkeit ergibt, so soll doch betont werden, daß dazu eine gewisse Übung erforderlich ist. Mit Sicherheit läßt sich der Umschlag am Ende der Titration sowohl bei der Eisen- wie bei der Farbstofflösung auch nur am Tageslicht erkennen. Bei der Methylenblaulösung besteht im allgemeinen die Gefahr des Übertitrierens, weil die Entfärbung erst allmählich auftritt; sie kann durch Erwärmen der Lösung (Einstellen in heißes Wasser) oder, wenn das angängig ist, durch unmittelbar vor der Titration erfolgtes Aufkochen beschleunigt werden. Letzteres ist daher in allen Fällen, wo es sich lediglich um Kontrollierung des Titers oder ähnliches handelt, zu empfehlen. In den erwähnten Beispielen fand keine Erwärmung statt.

Bei der Titration der farbstoffhaltigen Bakterienkulturen wird man gewöhnlich auch nicht erwärmte Lösungen titrieren. Um hierbei die Gefahr des Übertitrierens möglichst zu vermeiden, ist es vorteilhaft, stets eine größere Zahl gleichartiger

Kulturröhrchen vorrätig zu halten; man kann dann durch eine schnell ausgeführte Titration eines überzähligen Röhrchens eine ungefähre Schätzung der für die anderen Röhrchen zu verbrauchenden Menge gewinnen. Dadurch wird auch die zur Titration dieser letzteren Röhrchen erforderliche Zeit abgekürzt, was schon aus einem anderen Grunde wünschenswert erscheint. Bei den zum dauernden Sauerstoffabschluß mit Paraffin. liquid. (vgl. u.) überschichteten, mit Methylenblau gefärbten Kulturen beobachtet man nämlich nach Eintritt der durch Titantrichlorid bewirkten völligen Entfärbung ein (durch den absorbierten Sauerstoff bedingtes?) allmähliches Wiederauftreten der Farbe, selbst wenn man im Kohlensäurestrom titriert. Ist die zur Titration erforderliche Zeit (3—5 Min.) nicht zu lang, so kommt der dadurch hervorgerufene Fehler nicht in Betracht. Zu beachten ist ferner noch, daß, wie besonders Fr. Müller⁽⁶⁾ gezeigt hat, beim Sterilisieren der Nährböden schon eine Reduktion von Farbstoff auftritt. Unmittelbar nach Beendigung der Sterilisation können die vorher tiefblauen Röhrchen fast völlig entfärbt sein, und erst beim Stehen und Abkühlen tritt die stärkere Färbung wieder auf. Eine gewisse Menge des Farbstoffs reoxydiert sich allerdings nicht mehr, sodaß nach dem Sterilisieren die Titration der Farblösung stets etwas niedrigere Werte ergibt, als vorher und als wie der Berechnung der angewendeten Menge des Farbstoffs entspricht. Durch mehrere Versuche konnte ich feststellen, daß etwa $\frac{3}{4}$ —1 Stunde nach Herausnahme der Bouillonröhrchen aus dem Dampfsterilisator die Reoxydation des Methylenblaus beendet war, die Einimpfung der Bakterien dann also vorgenommen werden konnte. Bei Abänderung der Versuchsanordnung wird in jedem Falle auf diese Erscheinung Rücksicht zu nehmen sein.

Nach Erörterung dieser hauptsächlich in Betracht kommenden Fehlerquellen soll nunmehr die gesamte Methodik der Versuche zusammenhängend geschildert werden:

Zur Herstellung der Titanlösung bedient man sich am besten einer 15%igen Titantrichloridlösung, wie sie Merck-Darmstadt liefert. 9 ccm dieser Lösung werden mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure auf freier Flamme kurze Zeit

gekocht, um Spuren von Schwefelwasserstoff, die meist vorhanden zu sein scheinen, zu entfernen (vgl. Knecht und Hibbert). Das Volumen dieser Flüssigkeit wird durch Zusatz möglichst sauerstofffreien Wassers und eines Überschusses von konzentrierter Salzsäure auf 3 l aufgefüllt. Die zur Aufnahme dieser Lösung bestimmte Flasche muß durch einen dreifach durchbohrten Gummipfropfen fest verschlossen werden. Ein durch eines der Bohrlöcher in den oberen Teil der Flasche hineinragendes Glasrohr stellt die Verbindung mit einem Kippschen Kohlensäure- oder Wasserstoffapparat her. Ein zweites, ebenfalls dicht unterhalb des Gummistopfens endendes Glasrohr ragt mit seinem anderen Ende in den auch durch einen Gummipfropfen verschlossenen oberen Teil der Bürette. Durch das dritte Bohrloch endlich wird ein Glasrohr bis auf den Boden der Vorratsflasche geführt und mit dem anderen Ende durch ein schräg nach abwärts laufendes Rohr in Verbindung mit dem unteren Zuflußhahn der Bürette gebracht. Das ganze System steht also dauernd unter einer sauerstofffreien Atmosphäre, die zur Erhaltung des Titors der Titanlösung notwendig ist. (Vgl. dazu Treadwell⁽⁹⁾).

Die Bürette muß mit einer ziemlich feinen Graduierung versehen sein; ich verwendete eine Bürette, die in ihrem schmalen, oberen Teile zwanzigstel Kubikzentimeter abzulesen und noch geringere Werte bequem abzuschätzen gestattete, in dem weiteren, unteren Teile dagegen nur in zehntel Kubikzentimeter geteilt und im ganzen bis zu 54 cm geeicht war. Der Ausflußhahn der Bürette muß ein längeres (10 cm), fein ausgezogenes Ausflußrohr tragen, damit die Spitze durch die Paraffinschichten bis in die farbstoffhaltige Bakterienkultur eingeführt werden kann.

Da man wohl meist bei der Bereitung und Aufstellung der Titanlösung nicht ganz unter Sauerstoffabschluß arbeiten wird, so muß die Lösung erst mehrere Stunden stehen, bis der Titer konstant wird. Sorgt man dauernd für völlig dichte Verschlüsse — was aber ziemlich schwierig ist —, so ändert sich der Titer kaum; doch muß er vor jedem Versuch kontrolliert werden.

Zu seiner Feststellung dient, wie oben schon erwähnt

wurde, eine nach Treadwells Angabe bereitete Ferrichloridlösung: «10,03 g blank geriebener Blumendraht wird in einem langhalsigen, schrägliegenden Kolben in konzentrierter Salzsäure gelöst, mit Kaliumchlorat oxydiert und der Chlorüberschuß durch längeres Kochen völlig vertrieben. Das so erhaltene Ferrichlorid spült man in einem Literkolben und füllt genau bis zur Marke mit Wasser auf». 10 ccm dieser Lösung enthalten 0,1 g reines Eisen; zur Einstellung der verdünnten Titanlösung benutzte ich meist nur 1 oder 2 ccm der Eisenlösung. Als Indikator dient eine Rhodankalilösung (1 : 1), indem man nach jedesmaligem neuen Zusatz von Titantrichlorid nach Art der Tüpfelprobe je einen Tropfen dieser und der zu titrierenden Eisenlösung auf einer weißen Porzellanschale mischt, bis keine Rotfärbung mehr auftritt. Um den Titer ganz genau festzustellen, werden 2 oder 3 solcher Titrationsen erforderlich sein. Während der Titration muß ein kräftiger CO_2 - oder H-Strom aus einem zweiten Kippschen Apparate in das gegen Luftzutritt gut geschützte Gefäß geleitet werden. Bequemer ist es für manche Zwecke, nachdem nunmehr der Nachweis gebracht ist, daß sich auch Methylenblaulösungen mit so verdünnten Titanlösungen titrieren lassen, zur Feststellung des Titers eine bekannte Methylenblaulösung in der schon angegebenen Weise — natürlich ebenfalls unter Überschichtung mit einem CO_2 -Strom — zu benutzen. Es empfiehlt sich für diese, hohe und schmale Gläser zu verwenden, weil der letzte Rest von blauer Farbe natürlich in hoher Schicht besser erkennbar ist, als in flacher.

Auch zur Aufnahme der Bakterienkulturen verwendet man am besten hohe Präparatengläser mit nicht zu großem Durchmesser oder weite Reagenzröhrchen. Diese werden mit Wattepfropfen verschlossen und trocken sterilisiert. Dann füllt man in jedes Glas genau 10 ccm Nährbouillon und dazu je 1 ccm einer Lösung von 1 g Methylenblau in 1000 Teilen 0,85 %iger Kochsalzlösung. Ich verwendete ausschließlich Methylenblau medicinale Höchst, das ich von der Firma Dr. G. Grübler-Leipzig bezogen hatte. Dieses Methylenblau ist Tetramethylthioninchlorhydrat und seine Formel lautet:

unterschieden; dennoch ist der Verlauf der Reduktion, namentlich ihr plötzliches Einsetzen nach 6 Stunden und ihr rasches Fortschreiten, in dem obigen Versuche deutlich erkennbar und läßt sich gut, wie die beigegebene Kurve (S. 374) zeigt, graphisch darstellen, so daß beispielsweise ein Vergleich mit der Wachstumskurve möglich wäre. Sichere Schlüsse würden natürlich erst aus einer größeren Reihe gleichartiger Versuche, mit denen ich noch beschäftigt bin, gezogen werden können.

Versuch mit *Bacterium coli*

(nach Abimpfung von einer 13stündigen Bouillonkultur).

Titer der Titanlösung für 0,01 Fe = 66,2 ccm.

Zeit der Titration nach Beginn des Versuches	Zahl der zur Titration verbrauchten Kubikzentimeter der TiCl_3 -Lösung (3 Parallelproben).		
Kontrollröhrchen am Beginn des Versuches	1,95	2,0	2,0
Nach 2 Stunden	2,0	1,975	2,0
» 4 »	2,0	1,95	1,975
» 5 »	2,05	1,95	1,95
» 6 »	1,675	1,675	1,75
» 7 »	0,975	1,20	1,205
» 8 »	0,25	0,20	0,275
» 9 »	0,0	0,0	0,02
Kontrollröhrchen am Ende des Versuches .	2,05	1,975	—

Der Titer der Titanlösung blieb unverändert.

Die bisher vorgeschlagene Versuchstechnik kann in verschiedener Weise abgeändert werden. Vielleicht wird sich z. B. in manchen Fällen die Verwendung größerer Mengen von Nährboden und Farbstoff für die einzelnen Kulturen empfehlen. Anstatt der Überschichtung mit Paraffin kann man die Kulturen in einer Wasserstoffatmosphäre wachsen lassen, muß dann aber bei der Herausnahme darauf Rücksicht nehmen, daß das Leukomethylenblau durch den Luftsauerstoff sehr schnell wieder oxydiert wird. Man wird den Reduktionsvorgang auch bei ver-

schiedenen Temperaturen (Zimmer- und Brutofenwärme), unter dem Einfluß von Lichtstrahlen oder bei Gegenwart verschiedener Salze usw. verfolgen können, worüber in einer späteren Arbeit

zu berichten sein wird.

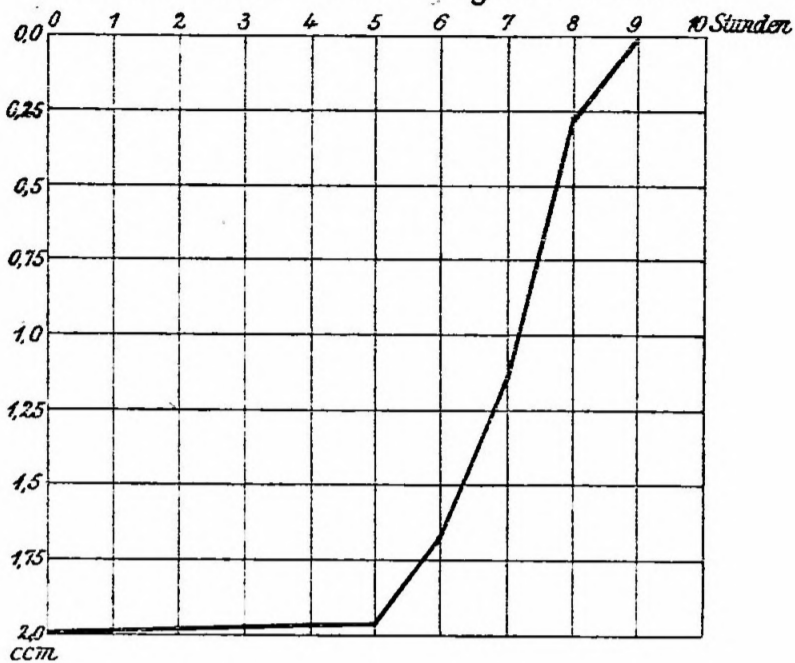
Im allgemeinen eignen sich zu solchen Versuchen flüssige Nährböden wohl am besten; doch erscheint für diese Zwecke die Anlegung von Schüttelkulturen auf festen Nährböden, besonders auf Gelatine nicht ausgeschlossen. Der Titration hätte dann eine Verflüssigung durch Erwärmen voranzugehen.

In jedem Falle kann zugleich die Reduktionskraft des Nährbodens selbst, die nach Fr. Müllers Untersuchungen recht verschieden sein kann, genau bestimmt werden; bei dem als Beispiel gegebenen Versuche war sie, wie schon die Berechnung aus dem Titer der Titanlösung ergibt und Kontrollversuche mit der gleichen Farbstoffmenge ohne Bouillonzusatz bestätigten, ziemlich gering.

Da Knecht und Hibbert den Nachweis erbracht haben, daß es gelingt, eine größere, vielleicht noch zu vermehrende Zahl von Farbstoffen ebenfalls mit Titantrichlorid zu titrieren, so lassen sich die Versuche voraussichtlich unter Benutzung anderer Farblösungen (z. B. Malachitgrün) auch auf Bakterien ausdehnen, deren Wachstum durch die Gegenwart von Methylblau stark gehemmt wird. Auch erscheint die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, die von einigen Mikroorganismen gebildeten Farbstoffe einer Titration mit Titantrichlorid zugänglich zu machen, da diese offenbar zum Teil Oxydationsstufen von Leukoprodukten sind. Darüber haben meine bisherigen Untersuchungen noch kein sicheres Resultat ergeben.

In ähnlicher Weise, wie zum Studium des Reduktionsvermögens der Bakterien, läßt sich auch das oben beschriebene Verfahren zur Bestimmung der reduzierenden Wirkung tierischer Organe anwenden. Johannsen⁽¹⁾ hat diese dadurch

Kurve der Reduktionswirkung des Bakt. coli.



quantitativ festzustellen versucht, daß er möglichst gleich große Stücke aseptisch entnommener Organe in mit Methylenblaulösung gefüllte Reagenzgläser warf und die Höhe der entfärbten (reduzierten) Schicht im Verhältnis zur gesamten Höhe der Flüssigkeit angab. Ich stellte unter fast genauer Befolgung der von ihm beschriebenen Methodik einen ähnlichen Versuch an, bei dem die nicht reduzierten Farbstoffmengen titriert wurden: Ein Kaninchen wurde durch Nackenschlag getötet, das Fell vorsichtig abgezogen und unter strengster Asepsis die Leber, Nieren und das Herz herausgenommen. Nach Abspülen mit steriler Kochsalzlösung wurden aus den Organen in sterilen Schalen möglichst gleich große Würfel geschnitten und diese in je ein Präparatenglas mit 10 ccm steriler 0,05%iger Methylenblaulösung mit 0,85% Kochsalzgehalt gelegt. Eine 5 cm hohe, sterile Paraffinschicht bildete wieder den Luftabschluß; dann wurden die mit Wattepfropfen versehenen Gläser in den Brutschrank gestellt. Vor dem Titrieren wurde jedesmal eine sterile Pipette, die oben durch eine mit den Fingern etwas zusammengedrückte Gummikappe verschlossen war, in die Farbstoffschicht eingeführt, ein kleines Tröpfchen entnommen und sofort in Bouillon verimpft. In sämtlichen Bouillonröhrchen zeigte sich innerhalb 48 Stunden bei 37° kein Wachstum von Bakterien, deren Mitwirkung bei der Reduktion somit als ausgeschlossen anzusehen ist. Da sich während des Versuches der Titer der Titanlösung, der mit einer Methylenblaulösung von bekanntem Gehalt kontrolliert wurde, etwas änderte, wurden die in der nachstehenden Tabelle (S. 376) aufgeführten Zahlen der verbrauchten Kubikzentimeter Titanlösung auf den Anfangstiter berechnet. Die Resultate von je 2 Parallelreihen waren folgende (S. 376).

Das Ergebnis dieser vorläufigen Versuche stimmt mit Ausnahme kleiner Abweichungen, auf die hier nicht eingegangen werden soll, mit den Angaben Johannsens überein. Da es natürlich nicht möglich ist, die Organstücke genau gleich groß herzustellen, werden die Parallelreihen niemals eine sehr gute Übereinstimmung zeigen, und man wird hier um so mehr nur auf Grund vieler Versuche zu bestimmten Schlüssen berechtigt

sein. Es sei noch darauf hingewiesen, daß sich die Organstücke mit etwas Farbstoff imbibieren und ihn beim Titrieren allmählich wieder abgeben, was die Bestimmung des Endpunktes der Reaktion erschweren kann. Vermutlich lassen sich mit sterilem Organbrei oder -preßsaft besser übereinstimmende Ergebnisse erzielen.

Versuch mit aseptisch entnommenen Organstücken.

Zeit nach Beginn des Versuches	Leber		Niere		Herz	
Nach 8 Stunden .	11,7	11,75	9,8	9,9	11,1	9,9
» 1 Tage . . .	6,725	8,89	9,9	10,62	11,59	11,2
» 2 Tagen . .	5,085	8,345	6,43	6,92	10,65	8,63
» 4 » . .	5,85	—	6,56	8,65	11,88	11,2
Kontrollröhrchen vor dem Versuch:			13,6	13,5		
» nach » »			13,6	13,6		

Zum Schluß sei erwähnt, daß die neue Methode wohl auch zur genaueren Bestimmung der Reduktionskraft der Leucocyten, die Neisser⁽⁷⁾ und Wechsberg zum Studium des Leukocidins benutzten, in Betracht kommt. Ebenso kann die Titration mit Titantrichlorid vermutlich für die quantitative Messung von Oxydasewirkungen bei Verwendung eines geeigneten Leukofarbstoffs nutzbar gemacht werden. Auch darüber sind Untersuchungen im Gange.

Literatur.

1. Th. Johannsen, Über die Reduktionskraft aseptisch entnommener Organe. Baumgarten, Arb. a. d. path. Inst. Tübingen, V, 1906, S. 326.
2. Ad. Klett, Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXXIII, S. 137.
3. Edm. Knecht und Eva Hibbert, Das Titantrichlorid in der volumetr. Analyse (II). Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVIII, 1905, S. 3318.
4. A. Maassen, Über das Reduktionsvermögen der Bakterien und über reduzierende Stoffe in pflanzlichen und tierischen Zellen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, XVIII, S. 21.
5. Friedr. Müller, Über reduzierende Eigenschaften von Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXVI, S. 51, 1899.

6. Friedr. Müller, Über das Reduktionsvermögen der Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXVI, S. 801, 1899.

7. M. Neisser und Fr. Wechsberg, Über eine neue einfache Methode zur Beobachtung von Schädigungen lebender Zellen und Organismen. Münch. Med. Wochenschr., 1900, S. 1261.

8. Rothberger, Differential-diagnost. Untersuchungen mit gefärbten Nährböden. Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXIV und XXV.

9. Treadwell, Analyt. Chemie, II, IV. Aufl., 1907, S. 529.

10. Alfr. Wolff, Über die Reduktionsfähigkeit der Bakterien, einschließlich der Anaërobien. Baumgarten, Arb. a. d. path. Institut Tübingen, 1902, Bd. III, S. 294.

