

UC-NRLF



LB 780 670



THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. 54. Band.

Originale.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Breslau

und

Geh. Reg.-Rat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. 54. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 12 Tafeln und 48 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1910.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 54. Heft 1.

Nachdruck verboten.

On the occurrence of a form of fowl-septicaemia in Calcutta.

By **G. C. Chatterjee**, Assistant Bacteriologist Medical College, Calcutta.

With one figure.

In Europe this disease is a well known one and occurrences of fatal Septicaemia among fowls have been noticed from ancient times. There are two types of the disease occurring in these animals one being designated as fowl septicaemia and the other as fowl cholera. Of the large group of microorganisms which are designated as *Pasteurella* by the French School of Bacteriologists and *Bacillus avisepcticus* by the German observers, the microorganism of fowl septicaemia have the honor to be the first to be discovered. To this group belong the organisms of swine septicaemia and the bacillus of haemorrhagic septicaemia occurring in horses, sheep, elephants and other higher animals. This group of bacilli is clearly distinguished from the *Salmonella* group of bacilli (the Hogcholera bacillus, swine fever bacillus and bacillus paratyphoid) and also from the mouse-septicaemia group of bacilli.

There are recorded occurrences in India of several epidemics of Pasteurellosis of the haemorrhagic septicaemia type occurring in horses, elephants and sheep. Most of these reports being included in the Departmental reports of the Veterinary Department and not published are not available for purpose of reference. Of the published works, one is by **Evans** who describes the occurrence of the disease in an elephant in the *Journal of Tropical Science*. **Baldrey** describes in the same *Journal* the disease in cattle which produces a chronic affection with swelling of the throat from which originates the name of the disease "Ghotga".

I learnt that haemorrhagic septicaemia is common enough in horses in Calcutta, one belonging to me having died of it.

No reference can however be found to any report regarding the occurrence of fowl septicaemia or fowl cholera in the *Veterinary Journals of India*.

About two months ago, a fairly wide spread and fatal epizootic occurred among the fowls bought in the Calcutta market and kept in the Medical College Laboratory for the purpose of the Serological experiments made by Major **W. D. Sutherland I.M.S.**, who kindly placed at my disposal many dead and obviously dying animals for examination as to the cause of the epizootic. On microscopic examination of the blood from the heart of the animals as well as by cultural examination, a small cocco-bacillus was found in most of the animals examined, answering to the description of *Pasteurella*. As it was subsequently found that the organism isolated, differs in certain characters from the *Pasteurella* of Europe and as it was found that this disease has not been noticed by observers in India, it was considered to be worth while to describe the course of the disease as it was observed in the laboratory and the character of the microorganisms.

Symptoms of the disease:

As a rule all the fowls showed in the beginning some inflammation of the conjunctiva of the eye with purulent discharge and oedema of the

tissues round the eye. In some cases a scab covering an ulcer was found near the outer canthus. The fowl was disinclined to move about and off its feed. Death generally followed within 5 or 6 days of the appearance of the first signs of the disease.

Examination of the discharge from the eye and smear-preparations from the ulcer beneath the scab revealed the presence of numerous small micrococci. On staining with Gram's stain numerous very small non-gram staining cocci-like organisms mixed with a few fairly large gram-positive cocci are found. Autopsy of animals dying of the disease. No marked change in any of the organs could be detected, except a slight reddening of the peritoneal coats of the intestine. Examination of smear preparation from heart blood showed scattered gram-negative cocci, which do not show any tendency to take a bipolar stain. Cultures made from the heart blood show a pure culture of a small coccus-like organism which does not Gram's stain. No particular odour was given off by the cultures.

Besides the fowls, two rabbits died of the disease — post mortem examination of one of these showed a pneumonic condition of one lung with suppurative foci. Under the microscope a long streptothrix-like branching organism, was seen; but in the cultures from the heart blood a microorganism was cultivated which was found to be identical with the microorganism found in the fowls. The other rabbit showed a pure culture of a cocco-bacillus like that found in the fowls.

Character of the microorganism:

The microorganism found in this connection shows a thin shining translucent growth in agar like that of 24 hours' agar culture of typhoid. The water of condensation remains clear. The growth is rather slow, in 48 hours full growth in agar takes place. Smear preparation shows very minute cocci like organisms which under highest magnification (18 eye pieces and 2 mm apochromatic lens) appear to be nearly circular or at best slightly oval, but not marked. A smear preparation of this microorganism mixed with ordinary Staphylococci show that these microorganisms are less than $\frac{1}{4}$ th the size of Staphylococci. The microorganisms are non motile; no flagella could be detected.

Culture in broth:

A bouillon flask inoculated with it and left undisturbed showed marked uniform cloudiness of the medium, and a thin skin on the surface, which spreads to the sides of the flask.

In bouillon tube, growth takes place very rapidly, marked cloudiness shows within 18 hours, and the skin formation within 48 hours.

Gelatine is not liquified — a thin growth takes place along the needle track.

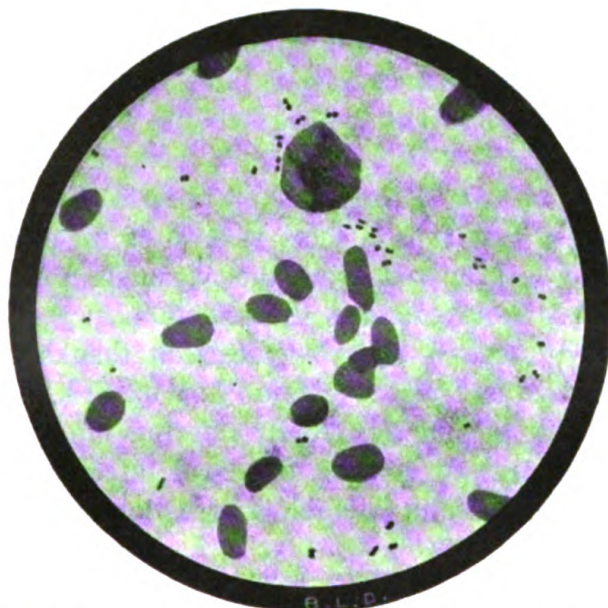
In litmus milk — no change is produced, though a slight growth can be detected — no change is produced in the several sugar solutions which are tried (Glucose, Saccharose, Manite, Raffinose and Lactose).

No growth in potato.

Pathogenesis. — A loopful from an agar culture inoculated into an adult guinea pig killed it in 24 hours — the autopsy showing purulent peritonitis, marked reddening of the peritoneal coats of the intestine, purulent pericarditis and purulent pleurisy — all the exudations and the heart's blood showing numerous microorganisms which on further cultivation showed a pure culture of the above described organism. On

inoculating another guinea pig, from this culture, the animal died within 12 hours, there was a slight exudation in the peritoneum and pericardium in which the microorganisms could be found but not so many in number as in the first case. A third animal inoculated from a culture from the heart's blood of the second animal was killed within 10 hours — no marked change was found on autopsy in the peritoneum or pericardium a few scattered organisms being found in the heart's blood. The marked virulent pathogenic property of this micro-organism is evidenced by the following experiment. A loopful from an agar culture made after the 3rd passage in guinea pig was put into a test tube containing 20 c. c. of water, of this $\frac{1}{2}$ c. c. was injected into a guinea pig. It died within 8 hours.

Toxin separated from 48 hours broth culture by passing through Berkefeld filter produced no marked pathogenic symptoms in a guinea pig.



Smear from blood from heart of a fowl dying of Pasteurellosis.
Oil immersion 2 mm. Ocular 3.

Resistance to heat:

The organisms are killed at 60° C after $\frac{1}{2}$ hour.

A vaccine was prepared from a highly virulent 24 hours broth culture of the organism by heating it to 50° C for $\frac{1}{2}$ hour.

It was found to protect a guinea pig weighing, 250 grams by inoculating 1 c. c. of the vaccine against 1 c. c. of salt solution containing 1 loopful of the organism from an agar culture salt solution; but higher doses killed it.

1 c. c. of the vaccine was inoculated in each of the fowls which are used for making precipitine serum and was found to protect them. Before the vaccination was used, the animals were found to die, as a rule, of the disease after the third inoculation of the blood serum.

It is evident from the above that the micro-organisms though not showing the bipolar-staining-oval-bacilli like character, still in all other characters (growth in culture media, marked pathogenic property etc.),

resembles a *Pasteurella* but as the disease produced by the organism in fowl is peculiar on account of the eye symptoms, is probably a new variety of *Pasteurella*.

Way of infection:

As has been found in case of fowl septicaemia in Europe, it probably spreads through the digestive canal. The dejecta containing these organism being excreted with the dejecta, gets into the food and drinking water and produces infection in animals drinking the water.

Experiments on this line and as well as trial of pathogenism in other animals could not be tried here on account of danger of the infection spreading to other laboratory animals, there being limited the space in the laboratory.

Resumé.

1) The microorganism which was separated from fowls dying of an epizootic diseases occurring among the animals in the Medical College Laboratory, is found to have characters like that found in fowl septicaemia observed in Europe and belongs to the *Pasteurella* group of microorganisms.

2) It differs from the *Bacillus ovisepticus* in certain minor points which suggest that it is a local variety of the organism.

3) A vaccine was prepared from the organism which was found to protect healthy fowls from catching the infection.

In conclusion I beg to offer my heartfelt thanks to Major W. D. Sutherland, I.M.S. and also to Major L. Rogers, I.M.S. in charge of the laboratory for the former kindly offering me an opportunity for finding out the organism by placing the dead infected fowls at my disposal and for kind advice and valuable suggestions in course of the experiments.

References.

- Baldrey, Haemorrhagic septicaemia of cattle and its relation to preventive vaccine. (The Journal of Tropical Veterinary Science. Vol. 2. p. 287.)
Evans, G. H., Haemorrhagic septicaemia in elephants. (Ibidem. Vol. 1. p. 263.)

Nachdruck verboten.

Ueber ein Vorkommen von Hefe auf schmieriger Wursthaut.

[Aus dem Nahrungsmitteluntersuchungsamte der Landwirtschaftskammer für die Provinz Schleswig-Holstein (Vorstand: Dr. C. Reese).]

Von Dr. Hugo Kühl.

Wenn nicht, oder nur schwach geräucherte Würste längere Zeit lagern, kann man oft ein Schmierigwerden der Darmhaut beobachten, welches durch die Lebenstätigkeit von Mikroorganismen verursacht wird und nicht darauf zurückzuführen ist, daß die Haut von dem Wurstfett durchdrungen wird. Welcher Art diese Mikroorganismen sind, läßt sich meines Erachtens nur von Fall zu Fall feststellen. Nachfolgend möchte ich kurz über Untersuchungen berichten, welche offenbar zeigten, daß auch die fast überall vorhandene Hefe als Erreger der schmierigen Wursthaut auftreten kann. Es war das Vorkommen um so interessanter und beachtenswerter, als Bakterien, welche man doch vermuten sollte, nicht nachgewiesen werden konnten.

Als Untersuchungsmaterial lag schmierige Knackwurst vor, deren Haut so destruiert war, daß sie sich mit einer Pinzette leicht stückweise abziehen ließ. Da ich als wichtigste Zerstörer Bakterien vermutete, denen die ungeräucherte Wursthaut einen natürlichen, guten Boden bot, brachte ich steril ein Stückchen in Nährbouillon und bewahrte diese zur Kultur im Brutschrank bei 30° C auf. Nach einem Tage beobachtete ich, daß die Bouillon stark getrübt war und schwach schäumte. Mit Hilfe einer sterilisierten Platinöse wurde jetzt einmal Nährbouillongelatine, einmal Nährbouillonagar geimpft, dann wurden Platten gegossen. Die Agarplatten beließ ich bei 30° C im Brutschrank, während die Gelatineschalen bei einer Temperatur von 12—15° C aufbewahrt wurden.

Nach 24 Stunden waren die Agarnährböden mit zahlreichen kleinen milchig weißen Kolonien bedeckt, die Gelatineplatten zeigten dagegen in geringerer Menge halbkugelige, lehmfarbige Kolonien, die im Inneren eine dunklere Partie besaßen. Die mikroskopische Untersuchung der Platten ergab, daß die Kolonien der Agar- und Gelatineplatten einheitlich waren. Bakterien wurden nicht gefunden, die beim Durchmustern mehrerer Präparate in das Gesichtsfeld tretenden zarten, schlauchartigen Gebilde wurden anfangs von mir als *Bacillus tumescens* angesprochen. Im näheren biologischen Verfolg ergab sich aber durch das Fehlen der Sporenfortpflanzung, abgesehen von den Größenverhältnissen, daß eine *Oidium*-Art vorlag. Da *Oidium* bei der Käsereife oft eine nicht unwesentliche Rolle spielt, erklärt sich sein Wachstum auf der Wursthaut leicht. Weit bemerkenswerter war mir, daß fast in Reinkultur Hefe gewachsen war. Es waren fast kugelige, seltener etwas längliche einzellige Gebilde, die sporenhaltig waren, aber auch Fortpflanzung durch Sprossung zeigten.

Die Kolonien der Agarplatten benutzte ich als Ausgangsmaterial für meine weiteren Studien, und zwar untersuchte ich zuerst das Wachstum auf verschiedenen Nährböden. Benutzt wurden 1) Nährbouillongelatine, 2) Nährbouillonagar, 3) Milchserumagar, 4) durch Abbrennen mit Spiritus oberflächlich sterilisierte Kartoffeln, 5) in Dampf sterilisierte Kartoffeln, 6) nicht sterilisierte Darmhaut, 7) geräucherte Wursthaut, 8) geräucherte Wurst.

1) Auf Gelatineplatten wuchsen die schon beschriebenen, lehmgrauen im Kern dunkler getönten, halbkugelig erhaben hervortretenden Kolonien.

2) Auf Agarnährböden zeigten sich milchig-weiße, im Durchmesser kleinere halbkugelige, glattrandige Kolonien.

3) Auf Milchserumagar wurde das gleiche Wachstum beobachtet wie auf Nährbouillonagar.

4) Auf oberflächlich sterilisierten rohen Kartoffeln wuchsen die Kolonien nur dürftig, während

5) auf in Dampf sterilisierten Kartoffeln sich schnell ein weißer Belag ausbreitete. Das geringe Wachstum auf der rohen Kartoffel dürfte sich auf einfache Weise erklären. Die Scheiben waren durch das Abbrennen mit Spiritus oberflächlich ausgetrocknet, wogegen durch das Sterilisieren im Dampf die Zellhäute geplatzt, der Inhalt aber zum Teil verkleistert war.

Im weiteren Versuch wurde Wursthaut benutzt, und zwar, um möglichst natürliche Wachstumsbedingungen zu schaffen, nicht sterilisierte. Ungeräucherte frische Wursthaut wurde im ersten Stadium leicht schmierig. Die mikroskopische Untersuchung erwies eine starke Vermehrung der Hefezellen, gleichzeitig wurden auch viele Pilzhypen ohne Fruchträger beobachtet. Im weiteren Verlaufe entwickelte sich ein grauweißer Pilz mit schwarzem Köpfchen, der schon unter der Lupe als *Mucor* kenntlich war. Auf geräucherter, aber nicht weiter sterilisierter Wursthaut bildete die Hefe kleine, weiße, punkartige Kolonien. Ein Schmierigwerden der Haut wurde nicht beobachtet. Auf geräucherten Mettwurstscheiben entstand ein fester, gelbgrauer, körniger und durchaus nicht schmieriger Belag, welcher stark wucherte. Die Konservierung durch Rauch genügte demnach nicht, das kräftige Wachstum zu unterdrücken. Seltsamerweise wurde nicht oft Sprossung beobachtet, am meisten bei auf Milchserumagar gewachsener Hefe.

Zur weiteren biologischen Prüfung setzte ich folgende Versuche an: 1) Von dem Milchserumagar impfte ich ab in sterilisiertes Wasser, verteilte durch vorsichtiges Drehen die Hefezellen und stellte dann mit dem so erhaltenen Impfmateriel Gelatinestichkulturen her. 2) Ferner impfte ich mit sterilisierter Platinöse ab in sterilisierte Magermilch und sterilisierte Honiglösung 1:10.

Die Gelatinestichkultur ergab für die Hefe aërobes, fakultativ anaërobes Wachstum. Die bei 30° C im Brutschrank aufbewahrte Milch gerann nach 2 Tagen. Die mikroskopische Untersuchung des Serum und des Koagulum ergab das Vorhandensein zahlreicher, in Sprossung zum Teil befindlicher Hefezellen. Honiglösung wurde nur sehr schwach vergoren.

Fasse ich das Resultat meiner bisherigen Untersuchungen kurz zusammen, so ergibt sich, daß auf ungeräucherter Wursthaut Hefe wächst, die durch ein charakteristisches, leicht wiederzuerkennendes Wachstum ausgezeichnet ist. An dem Schmierigwerden der ungeräucherten Wursthaut ist sie beteiligt, wenn es auch nicht erwiesen ist, daß sie in vorliegendem Falle die einzige Ursache ist. Das Wachstum der Bakterien wird so stark unterdrückt, daß diese sich selbst auf geeigneten Nährböden nicht entwickeln. Das Gärvermögen der vorliegenden Hefe ist außerordentlich gering.

Nachdruck verboten.

Zur Morphologie der Spirochaeta pallida. Ring- und Sternformen derselben.

Von Professor **I. F. Selenew**, Charkow.

Mit 2 Tafeln.

In meiner ersten Mitteilung über die Spirochäte der Syphilis (Sitzung der Gesellschaft für Dermatologie und Venerologie zu Charkow vom 17. Mai 1905) wurde darauf hingewiesen, daß ich zwei neuen Spirochätenarten begegnet bin, die sich mit Eosin, Genvianviolett und Fuchsin gleichfalls nicht leicht färbten. Die eine Art war wurstförmig, die andere schraubenförmig mit einem zugespitzten und einem etwas verdickten Ende. Ich habe damals, an der typischen Form der Spirochaeta pallida nach Schaudinn festhaltend, diese Gebilde für neue Spirochätenarten gehalten und hinzugefügt, daß in den Säften der syphilitischen Produkte jedenfalls auch andere Spirochätenarten vorkommen, die sich mit den gewöhnlichen Farbstoffen nicht färben. Meiner zweiten Mitteilung über die Spirochaeta pallida habe ich Abbildungen dieser beiden neuen Spirochätenarten beigegeben (Russisches Journ. f. Haut- u. vener. Krankh. 1905. No. 9. Taf. I. Fig. 6 b u. c). Wir sehen hier bei b einen kleinen Ring an der einen Seite der Spirochäte und bei c einige geschlossene Ringe, die untereinander zu einem Gliede vereinigt sind (Wurstform).

Die vor kurzem erschienene interessante Arbeit von Professor Fr. Krzysztalowicz und M. Siedlecki (Etude expérimentale de la syphilis; morphologie de Spirochaeta pallida. Cracovie 1908) über die Morphologie der Spirochaeta pallida veranlaßt mich, auch meine weiteren Untersuchungen mitzuteilen, die im großen und ganzen die von den Autoren beigebrachten Zeichnungen bestätigen, sowie darauf hinzuweisen, daß die von mir zuerst beschriebene ringähnliche Spirochätenform (meine wurstförmige Spirochäte) als morphologische Veränderung der Spirochaeta pallida, nämlich als das ringförmige Stadium derselben, gedeutet werden muß. Desgleichen habe ich als erster das stäbchenförmige Stadium der Spirochaeta pallida beschrieben, welches später von Fouquet, Bertarelli u. a. beobachtet wurde. Auf Grund meiner Beobachtungen muß ich der Ansicht von Krzysztalowicz und Siedlecki beipflichten, nämlich daß die Spirochaeta pallida, je nach den verschiedenen Stadien ihres Lebens und ihres aktiven oder inaktiven Stadiums, ihrer aktiven oder passiven Existenz, von verschiedener Form sein kann. Die von Schaudinn zuerst aufgestellte Charakteristik der Spirochaeta pallida gilt für einen Typus, für ein Stadium derselben, welches man meiner Meinung nach nicht einmal als das häufigste betrachten dürfte, da der Beobachter, wenn es ihm beispielsweise gelingt, einen Zusammenhang des ringförmigen oder sternförmigen Stadiums mit dem schraubenförmigen Stadium der Spirochaeta pallida festzustellen, auch diese beiden ersten Stadien nicht als exklusiv betrachten kann; vielmehr findet er sie in immer größerer und größerer Anzahl im zur Untersuchung gelangenden Präparat. Wie meine Untersuchungen sowohl wie diejenigen der übrigen Autoren (Krzysztalowicz, Siedlecki, Bertarelli, Bosc, Fouquet, Leriaux und Geets u. a.)

jetzt ergeben, unterliegen sämtliche äußeren Eigenschaften der *Spirochaeta pallida* sichtbaren Schwankungen: Die Länge, Dicke, die Form der ganzen Spirochäte, ihre Größe, ihre Quantität, die Dicke und Form der einzelnen Ringelchen. Meine Präparate sind von verschiedenen Patienten gewonnen und abgezeichnet, jedoch hauptsächlich von solchen mit primärer Sklerose, mit primärem indurierten Oedem, von der desquamierenden Oberfläche des Präputiums, woher auch die mit Exemplaren der *Spirochaeta pallida* gefüllten Epithelzellen genommen sind, während auf zwei kleineren Kreisen der Abbildungen Exemplare der *Spirochaeta pallida* dargestellt sind, die im Reizserum eines Patienten mit syphilitischer Reinfektion gefunden worden sind. Die primären Erscheinungen habe ich aus dem Grunde gewählt, weil ich zeigen wollte, daß schon in diesen sämtliche beschriebenen Stadien der *Spirochaeta pallida* vorhanden sind.

Was die allgemeine Form der *Spirochaeta pallida* betrifft, so muß ich vor allem die von mir in meiner zweiten Mitteilung über *Spirochaeta pallida* beschriebenen Formen erwähnen, in welcher Mitteilung ich bereits im Jahre 1905 auf die verschiedenen Formen der *Spirochaeta pallida* mit Nachdruck hingewiesen und folgende Formen angenommen habe: a) die klassische, schraubenförmige von Schaudinn, b) die losgewundene Form der Spirochäte mit kaum wahrnehmbaren Ringelchen, c) die gradlinige, schraubenzieherähnliche Form. Mit anderen Worten: Ich habe auf die gradlinige Stäbchen-Spirochätenform hingewiesen.

Sämtliche Formen der *Spirochaeta pallida*, die ich zuerst angenommen habe, sind bereits von anderen Autoren beschrieben, und man kann sie auch auf den beigefügten Abbildungen sehen. Bei der eingehenden Analyse meiner Abbildungen kann man zahlreiche Abweichungsformen der *Spirochaeta pallida* von dem ursprünglichen Schaudinnschen Typus sehen. Die Länge der Spirochäten kann in weiten Dimensionen schwanken; nach dem Ergebnis meiner Untersuchungen können die Schwankungen zwischen 4 und 21 μ liegen. Außer regelmäßigen, dünnen, sanft steilen Ringelchen kommen unregelmäßige, dicke, steilere und abschüssigere Ringelchen vor: die Länge der Ringelchen schwankte in meinen Untersuchungen von $\frac{1}{2}$ —2 μ . Die Dicke des Körpers der *Spirochaeta pallida* kann, wenn auch selten, $\frac{1}{4}$ μ übersteigen ($\frac{1}{2}$ μ). Die Anzahl der Ringelchen schwankt in weiten Dimensionen, und zwar zwischen 4 und 28. Die stäbchenförmigen Teile der Spirochäte werden in der Mitte (Taf. I, Fig. 1 a) und am Ende der Spirochaete (Taf. I, Fig. 1 b) beobachtet. Wir haben Exemplare, wo die geringelte Hälfte der Spirochäte die stäbchenförmige Hälfte derselben wunderlich umschlingt (Taf. I, Fig. 1 c). Besondere Beachtung verdienen auch die ring-, biskuit- und sternförmigen Arten, da sie, indem sie selbständig, ohne die typische *Spirochaeta pallida*, vorkommen, die Aufmerksamkeit des Beobachters auf sich natürlich nicht zu lenken vermögen.

Ringförmige Form. Die Entstehung dieser Form könnte man am leichtesten durch Torsion der Ringelchen der typischen Spirochäte, wie man dies auf Fig. 1 d (Taf. I) sieht, erklären, wo diese Ringe sich an den Enden oder sonst im Verlauf der Spirale bilden können. Dann können die abgerundeten Ringelchen oder Ringe Ketten bilden (Taf. I, Fig. 1 e, f; Fig. 2 e; Taf. II, Fig. 4 e, f²) und mit der typischen Spirochäte im Zusammenhang bleiben (Taf. I, Fig. 1 f; Fig. 2 e²), oder die ganze

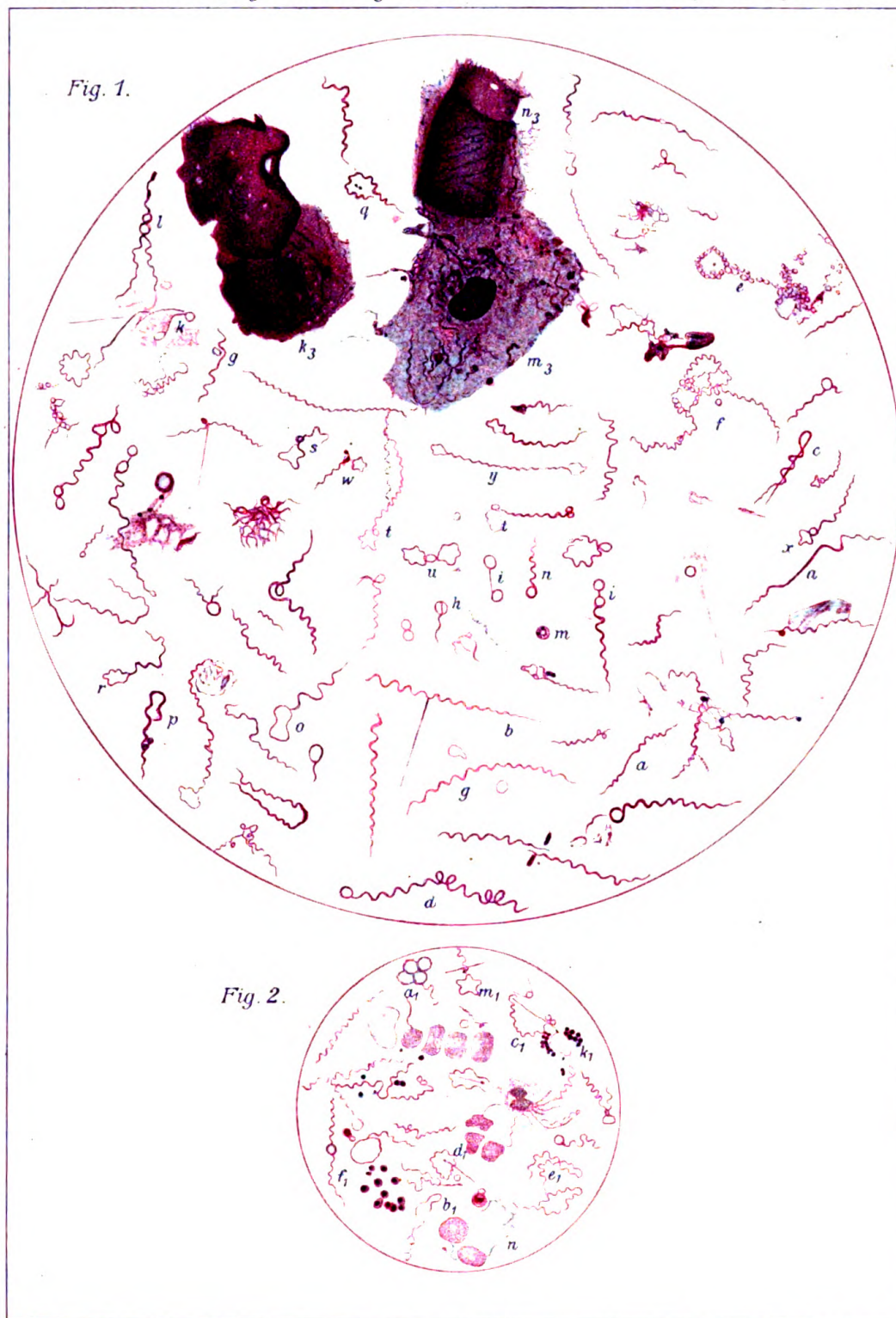
Spirochäte verwandelt sich in eine ringförmige Kette (meine wurstförmige Spirochäte); bisweilen verwandelt sich ein Spirochätenbündel in ein Bündel von ringförmigen Ketten. Als Beweis dafür, daß die von der *Spirochaeta pallida* gebildeten Ringe Schutzzwecken dienen können, kann die Fig. 2 gelten, bei der (c^1) die *Spirochaeta pallida* an ihren Enden Ringe bildet und mit diesen die Bakterie (das lange Stäbchen) gefaßt hat. Natürlich können diese Ringe zerfallen, bezw. sich in Geweben zerstreuen, und so können wir auf dem Präparate vereinzelt Spirochätenringe sehen, die einzeln, bisweilen paarweise liegen. Jedoch scheint mir dieser natürliche Weg der Ringbildung nicht der einzige zu sein. Sehr häufig liegen die Ringe neben der Spirochäte, ohne mit dieser letzteren etwas Gemeinsames zu haben, ohne mit ihr auch nur im geringsten Zusammenhange zu stehen (Taf. I, Fig. 1 g). Dann laufen von einem solchen Ringe nicht selten stäbchenförmige oder spiralförmige kleine Fortsätze aus, die selbst von einem solchen Ringe abzustammen scheinen; bisweilen liegt das eine Ende eines solchen Fortsatzes innerhalb des Ringes, und zwar in der Mitte, wobei er den letzteren in zwei gleiche Teile teilt (Taf. I, Fig. 1 h). Die Ringe können untereinander durch stäbchenförmige Fortsätze (Taf. I, Fig. 1 i) oder durch Fortsätze, die einer Wassertrage ähnlich gekrümmt sind, verbunden sein (Taf. I, Fig. 1 k). Wie in den erwähnten Gruppen der ringförmigen Ketten, so kann man schon in Fig. 1 l (Taf. I) die Bildung von Ringen aus einigen Spirochätenexemplaren, so z. B. in l wenigstens aus zweien, annehmen. Die Größe des Ringes ist gleichfalls verschieden und beträgt $\frac{1}{2}$ — 1μ ; bisweilen kommen Gigantenringe selbst bis zu 2μ im Durchmesser vor (Taf. I, Fig. 2 a). Schließlich konnte ich hinsichtlich der Struktur der Ringe eine Art doppelte Kontur wahrnehmen, wobei der zentrale, rosafarbene Teil miteinander abwechselnde runde, bald farblose, ungefärbte, bald intensiv dunkelrot gefärbte, punktförmige Räume, Chromatinpunkte, enthielt (Taf. I, Fig. 1 m). In Anbetracht des Umstandes, daß man Ringe antrifft, aus denen gleichsam ganze Spirochäten herauswachsen (Taf. I, Fig. 1 l, n; Taf. II, Fig. 3 a), kann man annehmen, daß diese Ringe zwar Involutionsformen der *Spirochaeta pallida* darstellten, sich nichtsdestoweniger zu atypischen und typischen Individuen regenerieren können.

Biskuitartige Formen (Taf. I, Fig. 1 c, p; Fig. 2 b). Dieselben entstehen augenscheinlich aus dem Körper der Spirochäte in derselben Weise wie die ringartigen. Sie kommen seltener als die ringartigen vor und stehen zu der *Spirochaeta pallida* in denselben Beziehungen. Bisweilen kann man an der Peripherie der Spirochäte die Bildung der biskuitartigen, im Zentrum derselben die Bildung der ringartigen Formen beobachten (Taf. I, Fig. 1 p).

Von gleich großem Interesse und von gleicher biologischer Unbestimmtheit sind die sternförmigen Figuren der *Spirochaeta pallida*. Dieselben können aus einer Torsion der ganzen Spirochäte entstehen, so daß beide Enden derselben hermetisch geschlossen sind, wobei selbst der Charakter der Ringelchen fast unverändert bleibt (Taf. I, Fig. 1 f; Fig. 2 d⁶; Taf. II, Fig. 3 g; Fig. 4 c²), oder aus der Torsion eines Teiles der Spirochäte, wobei das eine freie Ende des letzteren mit irgendeinem Ringelchen des Körpers der *Spirochaeta pallida* konfluiert (Taf. I, Fig. 1 q, r; Fig. 2 f); dieser letztere sternförmige Körper bleibt entweder mit dem Körper der *Spirochaeta pallida* verbunden oder bricht von demselben ab und wird frei. Bisweilen verbinden sich

diese Sternformen mit den Ringformen (Taf. I, Fig. 1 s, t, u) und bilden sogar ganze Kolonien (Taf. I, Fig. 1 f); bisweilen sind die einzelnen Ringe gleichsam als Auswüchse an irgendeiner Seite der Sternform des Parasiten festgeklebt (Taf. I, Fig. 1 t), bisweilen findet man sämtliche drei Formen des Parasiten nebeneinander: die Stern-, Ring- und Schraubenzieherform (Fig. 1 t). In bezug auf die Sternformen muß ich gleichfalls bemerken, daß sie in verschiedener äußerer Form — runder und ovaler —, in verschiedener Größe und mit verschiedenen Anzeichen von Ringelchen bis zur vollständigen Bildung einer geraden Linie, d. h. bis zur vollständigen Bildung eines Ringes von bedeutender Größe, beobachtet werden (Taf. I, Fig. 2 k). Ziemlich häufig übersteigt die Anzahl der Ringelchen am Sternchen nicht 3—4—5 (Taf. I, Fig. 1 w, x; Fig. 2 m). Es kommen schwer erklärliche Kombinationen der Formen, wie in u, y, t, w, x etc., vor.

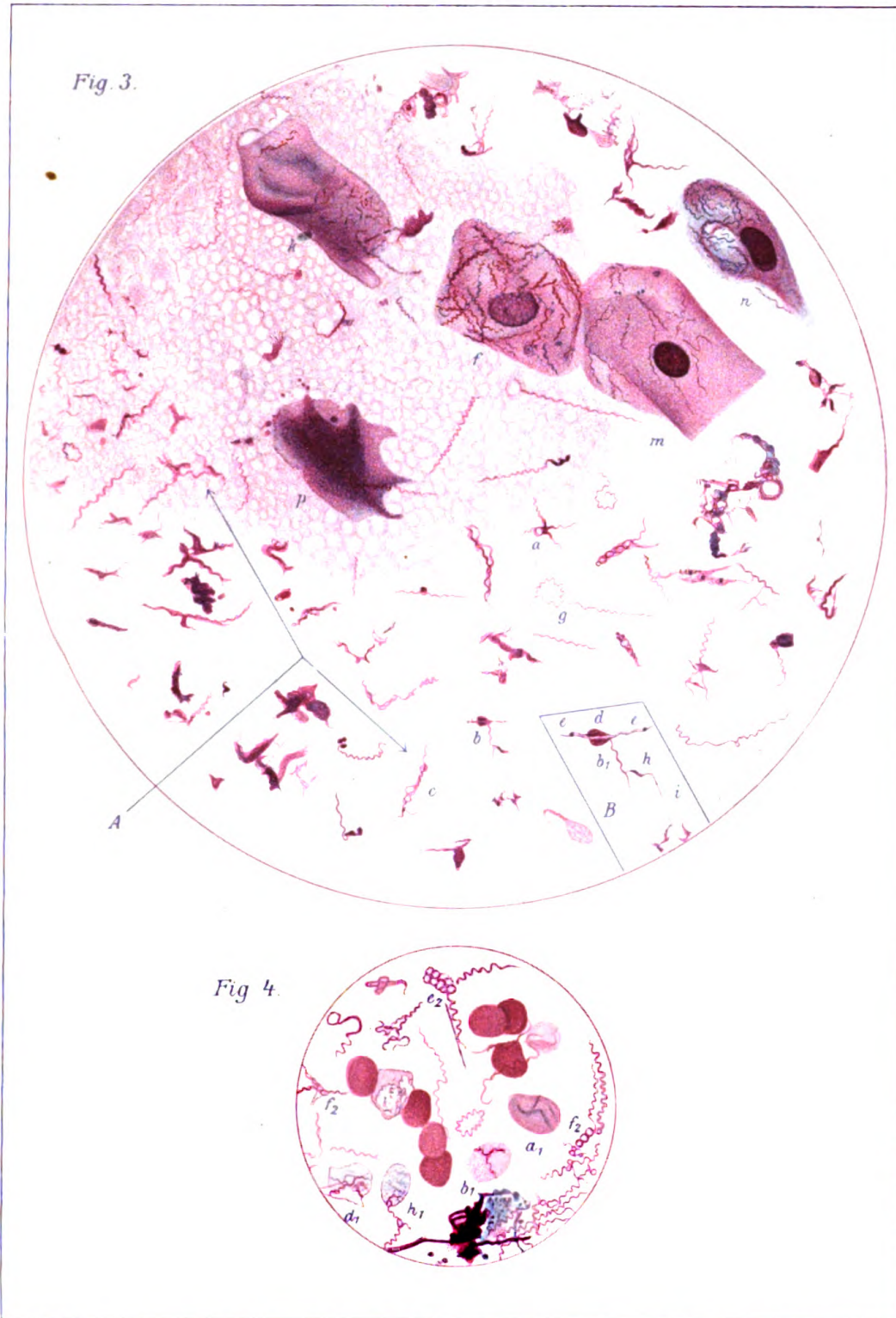
Von welcher Bedeutung diese Sternformen der *Spirochaeta pallida* sind, läßt sich schwer sagen. Am wahrscheinlichsten gehören auch sie den Involutionsstadien des Parasiten an; ich muß aber im Gegensatz zu Krzysztalowicz und Siedlecki anerkennen, daß diese Formen wahrscheinlich auch als Schutzformen im Kampfe mit anderen Parasiten, Bakterien, Kokken etc. sich bilden können. Dafür sprechen Fig. 1 q und Fig. 2 d, k, m, wo innerhalb oder an der Peripherie der Sternform der *Spirochaeta pallida* Bakterien und Kokken liegen; jedoch vollziehen sich diese sternartigen Umwandlungen sehr häufig spontan, d. h. ohne jegliche Beziehung zu anderen Parasiten. In der linken unteren Hälfte des Gesichtsfeldes auf Taf. II ist eine Menge kleiner Figuren, zerschwommener und intensiv konturierter, homogener, wie auch solcher, die in sich dunkler gefärbte Körperchen (Chromatinkörperchen?) tragen, die mit den verschiedenen Entwicklungsstadien der *Spirochaeta pallida* im Zusammenhange stehen und Gruppen von kurzen, dicken Spirochäten darstellen, zu sehen. Ob es sich hierbei um ein Reproduktionsstadium handelt, als welches Krzysztalowicz und Siedlecki die kurzen Individuen zu deuten geneigt sind, läßt sich mit Bestimmtheit nicht behaupten, wohl aber ist es sehr möglich. Aus den undeutlichen, zerschwommenen Figuren bilden sich immer schärfer konturierte Individuen. Ganz besonders mache ich auf die Figuren b, b¹ und c aufmerksam, wo durch ein birnenförmiges Gebilde (d), welches sich bei andauernder (24-stündiger) Färbung nach Giemsa dunkelviolett färbt, im Zentrum ein blaßrosafarbener, spirochätenähnlicher Körper (e) verläuft; der Körper verjüngt sich allmählich und weist in seinem Innern sich dunkel färbende Körnchen auf; die Größe des birnenförmigen Körpers beträgt 1 μ , die der Spirochäte 2—3 μ . Gerade von der Stelle, wo das eine freie Ende des spirochätenförmigen Körpers aus dem birnenförmigen Gebilde austritt, und fast perpendikulär zu diesem letzteren geht von demselben eine zarte, sich nach Giemsa rosa färbende Spirochäte ab (b), die drei Ringelchen und sehr feine Enden aufweist; von der Spirochäte geht wiederum ein kleiner, spindelförmiger, gebogener Körper (h) ab, dessen Bauch ebenso dunkelviolett gefärbt ist wie der Bauch des birnenförmigen Körpers, während die zarten, feinen Fortsätze an beiden Enden hellrosa gefärbt sind (i); mit dem einen Ende ist der kleine spindelförmige Körper mit der Spirochäte verbunden; mit dem anderen (i) verliert er sich in einer Gruppe von kleinen zerfließenden Gebilden. In Anbetracht der ganz bestimmten Beziehungen der Bestandteile zu dem beschriebenen Bilde zweifle ich



Selenow gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



Selenow gez

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. Johannes Arndt Jena

nicht, daß es sich um einen Entwicklungszyklus der Spirochäte handelt; es fragt sich aber, um welchen. Ob es sich um das Anfangsstadium der *Spirochaeta pallida* oder irgendeiner ähnlichen Spirochäte (ihre Ringelchen sind abschüssiger, wenn sie auch zart und hinsichtlich der Färbung der *Spirochaeta pallida* ähnlich ist) handelt, läßt sich natürlich schwer sagen. Jedoch lenkt diese Kette von Körpern unsere Aufmerksamkeit noch dadurch auf sich, daß sich die Spirochätenformen hier den spindelförmigen (*fusiformes*) nähern.

Auf den beigegeführten Abbildungen bemerkt man noch das Vorhandensein einer großen Anzahl von Exemplaren von *Spirochaeta pallida* in den Epithelzellen und roten Blutkörperchen. Auf dem desquamierten Epithel des Präputiums mit degeneriertem Protoplasma und Kernen habe ich zahlreiche Spirochäten angetroffen, die hauptsächlich im Protoplasma selbst lagen (Taf. II, Fig. 3 f, k, m, u), welches entfärbt und stellenweise fast vakuolisiert ist; manche Zellen stellen gleichsam ein Sieb dar (Taf. I, Fig. 1 k⁸). In den Zellen sind die Spirochäten meistens gruppen- oder knäuelchenweise (f, u) angeordnet, die deutlich ihre Form und Ringelchen (f, k, m, u) behalten, oder geradlinige, geradegestreckte Exemplare (Taf. I, m⁹) ergeben haben, deren Enden an der Peripherie der Zelle frei hängen. Die Peripherie der Kerne (Taf. II, Fig. 3 f, m, n) ist gleichfalls von Exemplaren von *Spirochaeta pallida* dicht umgeben, einige Zellen sind bereits kernlos, während das Protoplasma auch noch homogenisiert ist.

Was die roten Blutkörperchen betrifft, so liegen die Spirochäten in denselben gruppenweise und auch einzeln; das Protoplasma des roten Blutkörperchens verändert sich und büßt die Fähigkeit ein, sich mit Eosin und nach Giemsa zu färben (Taf. II, Fig. 4 a, b¹). Besonders häufig liegen die Exemplare der *Spirochaeta pallida* in einer besonderen Form von roten Blutkörperchen, die ich als eosinophile rote Blutkörperchenschatten bezeichne, da diese Zellen bei gut gelungener Färbung der roten Blutkörperchen in blaue, violette oder graue Farbe nach Giemsa sehr schwach rosa gefärbt bleiben; man sieht in denselben wirkliche farblose Höhlen. Diese Körperchen sind bald Mikrocyten, bald Makrocyten. Sie sind es nun, die sich mit Exemplaren der *Spirochaeta pallida* füllen (Fig. 2 n, Fig. 4 d), wobei auch in denselben geradlinige und ringartige Formen der *Spirochaeta pallida* vorkommen (Fig. 4 d, h).

Von großer Wichtigkeit ist nun die Frage, ob die von mir beschriebenen Ring- und Sternfiguren unbedingt lediglich der *Spirochaeta pallida* eigen sind. Darauf glaube ich eine negative Antwort geben zu müssen. Das Studium der biologischen Eigenschaften der *Spirochaeta refringens* gesondert von der *Spirochaeta pallida* und neben derselben weist darauf hin, daß auch die *Spirochaeta refringens* ähnliche Formen geben kann, nur gibt sie dieselben weit seltener und in geringerer Quantität, und das Äußere derselben ist weit größer. Auch auf meinen Abbildungen sind einige wenige größer ausgeführte Figuren schematisiert, um eine klarere Vorstellung der Beziehungen der einzelnen Teile zueinander zu ermöglichen. Jedenfalls bleibt bis zur vollständigen Isolierung und Kultivierung der *Spirochaeta pallida* die biologische Bedeutung der verschiedenen Evolutions- und Involutionsformen des Parasiten unaufgeklärt und rätselhaft.

Nachdruck verboten.

Experimenteller Beitrag zur Erforschung der Spirochäte des afrikanischen Recurrensfiebers (*Spirochaete Duttoni*).

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg.]

Von Dr. Aldo Tedeschi,

Assistenten am Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Parma
(Direktor Prof. Dr. E. Bertarelli).

Es ist mir nicht interesselos erschienen, über einige von mir im Laboratorium des Institutes für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg ausgeführte Experimente über die Biologie der *Spirochaete Duttoni* zu berichten, die ich unter der Leitung und Mithilfe des Herrn Dr. Pro wazek, welchem ich hiermit öffentlich meinen tiefgefühlten Dank ausspreche, gemacht habe.

Ich habe meine Untersuchungen ausgeführt, indem ich mich besonders auf die Arbeit von Manteufel¹⁾ über denselben Gegenstand stützte.

Vor allem habe ich das Verhalten der Spirochäten den Chlorür- und Natriumcitratlösungen gegenüber studiert.

Dann habe ich das Agglutinierungsverfahren des Serums von natürlich immunisierten Tieren auf die Spirochäten studiert.

Drittens habe ich über die Möglichkeit eines organischen Schutzes gegen die Spirochäten mittels der Phagocytose untersucht, indem ich den opsonischen Index zu erhöhen suchte.

Ich nahm die Idee Schaudinn's auf, betreffs gewisser von ihm in der Leber und der Milz durch Spirochäten infizierter Tiere aufgefundener Formen, die von ihm für Uebergangsformen des Lebenszyklus der Spirochäten selbst gehalten und Ruhestadien genannt wurden, und habe auch mehrere Versuche über diesen Gegenstand angestellt.

Ich habe versucht, bei den Laboratoriumstieren eine künstliche Immunität gegen die *Spirochaete Duttoni* und auch gegen die *Spirochaete gallinarum* zu erzielen; ich habe die aus Trypanosomen und Spirochäten gemischten Infektionen untersucht, indem ich die gegenseitige Wirkung in vitro und an den Tieren studierte, und schließlich habe ich das Verhalten der *Spirochaete Duttoni* in dem Magen der Wanzen beobachtet, weil man auch auf den Gedanken gekommen war, daß diese die Träger der Ausbreitung sein könnten.

Ich werde nicht von der Morphologie der Spirochäte des afrikanischen Recurrensfiebers (tick-fever), die schon so ausführlich erklärt wurde, sprechen, sondern will nur daran erinnern, daß sie zum ersten Male von Dutton, nach dem sie benannt ist, und von Todd im Kongo-staate beobachtet wurde.

Es besteht eine große Aehnlichkeit zwischen der *Spirochaete Obermeyer*, dem Krankheitserreger des europäischen Recurrensfiebers, der *Spirochaete Novy*, dem Erreger des amerikanischen Recurrensfiebers und der kürzlich in Indien gefundenen *Spirochaete Bombay*, die eine gleichartige Infektion auslöst.

Da ich im Laufe der Versuche sehr häufig das Spirochäten enthaltende Blut mit 0,9-proz. CINA behandeln mußte, um es zu verdünnen und mit 5-proz. Natrium citricum, um das zu rasche Gerinnen desselben zu

1) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1907.

verhindern, so habe ich vor allem die Wirkung dieser beiden Lösungen auf die Spirochäten selbst studiert.

Beobachtungen über das plasmolytische Vermögen der schwachen ClNa-Lösungen auf die Spirochaete Duttoni:

Spirochäten der 1. Infektion¹⁾.

Spirochäten + ClNa (0,3 Proz.)	} Die Spirochäten bewahren die normale Form und Bewegung selbst nach 48-stündiger Berührung mit der ClNa-Lösung. Dann weißen Mäusen eingespritzt, lösen sie regelmäßig die Infektion aus.
„ + „ (0,6 „)	
„ + „ (1 „)	
„ + „ (2 „)	

Wie man sieht, haben selbst Lösungen, die viel konzentrierter sind als die physiologische, gar keine Wirkung auf die Spirochaete Duttoni.

Mit Natrium citricum-Lösungen bis zu 8 Proz. behandelt, bleiben sie immer normal.

Es können also willkürlich beide Lösungen (Chlornatrium 0,9 Proz., Natrium citricum 5 Proz.) gebraucht werden, ohne daß zu besorgen wäre, daß deshalb irgendwelcher Irrtum entstehen könnte.

Versuche über die agglutinierende Wirkung des Immunsersums auf die Spirochaete Duttoni.

Ich habe 3 kleine Proberöhrchen gebraucht, und tat in die

- 1) Spir. 1. Infektion 0,1 ccm + immunisiertes Serum 0,1 ccm + NaCl-Lösung 0,1.
- 2) Spir. 1. Infektion 0,1 ccm + immunisiertes Serum [inaktiv gemacht²⁾] 0,1 ccm + ClNa-Lösung 0,1.
- 3) Spir. 1. Infektion + normales Serum 0,3 ccm + immunisiertes Serum (inaktiv gemacht) 0,1 ccm + NaCl-Lösung 0,1.

Ich stellte die 3 Röhren in den Brutschrank bei 37°. Bei der mikroskopischen Prüfung nach 24 Stunden erhielt ich die folgenden Ergebnisse:

1. Rohr: Reichliche Agglutination. Geringe Bewegungen der Spirochäten.
2. Rohr: Geringe Agglutination. Lebhaftige Bewegungen der Spirochäten.
3. Rohr: Markierte Agglutination. Geringe Bewegungen.

Aus der Prüfung des ersten Rohres geht klar die Wirkung des immunisierten Serums auf die Spirochäten hervor. Bei der Prüfung des zweiten dagegen sehen wir die Wirkung des Serums sehr vermindert, da die thermolabilen Substanzen zerstört, deren Gegenwart eine *conditio sine qua non* für das positive Zusandekommen der Reaktion ist.

Nun wissen wir, daß während die thermostabilen (ambozeptorischen) Substanzen den immunisierten Seren eigen sind, die thermolabilen (Komplement) auch den normalen Seren gemein sind, weshalb es genügt, um noch eine gleiche Reaktion, wie die des ersten Rohres zu erlangen, dem zweiten Rohre normales Serum zuzusetzen, was beim dritten Rohre geschah.

In der Folge werden wir jedoch sehen, welchen Stabilitätsgrad dieses agglutinierende Vermögen hat.

Ein sehr wichtiges und strittiges Argument ist, ob es möglich ist oder nicht, daß die Spirochäten gleich den Bakterien phagocytiert werden können. Ich habe deshalb auch hierüber einige Versuche angestellt, indem ich dieselben erst *in vitro* und hierauf *in vivo* ausführte.

1) Ich nenne 1. Infektion die von während des ersten Fieberanfalls infizierten Tieren herkommenden Spirochäten; 2. Infektion die, welche während des zweiten Fieberanfalls infiziert wurden usw.

2) Das immunierte Serum habe ich inaktiv gemacht, indem ich es 1 Stunde bei 58° hielt.

Versuche in vitro.

Ich präparierte 4 Röhrrchen in folgender Weise:

- 1) Spirochäten + Leukocyten
- 2) " + " + immunisiertes Serum
- 3) " + " + " (inaktiv gemacht bei 58°)
- 4) " + " + normales Serum (Kontrolle)

Ich stellte die 4 Röhrrchen eine halbe Stunde lang bei 37°.

Die Phagocytose müßte sich unter dem Reize des Immunserums sehr augenscheinlich in dem zweiten Röhrrchen, und in geringerem Grade in den Röhrrchen 3 und 4 gezeigt haben.

Bei der mikroskopischen Betrachtung in frischen und gefärbten (G.) Präparaten fand ich nur ausgesprochene Agglutination, ohne je irgendwelche Phagocytose sehen zu können.

Der Versuch wurde noch 3mal unter denselben Bedingungen von mir wiederholt; aber immer mit dem gleichen Erfolge.

Versuche in vivo.

Ich nahm zwei mit *Spirochaete Duttoni* infizierte Mäuse.

Die erste hat eben den ersten Fieberanfall überstanden; im peripherischen Blute fand ich keine Spirochäten.

Die zweite hat schon seit einem Monate die Infektion vollständig überstanden, und auch in dieser gelang es mir nicht, Spirochäten aufzufinden.

Ich spritzte beiden Mäusen in das Peritoneum in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöstes Aleuronat ein. (Da das Aleuronat im Bauchfell als fremder Körper wirkt, so erzeugt es eine starke Leukocytose.)

Nach 24 Stunden injizierte ich ihnen wieder in das Bauchfell Spirochäten von der ersten Injektion. Mit einer Kapillarpipette entnahm ich nach 10 Minuten resp. einer halben Stunde und einer ganzen Stunde nach der Einspritzung der Spirochäten ein wenig intraperitoneales Exsudat, und hatte bei der mikroskopischen Untersuchung die folgenden Ergebnisse:

	Nach 10 Minuten	Nach 1/2 Stunde	Nach 1 Stunde
Maus I	Leukocyten, freie Spirochäten	Leukocyten, freie Spir.	Leukocyten, sehr spärliche Spir.
Maus II	Leukocyten, freie Spir., sehr selten Phagocytose	Wenige phagoc. Spir., sehr wenige freie Spir.	Wenige phagoc. Spir., keine freien Spir.

Nach einem wiederholten, in gleicher Weise ausgeführten Versuche erlangte ich die gleichen Resultate.

Habe ich nun auch in vivo alle Ursachen von Irrtümern vermeiden können, die in den Versuchen in vitro unterlaufen können, in denen ich z. B. Leukocyten von Ratten und Serum von Mäusen verwandte, so habe ich doch eine sehr geringe Phagocytose gefunden.

Ueberdies habe ich diese Phagocytose nur in der Maus II erlangt, die schon seit längerer Zeit die Infektion überstanden hat, was beweist, daß die die Phagocytose erregenden Stoffe ziemlich langsam sich ausbilden, und zwar erst, wenn schon die natürliche Immunität gegen die Spirochäteninfektion erreicht wird.

Bestehen Ruhestadien?

Die Hapterscheinung des Recurrensfiebers, von der es seinen Namen hat, ist das regelmäßige Sich-Wiederholen der Fieberanfalle, die mit fieberfreien Pausen abwechseln.

Gewöhnlich zählt man 3—4 Anfälle, selten 5, die je 3—6 Tage dauern und während welcher die Temperatur bis über 40° steigt; die fieberfreien Pausen haben eine Dauer 3—7 Tagen; gewöhnlich kurz zwischen den ersten Fieberanfällen, verlängern sie sich beim Fortschreiten der Krankheit.

Während dieser Pausen findet man keine Spirochäten im Kreislaufe, und es drängt sich natürlich die Frage auf, wo und unter welcher Form sich in diesen Perioden die Spirochäten verbergen.

Diese Frage ist verschieden beantwortet worden, aber alle Antworten stützen sich nur auf Hypothesen, keine auf positive Beobachtungen.

Die einen nehmen eine intracelluläre Lebensperiode in den roten Blutkörperchen an, gleichwie bei den Parasiten der Malaria, die anderen vermuten, daß sich in der Milz und in der Leber Teilungsformen finden, die auch Ruhestadien (Schaudin) genannt werden. In diesem Sinne werden hierdurch einige rundliche Körperchen gedeutet, die in den benannten Organen beobachtet wurden.

Wieder andere haben den Gedanken aufgeworfen, daß einige wenige Spirochäten während der Apyrexie im Blute verblieben, die sich dann durch einen uns unbekanntem Mechanismus reproduzieren und die neuen Fieberanfälle auslösen. Ich habe gesagt, durch einen uns unbekanntem Mechanismus, weil ich nicht glaube, daß die wenigen beobachteten Längsspaltungen genügen, um einen Reproduktionsmechanismus zu beweisen und festzustellen.

Ich persönlich habe niemals weder in der Milz und der Leber, noch in anderen Organen die öfters beschriebenen rundlichen oder gewundenen Formen zu finden vermocht; ich fand nur einige normale Formen von Spirochäten, nie intracelluläre.

Die Erfahrung hat mir ferner gezeigt, daß auch während der fieberfreien Zwischenzeit das Infektionsvermögen fortbesteht, sowohl im zirkulierenden Blute, als auch, wenngleich in schwächerem Maße, in den oben genannten Organen.

Ich habe hierüber 3 Gruppen von Versuchen angestellt:

A. Einimpfung auf Mäuse mit Material von anderen Mäusen herührend, die den ersten Fieberanfall überstanden haben. In diesem Material habe ich nach wiederholten mikroskopischen Untersuchungen gar keine Spirochäten beobachten können.

B. Einimpfung mit Material von Mäusen, die den zweiten Fieberanfall überstanden hatten. Auch in diesem Material habe ich weder Spirochäten noch verdächtige Formen gefunden.

C. Einspritzung von Material, das von Mäusen herkommt, die seit einem Monat von der Infektion geheilt sind. Keine Spur von Spirochäten.

A. Ich impfte 4 Mäuse mit		Befund	
		nach 5 Tagen	nach 7 Tagen
1) Blut (rote Globülen + Serum)	+ ClNa (0,9 Proz.)	+	+
2) Milz (2mal gewaschen u. zentrifug.)	+ „ (0,9 „)	—	+
3) Leber (2 „ „ „)	+ „ (0,9 „)	+	+
4) Rote Globülen	+ „ (0,9 „)	+	+

Nach 3mal wiederholtem Versuche stellte ich fest, daß im allgemeinen bei mit Leber und besonders mit Milz injizierten Mäusen die Infektion verspätet und einmal gar nicht eintritt.

B. Ich impfte 4 Mäuse mit		Befund			
		nach 6 Tagen	nach 8 Tagen	nach 11 Tagen	nach 14 Tagen
1) Blut (rote Globülen + Ser.) + ClNa (0,9 Proz.)		+	+		
2) Rote Globülen	+ „ (0,9 „)	+	+		
3) Milz	+ „ (0,9 „)	—	—	—	—
4) Leber	+ „ (0,9 „)	—	+	+	—

Ich wiederholte den Versuch noch 3mal. Mit dem Blute und der Leber hatte ich dieselben Ergebnisse. Einmal erlangte ich auch mit der Milz eine Infektion nach 11 Tagen.

C. Trotz mehrmaliger und in großen Mengen gemachter Versuche gibt die Einimpfung dieses Materials stets negative Ergebnisse.

Aus dieser Reihe von Versuchen scheint mir eine Tatsache als klar erwiesen hervorzugehen, nämlich die beständige Regelmäßigkeit des positiven Befundes bei den mit Blut oder auch allein mit roten Globülen injizierten Tieren, während sich in den mit Leber oder Milz behandelten Tieren eine große Unregelmäßigkeit kundgibt, und zuweilen die Infektion gänzlich ausbleibt.

Bestände wirklich eine Ruhe- oder Teilungsform in den Organen, so müßte man den umgekehrten Tatbestand feststellen können, nämlich eine beständige und regelmäßige Infektion bei den mit Leber oder Milz injizierten Tieren und eine nur zufällige bei den mit Blut injizierten, d. h. nur wenn man Blut von noch nicht ganz vom Fieberanfall freien Tieren gebraucht, und in denen mithin sich noch einige freie Spirochäten im Umlaufe befinden.

Es scheint mir aber logischer, an eine intraglobuläre Uebergangsform in den Blutkörperchen zu denken oder, obwohl ich dies für weniger wahrscheinlich halte, in den Leukocyten.

Einige negative Erfolge sind mithin erklärlich bei den Einimpfungen mit Leber oder Milz, und zwar in denjenigen Fällen, in welchen eine sehr reichliche Spülung die infizierten Blutkörper mit weggeschwemmt hat.

Ich habe mich dann bemüht, in den Versuchstieren (Mäusen) eine künstliche Immunität zu erzeugen, indem ich ihnen abgeschwächte oder getötete Spirochäten (Endotoxine) injizierte, oder aber auch eine Substanz, die aus der Stelle ausgezogen wurde, wo die Spirochäten ihre Tätigkeit entfalten (Endotoxine). Um die Endotoxine zu gewinnen, habe ich die Spirochäten verschiedenen Verfahren unterworfen, und sie behandelt

- 1) mit Wärme, indem ich sie eine Stunde lang bei 60° hielt;
- 2) mit Abrinlösung;
- 3) mit Saponinlösung;
- 4) mit Arsenicum natricum-Lösung;
- 5) indem ich sie lange mit Blutserum von natürlich immunisierten Tieren in Berührung ließ. (Die weißen Mäuse, welche die Infektion überstanden haben, genießen eine dauernde Immunität. Bei Menschen und bei anderen Tieren dauert diese Immunität nur ein halbes Jahr.)

I. Behandlung mit Wärme:

Ich nahm 2 Probierröhrchen mit viele Spirochäten enthaltendem Mäuseblut (Glas a und b), zentrifugierte das Glas b, um das Serum zu entfernen und hatte so im Glase:

- a) Blut + Spirochäten + ClNa (0,9 Pro.); im Glase b rote Blutkörperchen + Spirochäten + ClNa (0,9 Proz.).

Ich brachte die beiden Probierröhrchen etwa eine Stunde lang bei 60° in den Brutschrank.

Dann injizierte ich mit 1 ccm der Flüssigkeit des Probierröhrchens a eine Maus und mit der gleichen Menge der Flüssigkeit des Probierröhrchens b eine andere Maus.

Ich beobachtete die beiden geimpften Mäuse 8 Tage lang; sie blieben vollständig gesund. Nach dieser Zeit spritzte ich ihnen Spirochäten der ersten Infektion ein, und 4 Tage darauf fand ich sie infiziert. Selbst nach mehrmaligem Versuche, auch mit Spirochäten der zweiten Infektion, die im allgemeinen für weniger infektiös gehalten wird, ist es mir nie gelungen, die Immunität zu erzielen.

II. Behandlung der Spirochäten mit Abrin.

Die Laboratoriumstiere sind sehr empfänglich für die Vergiftung durch Abrin. Ich suchte ein Meerschweinchen immun zu machen, indem ich es einen um den anderen Tag mit zunehmenden Dosen behandelte.

Meerschweinchen von 450 g Gewicht.

1. Tag Einspritzung von $\frac{1}{10}$ mg.
2. Tag Ruhe.
3. Tag Einspritzung von $\frac{2}{10}$ mg.
4. Tag Ruhe.
5. Tag Einspritzung von $\frac{5}{10}$ mg.

In den ersten 4 Tagen widerstand das Meerschweinchen gut, am fünften starb es rasch mit akuten Vergiftungssymptomen.

Die kleinste tödliche Dosis ist in der Tat 1 mg auf je 1 kg Gewicht des injizierten Tieres. Das Abrin in $\frac{1}{1000}$ Lösung hat eine nur sehr schwache Wirkung auf die Spirochäten, so daß dieselben, selbst wenn sie mehrere Stunden in der Lösung gelassen werden, sich eine rege Bewegungskraft bewahren.

Um das Absterben in kurzer Zeit, etwa in einer halben Stunde zu erlangen, muß man eine Lösung von $\frac{1}{150}$ gebrauchen.

Zu dem Versuche bediente ich mich zweier Lösungen, einer von $\frac{1}{1000}$, die andere von $\frac{1}{150}$ in ClNa-Lösung (0,9 Proz.).

Ich bereitete 2 Röhren:

1) Abrinlösung $\frac{1}{1000}$ + Spirochäten. Nach 24-stündigem Kontakt leben und bewegen sich die Spirochäten noch immer.

2) Abrinlösung $\frac{1}{150}$ + Spirochäten; nach 1-stündigem Kontakt bewegen sich die Spirochäten nicht mehr.

Ich spritzte 2 Mäusen, einer 1 ccm Flüssigkeit der ersten Lösung ein, der anderen 1 ccm der zweiten Lösung.

Nach 5 Tagen wurde die mit dem Inhalt des ersten Röhrchens injizierte Maus von der Infektion ergriffen, die andere nicht.

Die zweite Maus wurde noch 3 Tage unter Beobachtung gehalten, zeigte aber keine Infektion; nachdem ihr jedoch einige Tage darauf normale Spirochäten eingespritzt worden waren, erfolgte regelrechte Infektion. Ich wiederholte den Versuch auch an Ratten, immer mit demselben negativen Ergebnis.

Nebenbei gesagt, habe ich mittels des Abrins bei Vögeln (Kanarienvögeln) Immunität gegen die Spirochaete gallinarum erlangen können. Ich habe dieselbe Lösung von 1:150 angewandt. Ich habe Kanarienvögeln mit Abrin getötete Spirochaetae gallinarum eingepft; es traten leichte Infektionssymptome auf, die wenige Tage dauerten.

III. Behandlung der Spirochäten mit Saponin.

Auch das Saponin hat eine die Bewegungen paralyisierende Wirkung auf die Spirochäten und bewirkt außerdem eine Formveränderung, indem es sie leicht verbreitert.

Eine Lösung von

- 1:400 immobilisiert augenblicklich die Spirochäten, die dann zerfallen
- 1:600 " in $\frac{1}{2}$ Stunde
- 1:1000 " " 1 "
- 1:1000 macht die Spirochäten in mehr als 1 Stunde unbeweglich.

Ich verwendete eine Lösung von 1:600, und ließ die Spirochäten $\frac{3}{4}$ Stunden darin. Da das Saponin eine kräftige hämolytische Wirkung hat, so fügte ich ein wenig antihämolytisches Blutserum (Ziege) hinzu. In ein Röhrchen tat ich Saponinlösung + Spirochäten + Blutserum (Ziege) und brachte das Röhrchen auf $\frac{1}{2}$ Stunde in den Brutschrank bei 37° , damit sich die Wirkung des Serums entwickeln konnte und das hämolytische Vermögen neutralisiere.

Hierauf injizierte ich 2 ccm dieser Lösung einer Ratte, welche 11 Tage unter Beobachtung gehalten wurde und keine Zeichen von Infektion gab. Als ihr dann Spirochäten eingespritzt wurden, erfolgte die normale Infektion.

Gleichfalls negatives Ergebnis.

IV. Behandlung der Spirochäten mit Arsenicum natricum.

Eine Lösung von 1:200 machte die Spirochäten, die auch eine leichte Formveränderung erleiden, in $\frac{1}{2}$ Stunde unbeweglich, d. h. sie verbreiterten sich.

Die Ergebnisse bei den Tieren konnte ich nicht mehr sehen, denn selbst mit minimalen Dosen Arsenicum behandelt, gingen sie sehr rasch zugrunde.

V. In dieser Versuchsgruppe habe ich mich bemüht, zu erforschen, ob eine Abschwächung der Infektivität der Spirochäten zu erlangen ist, indem man sie mittels des immun gemachten Blutserums zur Zusammenballung bringt und sie immobilisiert. Ich gebrauchte dreierlei verschiedene Seren:

I. Serum von Mäusen, die schon längere Zeit die Infektion überstanden haben (1 Monat).

II. Solches von Mäusen nach dem zweiten Fieberanfall.

III. Solches von Mäusen nach dem ersten Fieberanfall.

Nachdem ich diese 3 Seren in Röhrchen getan hatte, fügte ich die Spirochäten hinzu und injizierte die Mäuse a), b), c).

a) Serum I + Spirochäten Zusammenballung und Unbeweglichkeit.

b) Serum II + Spirochäten Zusammenballung und geringe Beweglichkeit.

c) Serum III + Spirochäten keine Zusammenballung und Beweglichkeit.

Ich wiederholte den Versuch mit inaktiviertem Serum.

Hieraus erhellt, wie die Menge der Antikörper im Blute mit dem Fortschreiten der Spirochäteninfektion zunimmt.

Wenn nun die Fixierung der Spirochäten (antigenetisch) von seiten der Antikörper und der Komplemente sich stabil bei den mit den Seren I und II injizierten Mäusen vollzogen hat, so sollte keine Infektion stattfinden.

Die Erfahrung dagegen lehrte mich, daß, sobald die Spirochäten sich im Blute befinden, sie sich freimachen und regelmäßig die Infektion hervorrufen.

Exotoxine.

Um die Exotoxine zu erhalten, habe ich infiziertes Material (Blut und Milzbrei) mit dem Pukall-Filter filtriert.

Mit dem Abfiltrierten habe ich Mäuse immun zu machen versucht, aber auch dieser Versuch war vergeblich. Müssen wir vielleicht aus dieser Reihe negativer Versuche schließen, daß man von den Spirochäten keine Endotoxine und Exotoxine erlangen kann? Dieser Schlußfolgerung stellt sich der glückliche Erfolg entgegen, den Novy und Knapp in ihren diesbezüglichen Experimenten zu verzeichnen hatten.

Sie haben mit dem folgenden Verfahren die Immunität erlangt:

Viele Spirochäten enthaltendes Ratten- oder Mäuseblut wird von ihnen in eine Petri-Schale getan, und 5—6 Tage im Eisschrank sich selbst überlassen, bis eine genügende Austrocknung erzielt war. Nachdem hierauf das getrocknete Blut gesammelt und in destilliertem H₂O zerrieben worden war, spritzten sie den immun zu machenden Tieren davon ein. Diese machen eine leichte Infektion durch mit vorübergehenden Symptomen, und sind hierauf keiner weiteren Infektion durch Einspritzung neuer Spirochäten mehr zugänglich.

Dies beweist, daß entweder im Körper der Spirochäten selbst, oder im umgebenden Blut wirklich ein Etwas besteht, das Endo- oder Exotoxin sein könnte, das befähigt ist, eine Immunität auszulösen.

Ich schließe daraus, daß die von anderen und auch von mir angewandten Mittel zur Erlangung der Toxine auf diese selbst gewirkt und ihr Immunisierungsvermögen vernichtet haben.

Ich habe auch erforschen wollen, wie die Schleimhaut des Verdauungsapparats sich den Spirochäten gegenüber verhält.

Ich bin in der Weise vorgegangen, daß ich lebende Spirochäten habe verschlucken lassen.

Ich habe eine außerordentlich stark infizierte Ratte getötet. Die Milz, die Leber und die anderen Organe wimmelten geradezu von Spirochäten.

Ich fütterte mit diesen kaum ausgenommenen Eingeweiden eine andere, seit 24 Stunden hungernde Ratte, welche sie sofort verschlang. So war ich sicher, daß die Spirochäten noch lebend in den neuen Organismus eingedrungen sind.

Die Wirkung ist jedoch gleich Null. Die Schleimhaut des Verdauungsapparats hat der spirochätischen Infektion einen Damm entgegengesetzt. Ich suchte auch zu erfahren, ob nicht etwa trotz der fehlenden sichtlichen Infektion eine latente stattgefunden und so das Tier immun gemacht habe. Als ich der Ratte Spirochäten einspritzte, wurde sie in der gewöhnlichen Weise infiziert.

Als letztes Experiment habe ich versucht, eine gemischte Infektion zu erzeugen mit Spirochäten und Trypanosomen (Lewisii und Brucei).

In vitro habe ich die Wirkung des gegen die Spirochäten immun gemachten Blutserums auf das Trypanosoma Lewisii studiert.

Ich bereitete 2 Tuben vor, in denen sind:

- 1) Serum von älterer Infektion (seit 1 Monat geheilt) + Tryp. Lewisii.
- 2) Serum nach dem ersten Fieberanfall + Tryp. Lewisii.

Die Trypanosomen wiesen keine Wirkung des immunisierten Serums auf und bewegten sich noch nach 12-stündigem Kontakt mit demselben in normaler Weise.

Wenn man dieselbe Probe mit *Trypanosoma Brucei* macht, zeigen auch diese dasselbe Verhalten.

Versuche in vivo.

Ich spritzte 4 Mäusen *Spirochaete Duttoni* ein und konstatierte nach 2 Tagen die erfolgte Infektion, worauf ich ihnen von neuem

- 1) zweien *Trypanosoma Lewisii*,
- 2) zweien *Trypanosoma Brucei* injizierte

und fand:

nach 4 Tagen	nach 6 Tagen	nach 8 Tagen	nach 12 Tagen
1) viele Trypanosomen, wenige Spirochäten	viele Trypanosomen, Spirochäten zieml. zahlreich	viele Trypanosomen, keine Spirochäten	viele Trypanosomen, wenige Spirochäten
2) reichlich Trypanosomen, Spirochäten sehr selten	reichlich Trypanosomen, keine Spirochäten	reichlich Trypanosomen, keine Spirochäten	reichlich Trypanosomen, keine Spirochäten

Die Probe wiederholte ich mehrmals mit dem gleichen Erfolg.

Die Ergebnisse bestätigten mir die der Versuche in vitro, ja sie belehrten mich des weiteren noch, daß bisweilen die Trypanosomen (*Brucei*), anstatt von der Gegenwart der Spirochäten geschädigt zu wirken, im Gegenteil die Entwicklung derselben hemmen, wie aus ihrer raschen Verminderung im Blute ersichtlich ist.

Das parallele Verlaufen der beiden Infektionen halte ich also nur für *Trypanosoma Lewisii* für möglich, sehr unwahrscheinlich dagegen beim *Trypanosoma Brucei*.

Wie nunmehr erwiesen scheint, ist der Verbreiter der Spirochäten eine Zecke, der *Ornithodoros moubata*; es wurde jedoch auch der Wanze diese Rolle zugeschrieben.

Dank dem Material, das mir in liebenswürdigster Weise von Herrn Dr. Prowazek geliefert wurde, habe ich das Verhalten der Spirochäten im Organismus der Wanzen beobachten können.

Vor allem habe ich gefunden, daß die Spirochäten mit dem ausgesogenen Blute in ihrem Magen zurückgehalten werden, so daß man diese noch bis über 48 Stunden nachher deutlich darin unterscheidet.

Nach 3 Tagen erscheinen sie verdünnt und zum Teil zerfallen. Dieser Auflösungsakt nimmt allmählich zu, bis es am 7. oder 8. Tage nicht mehr gelingt, auch nur eine Spirochäte aufzufinden. In Anbetracht dessen, daß die Spirochäten im Magen bleiben und hier zerstört werden, und daß die anderen Organe der Wanzen mit negativem Erfolg nach Spirochäten durchsucht wurden, sind wir geneigt, ganz bedingungslos auszuschließen, daß sich in ihnen ein Lebenszyklus der Spirochäten abwickeln dürfte.

Schlußfolgerungen.

Das geradezu indifferente Verhalten des Protoplasmas der *Spirochaete Duttoni* selbst hypertoxischen Salzlösungen gegenüber beweist die große Lebensfähigkeit und auf reflektierendem Wege die große Widerstandskraft der durch sie ausgelösten Infektion.

Die Agglutinine stellen sich spät ein, und zwar erst wenn die Infektion gänzlich überstanden ist, und ihre Wirkung ist, wenn auch rasch und energisch, jedoch von verhältnismäßig kurzer Dauer.

Negative Resultate hat mir die Erforschung der Ruhestadien gegeben, ein Hauptpunkt, um die Erscheinung der Recurrenz des Fiebers zu erklären.

Die Ergebnisse meiner Versuche haben mir die Ueberzeugung beigebracht, daß die Infektion im Blute ständig bleibt, auch während der fieberfreien Pausen, in endoglobulären Formen, in den Blutkügelchen und in den Leukocyten. Und dieser Punkt verknüpft sich mit dem noch ebenso dunkeln über die Art und Weise der Reproduktion der Spirochäten, ein Gegenstand, mit dem ich mich in besonderer Weise in einer bald folgenden Arbeit beschäftigen werde.

Durch die von mir benutzten Methoden habe ich künstlich keine Immunität gegen die Infektion der Spirochaete Duttoni erlangen können.

Immunität gegen die Spirochaete gallinarum zu erzielen, gelang mir jedoch sehr leicht.

Nicht mit Unrecht kann man also behaupten, daß das Feld der Biologie und zum Teil auch das der Morphologie der Spirochäten des Recurrenzfiebers noch unerforscht ist und neuer, hoffentlich glücklicherer Forschungen, als die bis jetzt ausgeführten, harret.

Literatur.

- Manteufel, Experimentelle Beiträge etc. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1907.
Levaditi, Compt. rend. soc. biol. 1907.
Neufeld, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1907.
Schellack, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1907.
Novy and Knapp, Journ. of Infect. Diseases. 1906.
Balfour, A., Spirochaetosis of Sudans fowls an afterphase. 1908.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh**.

Mit 2 Figuren.

Die Resultate unserer Beobachtungen über Culiciden vom 1. Nov. 1908 bis 1. Nov. 1909 können, wie folgt, zusammengefaßt werden:

a) Beobachtungen über die Ueberwinterung der Culiciden.

Wir notierten während des Monats November letzten Jahres ein sehr zahlreiches Auskriechen von Culex-Larven in der Orbeebene (Kanton Waadt). Pfützen dieser Ebene lagen total trocken am 12. Nov. 1908, und waren mit welken Blättern angefüllt. Am 29. Nov., nach andauerndem Regen, hatten sich diese Pfützen mit Wasser gefüllt, welches an der Oberfläche leicht gefroren war (Lufttemperatur -2° , Wassertemperatur $+1^{\circ}$, um 10 Uhr morgens), und enthielten unzählbare junge Larven von Culex, die ungefähr $1\frac{1}{2}$ mm lang und wahrscheinlich

2—3 Tage alt waren. Am 13. Dez. waren diese Larven kaum gewachsen (dünne Eisdecke auf den Pfützen). Erst am 17. Jan. 1909 erreichten sie eine mittlere Größe (Eisdecke von 2 mm). Am 7. Febr. ist ihre Größe immer noch dieselbe (Wassertemperatur $+4^{\circ}$, dünne Eisschicht).

Am 13. Dez. stellten wir eine interessante Tatsache fest, nämlich, daß wir in einer Pfütze, in welcher wir 15 Tage früher nichts gefunden hatten, jetzt eine große Anzahl winziger *Culex*-Larven fanden, die erst seit kurzem ausgekrochen waren (Wassertemperatur $+3\frac{1}{2}^{\circ}$).

Alle diese Larven haben überwintert, und das erste neue Auskriechen von *Culex*-Larven fand am 26.—27. März 1909 statt (Wassertemperatur $+6^{\circ}$).

Während des Winters 1908—1909 überwinterten an derselben Oertlichkeit ziemlich zahlreiche Larven von *A. bifurcatus*, im Gegensatz zu unserer Beobachtung vom Winter 1907—1908¹⁾. Am 23. Okt. 1909 fanden wir in verschiedenen Pfützen der Orbeebene ganz kleine Larven von *Anopheles*.

In derselben Ebene fanden wir die ersten Puppen von *Culex* und *A. bifurcatus* am 2. Mai 1909 (Lufttemperatur $+4^{\circ}$, Wassertemperatur $+9^{\circ}$, 10 Uhr vormittags; es schneit); während in Sondrio (Veltlin) die ersten Puppen von *A. bifurcatus* am 23. März (Lufttemperatur $+9^{\circ}$, Wassertemperatur $+10^{\circ}$, 1 Uhr nachmittags) gefunden wurden. Am 7. Febr. 1909 fanden wir in den Wäldern von Moutcherand (Orbe) Vertiefungen des Erdbodens, die mit einer dicken Eisschicht bedeckt waren. Unter dem Eis besteht ein leerer Raum, dessen Grund kaum mit Wasser, vermischt mit faulenden Blättern, bedeckt ist. Diese Blätter werden gesammelt, in einen Behälter gestellt, und nach Hinzufügen von Wasser konnten wir uns überzeugen, daß keine Larven von *Culex* darin sind. Am 15. Febr. sehen wir in diesem Behälter, der immer Zimmertemperatur hatte, zahlreiche kleine *Culex*-Larven, von Eiern herrührend, die wahrscheinlich mit den Blättern vermischt waren. Am 24. April untersuchten wir die Pfützen, aus welchen die Blätter kamen, und fanden in der darin enthaltenen geringen Menge Wassers unzählige Puppen und viele Larven von *Culex*. (Von 580 Puppen entwickelten sich im Laboratorium 412 ♂ und 168 ♀ von *C. nemorosus*¹⁾).

Am 3. April 1909 wurde ein ♀ von *C. annulatus*, welches in einer Wohnung in Orbe überwintert hat, in ein Probegläschen in einem Zimmer mit $+5$ Lufttemperatur aufgestellt; es setzte ein Kähnchen Eier ab, welche sich aber nicht entwickelten.

b) Beobachtungen über die Larven von *A. maculipennis* im Jahre 1909.

A. maculipennis ist in diesem Jahre äußerst selten in den von uns untersuchten Pfützen gewesen. Zum erstenmal seit dem Jahre 1900, in welchem wir unsere Beobachtungen über die Culiciden in der Orbeebene begannen, haben wir daselbst keine *A. maculipennis* gefunden. In Sondrio (Veltlin) war diese Culicide im Juli, August und September, im Gegensatz zum Sommer 1908, sehr selten. Die Ursache kann die sein, daß diese Art gewöhnlich höhere Temperaturen als *A. bifurcatus*

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. p. 553.

zu ihrer Vermehrung benötigt und daß Frühling und Herbst 1909 meistens niedrige Temperaturen und ausgiebigen Regen zu verzeichnen hatten. So z. B. hat es im Veltlin während des ganzen Monats Juni im Tale geregnet und auf den Bergen geschneit. Die Feststellung dieser Tatsache hat eine große Wichtigkeit, denn sie erklärt teilweise, warum die Malaria leichter aus den nördlich der Alpen gelegenen Ländern verschwindet, als aus den südlich gelegenen. In den ersteren hat man häufiger kalte Frühlinge und Sommer und demzufolge eine starke Abnahme von *A. maculipennis*, welche Art in unseren Gegenden die wichtigste Rolle bei der Uebertragung von Malaria spielt. Dies erklärt auch, warum man in einem gegebenen Malariaherde während 1—2 Jahren keine neuen Malariafälle beobachtet, und nur Rezidive und dann plötzlich neue Fälle auftreten. Die Ursache davon sind warme Jahre mit zahlreichen, sich auf Malariakranken infizierenden *A. maculipennis* und die auf kalte, regnerische Jahre folgen, in welchen *A. maculipennis* selten war.

c) Beobachtungen über Culicidenbrutplätze.

Eine interessante Beobachtung beweist, in welchem Maße, wenn es ihnen möglich ist, die Culiciden zum Eierabsetzen Pfützen ausgedehnteren Sümpfen vorziehen, wo sie, wie wir experimentell konstatieren konnten¹⁾, durch Unruhe und Strömung des Wassers unter dem Einfluß des Windes sehr belästigt werden. Diese Beobachtung machten wir in einem Alpensee des Veltlins, im Zoccasee (1800 m), wo wir am 18. Juli 1909 weder Larven noch Puppen von *Culex* fanden, aber gerade nebenan enthielt ein kleiner Graben und hauptsächlich eine Pfütze zahlreiche Larven und Puppen von *C. nemorosus*.

Wir beobachteten auch, daß die Larven von *A. bifurcatus* den Winter gewöhnlich versteckt zwischen den Blättern und dem Schilf der Oberfläche des Sumpfes zubringen, und daß bei leichter Strömung ihnen Blätter und Stengel von *Glyceria plicata* guten Schutz gewähren. In diesem Jahre fanden wir nochmals ein mit *Culex pipiens* infiziertes Haus und durch ein Faß, das nur sehr wenig Wasser enthielt und im Garten vergessen worden war. Es enthielt eine Unmenge Larven, Puppen und Eier von *C. pipiens*. In einen Weinberge fanden wir ein Faß mit einer geringen Quantität „Bordelaise“ und zahlreichen Eierkähnen von *Culex*. Diese Eier entwickelten sich in der Bordelaiser Brühe, aber die Larven gingen sogleich zugrunde, während mehrere Eier derselben Kähnen, in gewöhnliches Wasser gestellt, Larven gaben, die sich dann sehr gut zu *C. pipiens* entwickelten. Diese Beobachtung bestätigt unsere experimentellen Untersuchungen von 1907²⁾ über die Ungefährlichkeit der in den Weinbergen verbliebenen Bordelaisegefäßen.

In der Orbeebene wurde in den letzten Jahren zur Gewinnung von Torf ein sehr langer und breiter Kanal gegraben. Einer von uns, über die Möglichkeit einer Umwandlung dieses Kanals in einen Mückenbrutplatz befragt, hatte die Auferlegung der Erhaltung einer Strömung im Kanal beantragt, um diesem Uebelstande soviel als möglich abzuwehren. Die Arbeit der Torfausbeutung ist im Laufe dieses Jahres eingestellt worden, und der Kanal endigt nun in seinem niedrigsten Teile

1) Atti d. Soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. 5. 1904. p. 1.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. p. 468.

in einer Sackgasse. Um Strömung darin zu erhalten, sind im rechten Ufer Breschen gemacht worden, deren schräge Abflußkanäle den Kanal mit einem anderen großen, schon existierenden Drainagekanal in Verbindung setzen. Wir konstatierten das völlige Fehlen von Culicidenlarven im Torfgewinnungskanal, dessen Strömung eine Schnelligkeit von ungefähr 0,15—0,20 m per 1" aufweist. Es ist möglich, daß die Vernachlässigung dieses Kanales und die Bildung eines Pflanzenwuchses in absehbarer Zeit einen Culicidenbrutplatz daraus machen.

d) Beobachtungen über Mückenstiche.

1909 haben die Mücken am 9. März im Zimmer zu stechen angefangen. In den Wäldern des Kanton Waadt hat *C. nemorosus* am 15. Mai angefangen, am hellen Tage und bei schönem Sonnenschein zu stechen. Diese Art kam auch dieses Jahr sehr häufig in den Bergen von (1800—1900 m), wo sie am Tage bei Sonnenlicht und + 20° stach, sowie des Morgens um 5 Uhr (+ 9°). Ein ♀ von *C. annulatus*, den 25. Okt. 1908 in einem Zimmer eingefangen, und welches, wie gewöhnlich, nicht hatte stechen wollen, hat in einem ein bißchen Wasser enthaltendes Probegläschen bis zum 17. Nov. (24 Tage) gelebt, während ♀ von *C. nemorosus*, die sich im Laboratorium entwickelt hatten und nicht Blut gesaugt hatten, nach 16 Tagen zugrunde gingen. Das von uns beobachtete Maximum von Widerstandsfähigkeit dem Fasten gegenüber war bis jetzt 17 Tage¹⁾.

e) Beobachtungen über Vernichtung und Schutz gegen Culiciden.

1903²⁾ lenkten wir die Aufmerksamkeit auf die Tatsache, daß die Larven von *Corethra (Mochlonyx) velutinus* Ruthe, die wir zum erstenmal im Kanton Waadt am 8. April 1902³⁾ beobachteten, eine gewisse Zahl von *Culex*- und *Anopheles*-Larven fressen. Aber die späteren Experimente⁴⁾ bewiesen uns, wie wenig auf diesen Vernichtungsmodus zu zählen ist, denn sind diese Larven zahlreich in einem Behälter, so fressen sie sich viel lieber untereinander, als daß sie Larven von *Culex* und *Anopheles* angreifen. In einer diesjährigen neuen Reihe von Experimenten, welche darin bestanden, in einem Glasbehälter 10 *Mochlonyx*-Larven und 4 *Culex*-Larven zu stellen, konnten wir sehen, daß 2 Tage später nur 2 *Mochlonyx*-Larven, aber alle 4 *Culex*-Larven blieben, und daß 4 Tage später nur 1 *Mochlonyx*-Larve blieb. Wie dem auch sei, ist die *Mochlonyx*-Larve doch jedenfalls die einzige Culiciden-Larve unserer Gegenden, welche eine gewisse Zahl *Culex*- und *Anopheles*-Larven vertilgt, aber praktisch scheint sie von keinem Nutzen zu sein, denn in der einzigen Oertlichkeit, wo wir sie gefunden haben, und wo anfangs keine *Culex*-Larven vorkamen, findet man dieselben jetzt in Menge. Dieser sonderbare Culicide, der seit Meinert nicht mehr angegeben wurde und den wir 1902 wiederfanden, wurde auch 1908 bei Vandoeuvres (Kanton Genf) von Dr. Broscher gefunden, welcher uns Larven sandte. Wir konnten

1) Atti d. Soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. 7. 1906. p. 1.

2) Atti d. Soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. 4. p. 3.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. p. 601.

4) Atti d. Soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. 7. p. 1. Bull. de la Soc. vaud. des sc. nat. Sér. 4. Vol. 39. p. 453.

noch nicht den ganzen Evolutivzyklus ermitteln. Wir beschrieben¹⁾, daß die Larven, welche man im Anfange des Frühlings in den Pfützen findet, sich nach 13 Tagen verpuppen, und daß sich diese Puppen nach 6 Tagen zu Imagines entwickeln. Wir hatten vermutet, daß die Eier auf den welken Blättern abgesetzt wurden und dort überwinterten, um dann bei der Schneeschmelze Larven zu geben, wenn die Blätter enthaltenden Vertiefungen des Bodens sich mit Wasser angefüllt haben. In der Tat kann man schon im Februar Larven in diesen Vertiefungen beobachten, die den Herbst und Winter über trocken lagen, und als wir die in diesen Vertiefungen gesammelten Blätter in Wasser stellten, erhielten wir *Mochlonyx*-Larven²⁾. Aber alle unsere Nachforschungen, die Eier dieser Art zu entdecken, waren bis jetzt erfolglos geblieben. Weibchen, im Walde gefangen, oder im Laboratorium entwickelt, und die in ein mit Gaze überzogenes Aquarium mit ♂ gestellt wurden, haben weder auf dem Wasser, noch auf den ins Aquarium auf Steine gestellten Blättern Eier abgesetzt. Kleine, mit Wasser gefüllte Gefäße, die monatelang im Walde neben den Pfützen aufgestellt blieben, enthielten nie Eier von *Mochlonyx*. Dieses Jahr fanden wir in einem zahlreiche Puppen und einige Tage später viele ♀ und ♂ von *Mochlonyx* enthaltenden Aquarium an der Oberfläche des Wassers ein Gelege blaßgelber Eier, $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ mm lang, unregelmäßig geordnet (Fig. 1). Mikro-

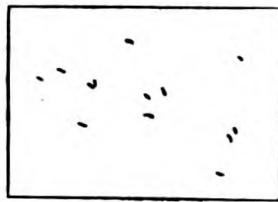


Fig. 1.

skopisch untersucht, zeigten sie sich leicht spindelförmig, die eine Seite konvex, die andere gerade oder schwach konkav.

Die Masse des Eies war körnig, von einem dunkleren Gelb in der Mitte als an den Extremitäten, welche viel heller schienen. Das ganze Ei war von einer durchsichtigen, sehr fein gestreiften Membran umgeben, die an beiden Polen breiter war. An der einen Extremität notierte man in der Membran eine sehr klar gezeichnete, kelchartige Kapsel (Fig. 2). Sind es nun wirklich *Mochlonyx*eier? Wir denken es, denn im Aquarium waren nur Puppen dieser Art, und im Abdomen eines Weibchens fanden wir noch nicht ganz reife Eier, die aber den an der Oberfläche des Wassers im Aquarium gefundenen Eiern sehr ähnlich waren. Leider konnten wir die Entwicklung dieser Eier nicht

Fig. 2.
Etwa 100× vergr.

1) Bull. de la Soc. vaud. des sc. nat. Sér. 4. Vol. 39. p. 453.

2) Atti d. Soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. 7. 1906. p. 1.

verfolgen, denn ein Teil davon diente zur mikroskopischen Untersuchung und der andere Teil versank im Wasser nach einigen Tagen, ohne sich zu entwickeln. Sehr wahrscheinlich haben diese Eier ein sehr lang dauerndes Inkubationsstadium, welches spezielle Bedingungen erheischt (feuchte Blätter), denn es gibt nur eine Generation im Jahre, nach der Schneemelze, und mit einer mittleren Wassertemperatur von $+12^{\circ}$, während die Imagines im Juni aus dem Walde verschwinden. Lefroy¹⁾ hat vorgeschlagen, um die Mücken zu vernichten, in alle dunkle Zimmerecken Schachteln von $0,30 \times 0,22$ m, innerlich mit grünem Wollstoff bezogen, anzubringen, dessen Klappdeckel ein kleines, mittels eines Schiebers verschließbares Loch hat. Die während des Tages ins Zimmer eingedrungenen Mücken flüchten sich in diese Schachteln, wenn Licht gemacht wird. Die Schachtel wird zugemacht und einige Tropfen Benzin hineingegossen; auf diese Weise kann man bis 2000 Mücken auf einmal töten. Wir machten einige Versuche betreffs dieses Vernichtungsmodus. Wir klebten an die Wände von Glasschachteln, welche viele Mücken enthielten, kleine Kartonschachteln mit 1—2 kleinen Oeffnungen an den Extremitäten. Wir bemerkten in der Tat, daß eine gewisse Anzahl *Culex*, hauptsächlich Weibchen, sich in die Schachteln begaben und dort den ganzen Tag versteckt blieben, um dann abends zum Vorschein zu kommen und in der Schachtel umherzufliegen. Die Methode Lefroys scheint uns somit einer Probe wert in denjenigen Häusern, die von Mücken stark belästigt werden, speziell in hell beleuchteten Zimmern, wo die Mücken keine andere dunkle Ecke als Versteck haben.

Der Schutz der Zimmer durch Drahtnetze gegen das Eindringen der Mücken hat hier und da Anlaß zu der Einwendung gegeben, die Drahtnetze würden die Ventilation des Zimmers verhindern. Einer von uns²⁾ hat schon bemerkt, daß in den Gegenden, wo die Mücken häufig sind, diejenigen, die davon nicht geplagt sein wollen, gezwungen sind, wenn keine Drahtnetze an den Fenstern und keine Mückennetze vorhanden, die Fenster zu schließen, und man somit vorziehen muß, die Ventilation durch Drahtnetze zu beeinträchtigen, als sie bei geschlossenen Fenstern ganz beiseite zu lassen. Letzthin hat Dörr³⁾ auch behauptet, daß, nachdem er in der Herzegovina an die Fenster eines Zimmers Draht von 0,75 mm Maschenweite anbringen ließ, dies eine unerträgliche Erhöhung der Temperatur zur Folge hatte, und somit das Anbringen eines kleinmaschigen Drahtnetzes, wie es der Schutz gegen *Ph. papatasii* benötigt, in warmen Ländern, wie die Süd-Herzegovina, abzuraten sei. Es schien uns interessant, einige Versuche anzustellen über die Temperaturunterschiede und die Ventilation in zwei Lokalen, von welchen das eine durch ein Netz geschützt war, und das andere nicht. Wir wählten daher in Orbe zwei Zimmerchen von annähernd gleichen Dimensionen (das beschützte maß $1,07 \times 2,80 \times 1,20$ m, das unbeschützte $1,30 \times 2,80 \times 1,80$ m), und nebeneinander stehend, nach Osten gerichtet, und jedes mit einem Fenster von 70×49 cm versehen. Nachdem wir einige Tage die Temperatur in beiden Zimmern beobachtet hatten, wurde das eine Fenster mit einem Gasenetze von 0,56 mm Maschenweite geschlossen (also viel kleinere Maschen, als die sonst gegen Mücken gebräuchlichen, die 1—1,5 mm

1) Journ. of trop. med. 1909. p. 60.

2) Therap. Monatsh. Januar 1906.

3) Das Pappataciefieber. Leipzig u. Wien 1909. p. 163.

maßen). Nachdem Thermometer bleibend in jedem Zimmer aufgehängt worden waren, fingen wir unsere Experimente am 7. Juni 1909 an. Die Temperaturen wurden morgens, mittags und abends gemessen. Aus dieser langen Reihe Beobachtungen konnten wir uns überzeugen, daß die Temperaturunterschiede zwischen dem netzbeschützten und dem unbeschützten Zimmer in einigen Tagen 2—3—3½° im Maximum betragen, d. h. daß die Temperatur im beschützten Zimmer um so viel Grade höher war. Wir machten auch Versuche mit dem Anemometer, um die Quantität der Luft zu ermitteln, welche durch das netzbeschützte und das unbeschützte Fenster eindrang. Bei geschlossenen Türen zeigte das Anemometer 7 m per 1' für beide Zimmer, während bei offener Türe es 30 m per 1' für das unbeschützte und 25 m per 1' für das beschützte Fenster angab. Es muß bemerkt werden, daß die Tür sich gegenüber dem unbeschützten Fenster befand und schräg zum beschützten Fenster stand. Aus diesen Versuchen dürfen wir annehmen, daß, wenigstens in unserem Klimas, Netze mit kleinem Maschen als die gegen Mücken gebräuchlichen, die Ventilation nicht aufheben und jedenfalls ihre Vorzüge die Nachteile der Nichtanwendung um so viel übertreffen (Mückenstich oder geschlossene Fenster, unmöglicher Schlaf, Verhindern jeglicher Lüftung), daß eine leichte Beeinträchtigung der Ventilation kein Hindernis für ihre Anwendung sein sollte. Wir wissen übrigens, daß die Netze in warmen Ländern auch sehr gute Dienste leisten. Man muß nur für zahlreichere Öffnungen in den Zimmerwänden sorgen, um die langsamere Ventilation zu ersetzen.

Lausanne, 1. November 1909.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf „Zur Frage der Eier von *Culex cantans*“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 545—546).

Von Dr. Adolf Eysell, Kassel.

Trotz des Einwandes von Galli-Valerio und Rochaz de Jongh, daß Blanchard auf p. 98—100 seiner „Moustiques“ von der Eiablage sämtlicher Angehörigen der Gattung *Culex* spräche, muß ich auf meiner Ansicht bestehen, daß er nur von *Culex pipiens* spricht. Blanchard bezieht sich in dem ganzen das *Culex*-Ei behandelnden Abschnitte unausgesetzt auf die klassischen einschlägigen Forschungen Réaumur's, und da dieser nur über die Eiablage von *Culex pipiens* geschrieben, kann auch Blanchard nur diese *Culex*-Art im Auge gehabt haben.

Galli-Valerio und Rochaz de Jongh schreiben dann weiter: „Was Theobald und Giles anlangt, daß diese die Opfer der Kritiklosigkeit Meigens gewesen sind, so geht uns dies nichts an.“ Diese Worte müssen naturgemäß bei jedem Leser die Meinung erwecken, daß ich in meiner Erwiderung (Bd. 50. p. 203) etwas gar nicht hierher Gehöriges und deshalb Ueberflüssiges vorgebracht habe. Nun sagte ich aber l. c.: „Theobald und Giles sind deshalb ebenso wie viele andere vor und nach ihnen, als sie, sorglos auf die Autorität des

„Vaters der Dipterologie“ bauend, dessen Worte über die ersten Stände der Gattung *Culex* direkt oder indirekt abschrieben, die Opfer der Kritiklosigkeit Meigens geworden“ — und diese Sätze gehen Galli-Valerio und Rochaz de Jongh wohl etwas an.

Galli-Valerio und Rochaz de Jongh fahren fort: „Wenn die Gattung *Mansonia* nebst der schon getrennten Gattung *Megarhinus* eine von den Culicinen getrennte Subfamilie bilden soll, muß unserer Behauptung, daß auch Culicinen einzelne Eier ablegen, noch größere Wichtigkeit zugesprochen werden.“ Diese „Behauptung von großer Wichtigkeit“ kam einige Jahre zu spät. Wie ich des öfteren in diesem Centralblatt hervorgehoben, haben lange vor Galli-Valerio und Rochaz de Jongh Göldi (1905) und ich (1905) das Gleiche gesagt; ersterer hat sogar in seinen „Mosquitos no Pará“ (1905) die einzeln abgelegten Eier von *Culex confirmatus* genauer abgebildet und besser beschrieben, als dies mehrere Jahre später den Eiern von *Culex cantans* widerfahren ist.

Galli-Valerio und Rochaz de Jongh bestehen auf ihrer Behauptung, daß *Culex nemorosus* seine Eier in Kähnchenform ablege, erfüllten aber meine Bitte, mir „*Nemorosus*-Kähnchen“ zu übersenden, nicht. Ich habe deshalb im Frühjahr 1909 wiederum eine große Zahl gravider *Nemorosus*-Weibchen im Gelände gefangen und in kleinen Aquarien laichen lassen. Am 7. Juni v. J. hatten dann Prof. Dr. Carl Mense und am 8. Juni Sanitätsrat Dr. Ludwig Weber, ein Entomologe von Ruf, die Güte, sich persönlich davon zu überzeugen, daß die *Culex nemorosus*-Eier einzeln abgelegt werden.

Galli-Valerio und Rochaz de Jongh schreiben weiter: „In seiner ersten Kritik sagt Eysell (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 717) von unserer Beschreibung der Eier von *Culex cantans* schreibend: Nicht „Luftkammerchen“, wie Galli-Valerio und Rochaz de Jongh annehmen, trennen das Chorion vom Exochorion bei den Stechmücken, welche sich aussiphontragenden Larven entwickeln, sondern eine wasserhelle, schleimige Masse verbindet lückenlos die beiden Häute.“ Aber da wir schrieben (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 130): „Das Ei scheint von einer hellen, buckeligen Haut umgeben zu sein, die hauptsächlich an den Rändern zu sehen ist, wo sie eine Reihe (!) Luftkammerchen zu bilden scheint, die dem Ei das Schwimmen ermöglichen“, faßten wir den Satz Eysells (der ein halbes Jahr später ausgesprochen wurde) „auf als eine Verneinung des Vorhandenseins der Luftkammerchen, die als eine „wasserhelle, schleimige Masse usw.“ zu betrachten wäre. Ist dem nicht so, so sind wir bereit, die Unrichtigkeit unserer Auffassung zu bekennen.“

Weshalb nun diese geschraubte und unklare Ausdrucksweise? Warum steht hier nicht einfach: „Wir haben uns geirrt — und bei einem so einfachen Objekte hätte dieser Irrtum nicht vorkommen können und dürfen, wenn wir bei unseren Untersuchungen vorsichtiger und mit etwas größerer Sorgfalt und Genauigkeit verfahren wären.“

Ich hielt mich im Interesse der heute so außerordentlich wichtig gewordenen Stechmückenbiologie für berechtigt und verpflichtet, die Irrtümer von Galli-Valerio und Rochaz de Jongh zu berichtigen, und dies ist in durchaus objektiver und sachgemäßer Weise meinerseits

geschehen. Die ganze leidige Kontroverse wäre unnötig gewesen, wenn Galli-Valerio und Rochaz de Jongh sich mit der einschlägigen Literatur so vertraut gemacht hätten, wie man es von jedem Autor verlangen muß, der auf den Ehrentitel eines gewissenhaften und ernst zu nehmenden Forschers Anspruch erhebt — und doppelt dann, wenn es ihm so leicht gemacht wird, dieser Forderung nachzukommen, wie Galli-Valerio und Rochaz de Jongh im gegebenen Falle.

Nachdruck verboten.

Les murides infectés avec le virus fixe de Sassari par voie sous-cutanée meurent absolument de rage.

Par le Dr. S. Lumbau.

Galli-Valerio¹⁾ dans un récent travail écrivait:

„Mes expériences démontrent que dans plusieurs cas l'inoculation sous-cutanée de virus fixe de Sassari, tout en déterminant chez les animaux des formes paralytiques, ne déterminent pas la rage, mais une forme fort analogue à celle qui a été observée plusieurs fois chez les personnes soumises au traitement Pasteur après morsure.“

„Il s'agit ici très probablement de formes paralytiques par intoxication, analogues à celles qu'on observe au cours du traitement antirabique après morsure.“

„Il est probable que dans des virus fixes très actifs, tels que celui de Sassari, cette substance toxique soit plus active ou en plus grande quantité et son action se manifeste dans les inoculations sous-cutanées à cause de la quantité plus grande de virus inoculée ($\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$ c. c.) en comparaison de celle qu'on inocule dans le cerveau (une petite goutte), et peut-être à cause du fait que cette substance toxique est plus facilement absorbée par la voie sous-cutanée que le virus rabique lui-même.“

Fermi²⁾ répondit ce qui suit:

„Maintenant s'il est vrai que quelquefois il se fait que le système nerveux des murides morts en suite de l'infection sous-cutanée de virus fixe donne un résultat négatif injecté par voie sous-cutanée à des autres murides, je ne peux pas accepter la théorie de l'intoxication de Galli-Valerio, pour les raisons suivantes:

„1. Parce que, comme il a observé Galli-Valerio lui-même, on obtient aussi de résultats positifs, tandis que l'on les devrait obtenir toujours négatif, spécialement parce que les symptômes sont identiques en tous les cas.

„2. Parce que l'encéphale de lapins et de chiens infectés de virus fixe par voie sous-cutanée est toujours infectif.

„3. Parce qu'avant d'expliquer la mort, en admettant une intoxication, on se devrait assurer, ce que n'a pas encore été fait, que nul partie du système nerveux de ces murides soit infectif. Il pourrait très bien se faire que le virus se localise, en ces cas, dans un point différent de celui choisi pour l'expérience.

1) Galli-Valerio, B., Recherches expérimentales sur la rage des rats. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 3.)

2) Fermi, C., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1909.

Un travail que j'ai fait sur la virulence des différentes parties du système nerveux démontre qu'il y a de grandes différences à ce regard même chez les animaux infectés par voie subdurale.

„4. Parce qu'outre de n'avoir observé aucune différence dans les symptômes entre les murides qui ont présenté l'encéphale avirulent de ceux qui l'ont présenté virulent, on observe le fait bien plus important que la période d'incubation est identique soit chez les murides tués par le virus rabique soit chez ceux qui, selon Galli-Valerio, seraient tués par la prétendue toxine.

„Je crois qu'il semblera un peu improbable à tout le monde que 100 ou 200 murides, p. ex., doivent mourir avec les symptômes de la rage tous entre la 6^{ème} et la 7^{ème} journée; au moindre je ne me rappelle pas une toxine qui se comporte ainsi.

„5. Généralement la période d'incubation des toxines est en relation avec la quantité de la toxine même; ici, au contraire, soit avec une qu'avec mille doses d'hypothétique toxine rabique, la période d'incubation ne varierait pas.

„6. Le virus fixe de Sassari, selon Galli-Valerio devrait contenir une toxine qui supérioriserait la plus puissante des toxines existantes, c'est-à-dire la toxine tétanique; en effet le virus fixe de Sassari peut tuer les animaux dans la dilution de 1 : 60 000—70 000.

„7. Le virus fixe de Sassari tue déjà dans la dilution de 1 : 60 000—70 000; vice-versa une quantité de 50 et même de 90 c. c. d'une émulsion à 10% est tolérée impunément si le virus est soumis à un léger dessèchement pendant trois jours ou si l'on lui additionne de l'acide phénique à 1%. Or, soit le dessèchement très léger et l'addition de l'acide phénique, ne peuvent pas avoir détruite la toxine. De l'acide phénique au contraire on s'en sert pour conserver plusieurs d'elles mêmes. Puis on doit observer que la moëlle soumise au dessèchement pendant 3 jours si elle ne tue plus par voie sous-cutanée, elle est encore virulente par voie subdurale.

„8. Expérimentalement la toxine rabique n'a pas encore été démontrée. Même dans le récent traité sur la rage par Marie, à la p. 245 on lit:

„La présence de la toxine rabique n'a pas encore été démontrée par la méthode expérimentale, et la plupart des accidents qui ont été attribués à cette toxine peuvent tout aussi bien relever des poisons qui entrent dans la composition chimique de la substance nerveuse.“

Une telle importante question méritait d'être résolue. J'instituai pour cela une série de recherches pour décider avant tout, si le système nerveux de murides morts de rage en suite à l'infection sous-cutanée de virus fixe était ou non virulent.

A ce but j'infectais un bon nombre de murides par voie sous-cutanée soit avec virus fixe soit avec virus de rue et après leur mort j'essayais la virulence du système nerveux central d'eux-mêmes. Cette virulence fut essayée non seulement par voie sous-cutanée chez les murides mais même par voie subdurale chez les lapins.

Puis si j'aurais trouvé avirulent le système nerveux central j'aurais essayé (quoique avec peut d'espoir de succès) même d'autres parties du système nerveux tel que les ganglions intervertébraux et les nerfs épinières.

Dans le suivant tableau sont réunies les expériences instituées à ce propos:

Date 1909	Espèce d'animaux en expérience	Voie d'infection	Substance infectante	Résultat	
				Date de paralysie	Date de la mort
A. Virus fixe.					
27 août	rat 1	sous-cut.	cerveau de rat, virus fixe	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	3. 9. 7 " " "
8 oct.	rat 1	sous-cut.	cerveau de rat, virus fixe	13. 10. 7 h. du matin	14. 10. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	13. 10. 7 " " "	14. 10. 7 " " "
"	" 1	"	" " " " " "	13. 10. 7 " " "	14. 10. 7 " " "
27 août	rat 1	sous-cut.	cerveau de souris, vir. fixe	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	3. 9. 7 " " "
8 oct.	souris 1	sous-cut.	cerveau de souris, vir. fixe	13. 10. 7 h. du matin	14. 10. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	13. 10. 7 " " "	14. 10. 7 " " "
"	" 1	"	" " " " " "	13. 10. 7 " " "	14. 10. 7 " " "
"	" 1	"	" " " " " "	13. 10. 7 " " "	14. 10. 7 " " "
27 oct.	rat 1	sous-cut.	moëlle épin. de rat, v. fixe	3. 9. 7 h. du matin	4. 9. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	4. 9. 7 " " "
27 oct.	rat 1	sous-cut.	moëlle épin. de souris, v. fixe	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	3. 9. 7 " " "
27 août	lapin 1	subdurale	cerveau de rat, virus fixe	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	3. 9. 7 " " "
27 août	cobaye 1	subdurale	cerveau de rat, virus fixe	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	3. 9. 7 " " "
27 août	lapin 1	subdurale	cerveau de souris, vir. fixe	3. 9. 7 h. du matin	après 12 heures
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
27 août	lapin 1	subdurale	moëlle épin. de rat, v. fixe	4. 9. 7 h. du matin	4. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	4. 9. 7 " " "	4. 9. 7 " " "
27 août	cobaye 1	subdurale	moëlle épin. de rat, v. fixe	3. 9. 7 h. du matin	3. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	3. 9. 7 " " "
27 août	lapin 1	subdurale	moëlle épin. de souris, v. fixe	4. 9. 7 h. du matin	4. 9. 7 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	4. 9. 7 " " "	4. 9. 7 " " "
12 oct.	lapin 1	subdurale	cerveau de rat, virus fixe	17. 10. 7 h. du matin	18. 10. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	" " " " " "	" " " " " "
12 oct.	lapin 1	subdurale	cerveau de rat, virus fixe	17. 10. 7 h. du matin	18. 10. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	17. 10. 7 " " "	18. 10. 7 " " "
13 oct.	lapin 1	subdurale	cerveau de rat, virus fixe	18. 10. 7 h. du matin	19. 10. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	18. 10. 7 " " "	19. 10. 7 " " "
14 oct.	lapin 1	subdurale	cerveau de rat, virus fixe	21. 10. 7 h. du matin	21. 10. 7 h. du matin
"	" "	"	" " " " " "	21. 10. 7 " " "	21. 10. 7 " " "
B. Virus de rue.					
19 août	rat 1	sous-cut.	cerveau de rat, vir. de rue	27. 8. 7 h. du matin	27. 8. 5 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	3. 9. 7 " " "	4. 9. 11 h. du matin
19 août	souris 1	sous-cut.	cerveau de rat, vir. de rue	7. 9. 7 h. du matin	7. 9. 4 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	7. 9. 7 " " "	7. 9. 4 " " "
"	" 1	"	" " " " " "		survécu
27 sept.	rat 1	sous-cut.	cerveau de rat, vir. de rue	7. 9. 10 h. du matin	8. 9. 7 h. du matin
"	" 1	"	" " " " " "	7. 9. 10 " " "	8. 9. 7 " " "
27 sept.	cobaye 1	subdurale	cerveau de rat, vir. de rue	7. 9. 7 h. du matin	8. 9. 7 h. du matin
19 août	rat 1	sous-cut.	moëlle épinière de rat	27. 8. 7 h. du matin	27. 8. 5 h. du soir
"	" 1	"	" " " " " "	7. 9. 7 " " "	7. 9. 4 " " "

Date 1909	Espèce d'animaux en expérience	Voie d'infection	Substance infectante	Résultat	
				Date de paralysie	Date de la mort
19 août	souris 1	sous-cut.	moëlle épinière de rat	7. 9. 7 h. du matin	7. 9. 4 h. du soir
"	" 1	"	" " " "	7. 9. 7 " " "	7. 9. 4 " " "
"	" 1	"	" " " "		survécu
27 août	rat 1	sous-cut.	moëlle épinière de rat	7. 9. 7 h. du matin	8. 9. du soir
"	" 1	"	" " " "	7. 9. 7 " " "	8. 9. " "

Résultats: De ce tableau il résulte que soit le cerveau soit la moëlle épinière de murides morts en suite à l'infection sous-cutanée de virus fixe ou de virus de rue on les a trouvées presque toujours virulents. En effet tous les animaux, rats, lapins et cobayes en nombre de 50 inoculés soit par voie subdurale soit par voie sous-cutanée avec le cerveau ou avec la moëlle épinière en question, moururent de rage sans retard dans la période d'incubation. Deux seulement se sauvèrent, mais inoculés avec le cerveau d'un rat infecté de virus de rue.

Donc l'étrange phénomène exceptionnel observé par Galli-Valerio tombe ensemble à la théorie que lui a avancée pour expliquer le même, car le système nerveux central des murides morts à la suite de l'infection sous-cutanée de virus fixe ou de virus de rue est virulent comme celui des lapins, des cobayes et des chiens dans les mêmes conditions.

Nachdruck verboten.

Ueber massenhaftes Vorkommen von zur Familie der Tyroglyphidae gehörenden Milben im menschlichen Stuhl.

[Aus der Dermatologischen Universitätsklinik in Bern (Direktor: Prof. Jadassohn).]

Von Dr. Tjèche,

Chefarzt am Sanatorium Montana in Davos-Dorf.

Mit 2 Figuren im Text.

Während Milben als Ektoparasiten des Menschen schon seit den ältesten Zeiten bekannt waren, enthält auch die neuere medizinische Literatur nur wenige Angaben, welche einen Entoparasitismus derselben glaubhaft machen. Bei Tieren ist in den letzten Jahren eine ganze Reihe entoparasitisch lebender Milben bekannt geworden: so der *Cytoleichus sarcoptoides* in den Luftröhren des Huhnes, die *Halarachne halichoeri* auf der Nasenschleimhaut einer Robbe, der *Pneumonyssus semicolo* aus der Lunge von *Cynocephalus* etc.¹⁾ Es ist also ein Entoparasitismus von Milben beim Menschen vom zoologischen Standpunkt aus nicht als unwahrscheinlich zu betrachten.

1) Braun, Tierische Parasiten des Menschen. 1903. p. 335.

Von Trouessart (resp. Hector) wurden 1899 in der Punktionsflüssigkeit einer 6 Jahre alten Cyste am Hoden reichlich Milben gefunden¹⁾ und zwar Männchen, Weibchen und Larven.

Der Fall ist gut studiert und ein Irrtum nicht wohl denkbar. Jedenfalls sind bei einem früheren Katheterismus Parasiten in die hintere Harnröhre gelangt und von dort Eier- oder Larvenformen ins Vas deferens und in den Hoden geraten. Die in der Punktionsflüssigkeit gefundene Milbe gehört zur Familie der Tyroglyphidae, *Histiogaster entomophagus* Laboulbène subsp. *spermaticus*, und ist nahe verwandt mit den Milben, deren Entoparasitismus im Darme ich zu beweisen versuchen werde.

Von H. Miyake u. J. Scriba²⁾ ist ein Fall von Milbenentoparasitismus beschrieben worden, der mir aber nicht einwandfrei zu sein scheint. Die Verfasser fanden bei einem an Fibrinurie leidenden Japaner tote Milben im Urin, im Spülwasser und in dem durch den Katheter entleerten Urin. Es ist in diesem Falle der Beweis eines Entoparasitismus der Milben nicht erbracht, denn es besteht die Möglichkeit, daß sie primär durch einen verunreinigten Katheter eingeführt und daß die toten Milben dann erst nach und nach entleert wurden.

Es ist also die Annahme, daß die Milben aus der Niere stammten, wie die Autoren glauben, wohl möglich, aber in keiner Weise bewiesen.

Von Disse³⁾ findet sich ferner noch der eigenartige Befund einer eingekapselten Milbe in der Wand der Vena cava. Auch Marpmann berichtet über eine Acarine im Urin eines an Nephritis leidenden Menschen⁴⁾.

Was das Vorkommen von Milben in menschlichen Stühlen anbelangt, so ist darüber recht wenig in der medizinischen Literatur niedergelegt. Von Huber⁵⁾, Braun⁶⁾ und anderen wird das gelegentliche Vorkommen von *Tyroglyphus longior* und *siro* und *Glyciphagus prunorum* in menschlichen Stühlen erwähnt. Ich fand aber nirgends eine eingehendere Beschreibung solcher Fälle, besonders was die Dauer der Ausscheidung der Milben betrifft, oder eingehendere Berichte über Krankheitssymptome, welche entweder auf die Parasiten oder auf die von ihnen verdorbenen Nahrungsmittel zurückgeführt werden könnten. Auch Marpmann erwähnt nur (l. c.), daß „die Milben sehr widerstandsfähig sind und auch im Magen und Darm vorübergehend wohnen können“.

Mündliche Erkundigungen auf Kliniken, wo häufig Stuhluntersuchungen gemacht werden, führten mich zu der Ueberzeugung, daß die hier zu berichtenden Stuhlbefunde recht oder sogar außerordentlich selten sein müssen.

Die folgenden Tatsachen bilden daher einen interessanten Beitrag zur Aufklärung dieser Materie. Die Milbe, die ich im Stuhle fand, gehört

1) Trouessart, Faux parasitisme d'une espèce de sarcopt. détricole dans un kyste du testicule chez l'homme. (Compt. rend. Soc. biol. Paris. T. 7. 1900. p. 742, 893.) Vgl. auch: Trouessart, Endoparasitisme accidentel etc. (Arch. de Parasit. T. 5. 1902. p. 449.)

2) Miyake, H., und Scriba, J., Vorläufige Mitteilung über einen neuen Parasiten des Menschen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1893. No. 16, p. 374.)

3) Zitiert nach Braun, Tierische Parasiten. 1903. p. 335.

4) Marpmann, Ueber das Vorkommen von Milben im Harn. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. p. 304.)

5) Bibliographie der klinischen Entomologie. Jena. Heft 2. Milben. cf. hier weitere Literatur.

6) Braun, l. c.

zur Familie der Tyroglyphidae und stimmt am besten mit *Tyroglyphus longior* überein. Zwei braune Flecke auf dem Abdomen, gelbliche Farbe (Näheres auf der Abbildung) charakterisieren diese Species. Es fanden sich sowohl männliche wie weibliche Individuen und unter den letzteren solche in voller Eiproduktion, auch Larvenformen und Eier. Lebenszeichen konnte ich bei keiner dieser Milben mit Sicherheit feststellen. Doch war ihr Erhaltungszustand meist ein vorzüglicher; zerfallene Milben, Bruchstücke solcher bildeten die Ausnahme. Bei Stuhluntersuchungen Hautkranker auf der dermatologischen Klinik in Bern (1905) bemerkte ich zum ersten Male reichlich Milben im Stuhle eines

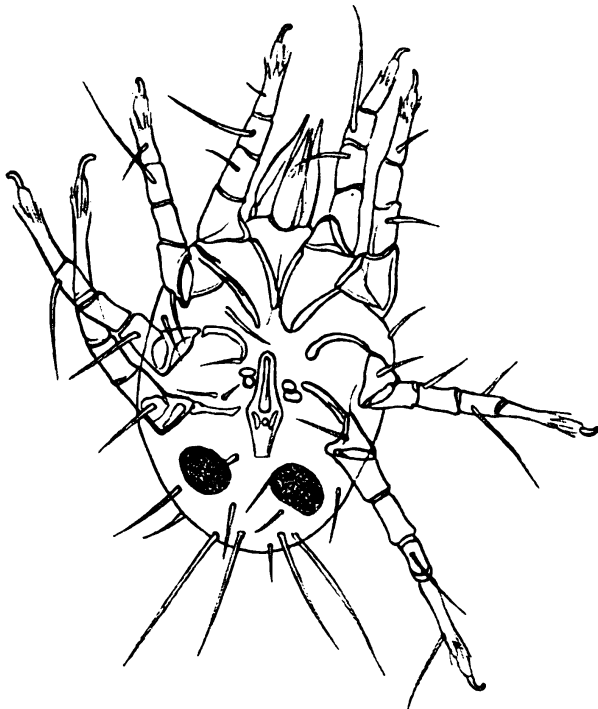


Fig. 1. Männliche Milbe.

an Prurigo Hebrae leidenden zehnjährigen Knaben (I.). Es fanden sich am 23. Sept. 05 in allen Stühlen die eben beschriebenen Parasiten. 24. Sept. id. 25. Sept. nach längerem Suchen id. 26. Sept. vereinzelte Milben - Eier, 27. Sept. wieder reichlich Milben, männliche, weibliche und Larvenformen. 28. Sept. id. 30. Sept. id. 1. Okt. Einige Eier und Bruchstücke einer Milbe.

Vom 3. Okt. an fanden sich trotz genauer Stuhluntersuchungen keine Milben mehr im Stuhle.



Fig. 2. Milbeneier.

10. Okt. trat Patient symptomlos aus dem Spital.

7. Febr. 06. Wiedereintritt. Wieder Erscheinungen von Prurigo Hebrae. Bei genauen Stuhluntersuchungen fanden sich keine Milben mehr im Stuhle.

15. März 1906. Aus der Spitalbehandlung entlassen. Seither kam Patient nie mehr in meine Beobachtung.

Es fand sich also während ca. 10 Tagen bei genauen Untersuchungen immer die nämliche Milbenart.

Zu gleicher Zeit konstatierte ich bei einem zweiten Fall von Prurigo Hebrae (mitis) eine Stuhlmilbe am 24. Sept. 05 nach langem Suchen. Hingegen fehlten bei einem anderen Fall von Prurigo Hebrae und einem Falle von „Prurigo diathésique“ trotz genauer Stuhluntersuchungen Milben und Milbeneier. Die sofort unternommenen Kontrolluntersuchungen an zwei anderen Kindern des nämlichen Krankenzimmers ergaben absolut nichts von Milben im Stuhle.

Ich reiste am 15. Okt. 05 nach Biel und sah mir die Wohnung des Patienten I genauer an. Dabei fand sich bei zwei Geschwistern des

Erkrankten Scabies. Sonst aber war nichts zu eruieren, was auf eine Milbeninvasion hindeutete¹⁾).

Am 16. Okt. 05 wurde die Schwester von Patient I aufgenommen. Am 27. Okt. fanden sich auch bei ihr reichlich Milben und Milbeneier. Letztere konnten bis 7. Nov. beobachtet werden. Also 11 Tage hindurch wies auch diese Patientin den nämlichen Stuhlbefund auf wie ihr Bruder, aber ohne irgendwelche Zeichen einer Prurigo Hebrae. Es fanden sich aber später noch bei weiteren gründlichen Stuhluntersuchungen bei einem Falle von Scabies mit hartnäckigem parasitären Ekzem vereinzelt Milbeneier im Stuhle. Bei einem anderen Falle sah ich nach langem Suchen eine Milbe.

Beobachtungsreihe I.

2 Fälle von Prurigo Hebrae	Milben +
1 Fall " "	Milben —
1 Fall " " diathésique	Milben —
2 Fälle von Scabies	Milben +
1 Fall mit paras. Ekzem bei Scabies	Milben +

Kontrolluntersuchungen bei Kindern der betreffenden Abteilung sonst immer negativ.

Eine weitere Beobachtung ähnlicher Natur machte ich 1909 als Kurarzt in Seewis.

Vom 3. August bis 5. Sept. behandelte ich ein 10-jähriges Mädchen mit schwerer Prurigo Hebrae. Bei gründlicher Stuhluntersuchung am 3. Okt. fanden sich zunächst nur verdächtige Eier (nebst *Trichocephalus dispar* und Ascarideneiern). Weiterhin entdeckte ich eine weibliche Milbe in voller Eierproduktion und reichlich Larvenformen. Nämliche Beobachtung am 4. In jedem Präparate 4 bis 5 Milben nebst Eiern etc.

Am 5. begab ich mich in die Wohnung des Patienten und ließ mir zwei Stühle von Hausbewohnern, welche annähernd unter gleichen Bedingungen lebten, bringen. In der Wohnung selbst war nichts, was auf eine Milbeninvasion hindeutete, zu bemerken.

Die Stühle beider Hausbewohner enthielten Eier von *Trichocephalus dispar*, *Ascaris lumbricoides*, Eier von Milben und in jedem Präparate fanden sich 4 bis 5 Milben. Bei Kurgästen fehlten Milben im Stuhle vollkommen.

Eine weitere Verfolgung dieser Untersuchungen war mir leider unmöglich, da ich noch am 5. Seewis verlassen mußte.

Das einzige, was mir auffallend erschien, war, daß die Bewohner angaben, reichlich älteren Käse²⁾ als Nahrung zu genießen. Es ist eine längst bekannte Tatsache, daß Milben in solchem massenhaft vorkommen, und daher ist es sehr wahrscheinlich, daß bei (wiederholter?) Zufuhr von Milben einige Milbeneier irgendwo im Darm liegen bleiben, sich dort weiter entwickeln und so ein vorübergehender Entoparasitismus entstehen kann. Die primäre Ursache dieser Milbenbefunde sind also wahrscheinlich milbenhaltige Nahrungsmittel. Daß die Milben im Stuhl lebend waren, dafür spricht die Tatsache, daß sie ausgezeichnet erhalten waren, daß Männchen, Weibchen in Eierproduktion, larvenartige Exemplare, welche im Begriffe waren, die Eihüllen zu durchbrechen,

1) Ludwig, Milben als Hausungeziefer. (Leipziger illustr. Zeitung. 1909. p. 226.) Ludwig, Milbenplage der Wohnungen. Leipzig 1904.

2) Maurizio, Zur Lebensweise der Milben etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 15. 1906.) Küchenmeister-Zürn berichtet von Darmkatarrhen durch sog. „Milbenkäse“.

und Eier sich in großer Zahl, Bruchstücke von Milben aber im ganzen sehr selten fanden. Wenn Milben, welche mit der Nahrung eingeführt werden, der Magen-Darmverdauung widerstehen und morphologisch vollkommen erhalten im Stuhle erscheinen könnten, so müßten solche Befunde sehr häufig gemacht werden, da ja Milben oft in ungeheurer Zahl auf Pflanzen, Getreide etc. vorkommen, und es wäre dann in der Literatur sicher darüber berichtet worden. Auch die Tatsache, daß die Milben viele Tage hindurch ausgeschieden wurden, spricht für ihre Lebensfähigkeit. Das Fehlen von Lebenszeichen lag wohl daran, daß ich meist in 40 Proz. Kalilauge untersuchte. Man könnte eventuell auch daran denken, daß die Milben im Stuhl mechanisch abgetötet werden. Das Verschwinden der Milben nach einer Anzahl von Tagen kann aber wohl nur darauf beruhen, daß sie sich auf die Dauer den im Darm herrschenden Lebensbedingungen nicht anpassen können und absterben.

Auffallend ist die Tatsache, daß ich bei zwei Fällen von Prurigo in Bern und bei einem in Seewis die Milben fand — was bei der relativen Seltenheit der Prurigo in der Schweiz den Gedanken an eine kausale Bedeutung dieser Befunde wachrufen könnte. Aber es ist dabei zu bedenken: einmal daß ein Prurigorezidiv bei dem einen Kinde auftrat, ohne daß wieder Milben vorhanden waren, daß Milben auch bei Scabiesfällen sich fanden, bei anderen Prurigofällen aber vermißt wurden. Ob sie trotzdem eine Art provozierender Wirkung auf Prurigokranke haben können (es ist ja bekannt, daß die Prurigo im Spital oft spontan heilt und zu Haus schnell wieder rezidiert), könnte natürlich erst nach langen weiteren Untersuchungen festgestellt werden¹⁾.

Sonstige klinische Erscheinungen, welche durch die Milbeninvasion hätten erklärt werden können, speziell solche am Gastrointestinaltrakt habe ich nie konstatieren können. Alle Patienten wiesen ein gutes Allgemeinbefinden auf. Die hier und da in der Literatur gemachte Angabe, daß Milben oder Nahrungsmittel, die Milben enthalten, gastrointestinale Störungen herbeiführen, kann ich also nicht bestätigen.

Aus dem oben Gesagten kann man, glaube ich, folgende Schlüsse ziehen:

I. Durch die zwei Beobachtungsserien ist bewiesen, daß zur Familie der Tyroglyphidae gehörende Milben als vorübergehende Darmbewohner (Entoparasiten) vorkommen können.

II. Trotzdem die von mir erhobenen Befunde 3 Pruriginöse betreffen, ist die Annahme, daß Milben für die Prurigo eine kausale Bedeutung haben, nicht wahrscheinlich. Ob sie gelegentlich eine provozierende Bedeutung haben können, muß ich dahingestellt sein lassen.

III. Andere Krankheitssymptome wurden bei den Trägern der Milben nicht beobachtet.

1) Eisermann (zit. nach Maurizio, l. c. p. 622) gibt an, daß mit Milben besetzte Futtermittel bei Tieren Verdauungsstörungen und auch Hautausschläge hervorrufen.

Nachdruck verboten.

L'hyperémie à la Bier dans le traitement local de l'infection rabique.

Par le Doct. Umberto Cano (Suez).

Les très bons résultats obtenus par le prof. Fermi dans le traitement local de l'infection rabique par moyen de l'hyperémie à la Bier m'ont poussé à instituer quelques recherches pour comparer l'efficace de cette méthode à celle du fer ardent.

Je référerai avant tout les résultats obtenus à ce propos par Fermi :

„Fermi institua à ce propos 12 expériences: 10 sur 26 rats, une sur 5 lapins et une autre sur 7 chiens. En tout 36 animaux.

„Méthode de recherche. On appliqua la bande élastique sur le membre infecté quelque centimètres plus haut du point d'infection après un nombre d'heures variable en l'y laissant pour un certain temps. A l'égard de la pression exercée par la bande élastique on eut soin que celle-ci ne donne trop de peine et ne procure pas le refroidissement du membre.

„Résultat. Avec l'application de la bande élastique soit subitement après l'infection, soit après 1—2—3—4 heures et en l'y laissant pendant 12—5 et même une heure seulement on réussit à sauver non seulement tous les 32 rats sans exception mais aussi les lapins et les chiens. Les témoins moururent tous.

„Des lapins soumis à l'hyperémie à la Bier s'en sauvèrent 3:4; de ceux traités avec le fer ardent s'en sauvèrent 2:4, tandis que les témoins moururent tous les deux.“

„L'hyperémie à la Bier, donc, obtenue par moyen de la bande élastique appliquée 5 heures après l'infection aurait donné des résultats meilleures du même fer ardent.“

Méthode suivie dans mes recherches. La méthode de recherche fut à peut-être celle suivie par Fermi.

C'est-à-dire j'injectai 0,5—1 c. c. d'une émulsion centesimale de virus fixe dans le membre et après 4—5 heures j'appliquai à une moitié des animaux la bande élastique pendant 5—12 heures et je cautérisai profondément à l'aide du fer ardent la blessure de l'autre moitié des animaux.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant.

A. Hyperémie à la Bier.

Dates	Animaux en expériment	Application de la bande élastique		Résultat
		temps après l'infection	durée de l'application	
10 juillet 1909	lapin	4 heures	5 heures	survécu
id.	„	4 „	5 „	„
„	„	4 „	5 „	„
„	„	5 „	5 „	meurt de rage avec un retard de 3 jours
„	„	5 „	12 „	survécu
„	„	5 „	12 „	„
11 juillet 1909	chien	4 „	8 „	„
id.	„	4 „	5 „	„
„	„	4 „	5 „	„

B. Cautérisation à l'aide du fer ardent.

Dates	Animaux en expériment	Application du fer ardent après	Résultat
12 juillet 1909	lapin	4 heures	survécu
id.	"	4 "	"
"	"	4 "	meurt de rage
"	"	5 "	survécu
"	"	5 "	meurt de rage avec un retard de 2 jours
"	"	5 "	meurt de rage avec un retard d'1 jour
13 juillet 1909	chien	5 "	meurt de rage
id.	"	5 "	survécu
"	"	5 "	meurt de rage avec un retard de 4 jours

Conclusions. Comme l'on voit de ce tableau, dans les dites conditions d'expériment le traitement local de l'infection rabique par moyen de l'hypéremie à la Bier fut absolument supérieur à la cautérisation par moyen du fer ardent. En effet tandis que des animaux (lapins et chiens) traités avec la bande élastique appliquée 4—5 heures après l'infection et pour la durée de 5—12 heures, s'en sauvèrent 8 : 9, c'est-à-dire 88 %; de ceux traités avec le fer ardent s'en sauvèrent seulement 5 : 9, c'est-à-dire 55 %.

Nachdruck verboten.

Die Vererbung der Vaccineimmunität.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.]

Von Privatdozent Dr. **Karl Süpfle**,

I. Assistenten am Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Bekanntlich besitzen viele Tierarten eine hohe Empfänglichkeit für gewisse Infektionskrankheiten. Eine solche fast universelle Disposition finden wir beim Menschen gegenüber den Pocken.

Die Empfänglichkeit für Variola ist zwar bei den einzelnen Individuen eine verschieden große, aber doch allen eine gemeinsame; ja, „vor den Pocken ist der Mensch sogar im Mutterleib nicht sicher“. Andererseits kommt eine angeborene Resistenz gegenüber Variola, wenn auch nur sehr selten, zweifellos vor. In der älteren Pockenliteratur sind verschiedentlich solche Beobachtungen von völliger Immunität erwähnt, auch manche Aerzte, die sich dieser Eigenschaft erfreuten, namhaft gemacht. Nach verschiedenen Zahlenangaben soll die angeborene Immunität gegenüber spontaner Variola vera 1—7,6 Proz. betragen. Interessant ist, daß sich im Gegensatz dazu gegenüber der Variola inoculata nur 0,08 Proz. der Inokulierten als refraktär erwiesen. Ganz entsprechend diesen Zahlen für die inokulierte Variola verhält sich die angeborene Immunität gegen Vaccine: L. Pfeiffer¹⁾ berechnet die

1) Pfeiffer, L., Die modernen Immunitätslehren und die Vaccination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43. p. 426.)

Zahl der dreimal erfolglos Vaccinierten auf 0,08 Proz. der Erstimpflinge und 0,77 Proz. der Revaccinanden.

Worauf beruht die angeborene Immunität gegen den Variolavaccineerreger?

Wenn wir bei einer normalerweise für ein bestimmtes Virus empfänglichen Species eine angeborene Immunität beobachten, so kann diese auf zwei Arten entstanden sein. Entweder: die Mutter erkrankt während der Gravidität, und der Fötus macht diese Erkrankung intrauterin mit; er kommt dann mit einer aktiv erworbenen Immunität zur Welt. Oder: die Mutter ist bereits immun oder wird es während der Gravidität; der Fötus erhält mit dem Placentarblut die mütterlichen Schutzstoffe, er wird also passiv immunisiert; daneben kann noch eine Mitgabe der Antikörper an das saugende Kind durch die Milch in Betracht kommen.

Aktive Erwerbung der Immunität in utero liegt vor, wenn das Kind einer pockenkranken oder an Pocken genesenen Mutter mit Pockenpusteln oder -narben bedeckt zur Welt kommt. Gebärt dagegen eine pockenranke oder -genesene Mutter ein gesundes Kind, das keinerlei Zeichen von Pocken aufweist, dann sind folgende Fälle möglich und beobachtet: 1) Das Kind hat intrauterin Variola „sine exanthemate“ durchgemacht — ist also aktiv immunisiert; 2) das Kind ist passiv immunisiert; 3) das Kind ist empfänglich geblieben.

Bei der Vaccine können wir theoretisch, da das Vaccinevirus nicht in den allgemeinen Kreislauf übergeht, keine intrauterin erworbene aktive Immunität, sondern nur die Vererbung einer passiven Immunität erwarten.

Während die durch intrauterine Absolvierung der Pocken erzeugte angeborene Variolaimmunität nach Analogie mit dem gewöhnlich erst im extrauterinen Leben erworbenen Schutz verständlich erscheint, bedarf der Vorgang der passiven Immunisierung einer besonderen Besprechung.

Im folgenden soll uns daher die Frage beschäftigen, welchen Anteil die Vererbung der Immunität bei der Erscheinung der angeborenen Variolavaccineimmunität ausmacht.

Bei der Variola humana sind wir in dieser Frage auf die in der Literatur niedergelegten Erfahrungen der früheren Pockenzeiten angewiesen.

Angaben, die sich im Sinne einer Vererbung der Pockenimmunität verwerten lassen, finden sich verschiedentlich in die alte Pockenliteratur eingestreut. Schon Jenner sprach davon, daß Kinder immunisierter Eltern einen leisen Grad von Immunität besitzen; viele Autoren haben direkt behauptet, für Kinder pockengeschützter Eltern hätte die Variola durchaus nicht die gewöhnliche Bösartigkeit, sondern verlief in leichten Formen, mehr vom Charakter des Varioloids.

Zweifellos lassen sich manche ausführlich und kritisch dargestellte Beobachtungen nicht gut anders deuten, als daß eine Vererbung der Immunität von pockenimmunen Müttern auf die Kinder möglich ist, wenn sie auch nur sehr selten vorkommt. Was für die Richtigkeit dieser Annahme spricht und zugleich völlig unseren sonstigen Erfahrungen über ererbte passive Immunität bei bakteriellen Infektionskrankheiten entspricht, ist die Beobachtung, daß solche Kinder sich zwar in der ersten Zeit nach der Geburt refraktär gegenüber einer Vaccination oder der Gefahr einer Variolainfektion zeigten, aber wenig später bei einer erneuten Impfung mit vollem Pustelerfolg reagierten, beziehungsweise erst bei späterer Ansteckungsgelegenheit an Pocken

erkrankten: die passive Immunität ist auch bei der Variola sehr ver-
gänglich.

Bei der kurzen Dauer der ererbten Immunität können wir a priori keinen eklatanten Einfluß des Vererbungsfaktors auf die Epidemiologie der Pocken erwarten. Immerhin mußte nach theoretischen Erwägungen zu Zeiten, zu denen die Pocken noch unbehindert durch menschliche Abwehrmaßregeln und Immunisierungsbestrebungen ihren Lauf nahmen, die Abstammung von immunen Eltern wenigstens einigermaßen an dem veränderten Verlauf und der geringeren Heftigkeit der Seuche kenntlich werden.

In der Tat wissen wir aus den Beobachtungen der früheren Jahrhunderte, daß die Pocken am verheerendsten immer dort auftraten, wo sie bisher unbekannt waren: Traurige Beispiele liefern hierfür Amerika und Afrika, wo, als mit der Kultur gleichzeitig die Blattern ihren Einzug hielten, einzelne Stämme gänzlich ausstarben. Dieser fehlende Einfluß der Immunitätsvererbung findet weiterhin seinen Ausdruck in der bekannten hohen Pockendisposition der Eskimos, der Ureinwohner Sibiriens, Patagoniens usw. Nach Huguenins¹⁾ Auffassung liegt hier nämlich weniger eine eigenartige Rassendisposition vor, sondern in Wirklichkeit kommt es vielmehr darauf an, daß ein Naturvolk die Pocken noch nie hatte oder sehr lange nicht mehr hatte, daher keine Spur ererbter Immunitätsreste besaß, Immunitätsreste, aus deren Existenz sich die relativ viel geringere Mortalitätsziffer oftmals durchseuchter Völkerschaften wenigstens zu einem Teil erklären läßt.

Ausschließlich ist es der Vererbungsfaktor allerdings nicht, der die Verschiedenheit des klinischen Verlaufes der Variola ausmacht. Bis zu einem gewissen Grade konkurriert hier die Virulenz des Variolavaccineerregers, die naturgemäß ebenso wie die Pathogenität aller Mikroorganismen schwanken kann.

Seit jeher haben sich viele Seuchengänge der Pocken wenigstens in ihrer ersten Hälfte durch enorme Schwere der Fälle ausgezeichnet, während andere Epidemien von Anfang an eine große Benignität besaßen. „Vergleicht man viele Epidemien miteinander, namentlich mit Rücksicht auf den Boden, auf dem sie erwachsen, so ergibt sich das Gesetz: Wird oder wurde die Epidemie aus weiter Ferne importiert, (z. B. von England nach Island oder von Afrika oder Europa nach Amerika), wird dabei das Gift aus einer Bevölkerung auf eine andere von bedeutender Rassendifferenz übertragen, so entwickelt dasselbe der letzteren gegenüber eine außergewöhnliche Virulenz, oder auch, die rassedifferente Bevölkerung zeigt dem Gifte gegenüber eine bedeutend geringere Resistenz. Dagegen: Ist eine große Stadt der konstante Sitz der Pocken, finden sie sich in Paris, London, St. Petersburg einmal nur in geringer Zahl und gewinnen sie dann unter der gleichen Bevölkerung eine epidemische Ausbreitung, so resultiert eine, wenn auch vielleicht an Zahl recht bedeutende Häufung von Fällen, aber die Fälle sind der größten Mehrzahl nach leicht und geben geringe Mortalität“ (Huguenin).

Die größere Heftigkeit der Variola ist also bis zu einem gewissen Grade der Effekt einer Virulenzsteigerung des Variolavaccineerregers infolge Passage durch eine rassefremde Species, ganz ebenso, wie wir

1) Huguenin, G., „Pocken“. (Lubarsch-Ostertag: Ergebnisse der allgemeinen Pathologie. IV.) Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1899.

beim Vaccineerreger im engeren Sinne die virulenzsteigernde Wirkung der Passage durch artfremde Tiergattungen kennen ¹⁾.

Unter voller Würdigung dieses Einflusses der jeweiligen Virulenzgröße des Erregers dürfen wir gleichwohl die Tatsache festhalten, daß eine Vererbung der Variolaimmunität mit dem Resultat eines partiellen und rasch vorübergehenden Pockenschutzes möglich ist und, wenn auch nur bedingungsweise, tatsächlich vorkommt.

Diese empirisch gewonnenen Kenntnisse lassen sich auf experimentellem Wege sicherstellen. Aus naheliegenden Gründen bedient man sich hierzu der abgeschwächten Virulenzform des Variolavaccineerregers, der Vaccine.

Experimentelle Untersuchungen über die Vererbung der Vaccineimmunität sind bis jetzt nur beim Menschen angestellt worden. In verschiedenen Versuchsserien wurden Schwangere und deren Neugeborene geimpft, teils aus theoretischem Interesse, teils von der praktischen Frage ausgehend, ob man — bei Gefahr einer Pockenanstekung — durch Impfung der graviden Mutter das Kind schon im Mutterleib immunisieren kann. Hierbei hat sich nun herausgestellt, daß die Impfung der Neugeborenen stets positiv ausfiel [Max Wolff²⁾] oder nur in einem sehr geringen Prozentsatz fehlschlug [Behm³⁾, Palm⁴⁾, Béclère, Chambon, Ménard und Coulomb⁵⁾]. Entsprechend besitzen solche Neugeborene auch nur selten in vitro nachweisbare virulizide Immunkörper. Ueberdies verschwindet diese seltene passive Immunität des Serums der Kinder sehr bald wieder [Béclère, Chambon und Ménard⁶⁾].

Ebenso konnte ein Uebergang von Schutzstoffen durch die Milch von der geimpften Amme auf den Säugling nicht nachgewiesen werden (Janson)⁷⁾.

Eigene Untersuchungen.

Im Anschluß an meine früheren Studien über die Vaccineimmunität⁸⁾ habe ich in den letzten 2 Jahren Versuche über die Vererbung der Vaccineimmunität bei Tieren angestellt.

Zu meinen Untersuchungen bediente ich mich des Kaninchens als Versuchstieres. Die Impfung geschah mit frischer virulenter Glycerinlymphe⁹⁾ auf größeren Flächen der Rückenhaut nach vorausgegangener

1) Süpfle, Karl, Leitfaden der Vaccinationslehre. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1910.

2) Wolff, M., Ueber Vererbung von Infektionskrankheiten. (Virchows Arch. Bd. 112. 1888. p. 136.)

3) Behm, Ueber intrauterine Vaccination, über Schutzpockenimpfung Schwangerer und Neugeborener. (Berl. klin. Wochenschr. 1882. p. 453.)

4) Palm, Beitrag zur Vaccination Schwangerer, Wöchnerinnen und Neugeborener. (Arch. f. Gynäkol. Bd. 62. Heft 2.)

5) Béclère, Chambon, Ménard et Coulomb, Transmission intrautérine de l'immunité vaccinale et du pouvoir antiviruleux du sérum. (Compt. rend. de l'acad. des scienc. T. 129. 1899. p. 235.)

6) Béclère, Chambon et Ménard, Etude sur l'immunité vaccinale. Troisième mémoire. Le pouvoir antivirulent du sérum de l'homme et des animaux immunisés contre l'infection vaccinale ou variolique. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 13. 1899. p. 81.)

7) Janson, C., Versuche zur Erlangung künstlicher Immunität bei Variola vaccina. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 10. p. 40.)

8) Süpfle, Karl, Die Vaccineimmunität. (Arch. f. Hyg. Bd. 68.)

9) Herr Obermedizinalrat Dr. Hauser, Vorstand der Großh. Bad. Impfanstalt Karlsruhe, der mir in bereitwilligster Weise wiederholt Lymph übermitteln hat, bin ich für die liebenswürdige Ueberlassung des Materiales zu großem Dank verpflichtet.

Depilierung mit Calciumhydrosulfid, einem Enthaarungsmittel, das mir schon bei früheren Versuchsreihen sehr gute Dienste geleistet hatte.

Auf diese Weise wurde eine größere Zahl weiblicher Kaninchen geimpft. Nach verschieden langer Zeit, meist alsbald nach Ablauf der vaccinalen Eruption, kam das Impftier mit einem männlichen Kaninchen zusammen in einen Stall. In einigen Versuchsreihen wurde die Vaccination bei bereits tragenden Tieren vorgenommen.

Die von solchen Muttertieren geworfenen Jungen wurden einige Wochen bis Monate nach der Geburt mit virulenter Lymphe geimpft. Der Ausfall dieser Vaccinationen galt als Kriterium, ob die Vaccineimmunität von der Mutter auf das Junge vererbt worden war.

So einfach diese Versuchsanordnung sich im Prinzip ausnimmt, so gehen solche Experimente doch in der Praxis keineswegs sämtlich glatt vor sich. Bei weitem nicht alle vaccinierten Kaninchen werden trüchtig, auch wenn für ausgiebige Deckung Sorge getragen wird. Ist dann wirklich Befruchtung eingetreten und die Geburt glücklich erfolgt, so bleiben oft nur wenige oder gar keines der Jungen am Leben.

Trotz zahlreicher Impfungen verfüge ich daher bis jetzt erst über drei Versuchsreihen, die ganz nach Wunsch vollständig bis zu Ende durchgeführt werden konnten.

I.

Langhaariger Albino wird am 20. April 1908 geimpft. Am 24. April starke vaccinale Reaktion. 14. Mai 1908 Geburt von 4 Jungen: a, b, c, d.

Impfung der Jungen	Erfolg
a: 13. Juni 1908	17. Juni schöne Eruption zahlreicher, kleiner isolierter Pusteln; anscheinend schwere Alteration des Gesamtorganismus. 19. Juni tot ohne charakteristischen inneren Befund bei ausgezeichnet ausgebildeten Impfpusteln.
b: 13. Juni 1908	17. Juni schwache, aber deutliche Pustelbildung. 18. Juni Höhepunkt der Pustelung schon überschritten. 19. Juni bereits Abschuppung (beschleunigte Pustelbildung). Nachimpfung am 17. Juli 1908 fällt negativ aus.
c: 17. Juli 1908	20. Juli nicht sehr starke Eruption. 22. Juli Borkenbildung (Verlauf etwas präzipitiert).
d: 17. Juli 1908	20. Juli starke Entwicklung von Pusteln, die in den folgenden Tagen einen durchaus typischen (nicht beschleunigten) Verlauf zeigen.

II.

Schwangeres Kaninchen (schwarz) wird am 21. April 1908 mit positivem Erfolg geimpft. Am 5. Mai 1908 Geburt von 4 Jungen: a, b, c, d; d geht am 6. Mai spontan ein.

Impfung der Jungen	Erfolg
a: 24. Juli 1908	27. Juli Rötung des Impffeldes. 28. Juli Krustenbildung. 29. Juli nach Entfernung der Krusten erscheint der bloßgelegte Grund feuchtglänzend; keine Pusteln. 30. Juli noch schwache Rötung. 31. Juli Rötung blaßt ab. Keine vaccinale Reaktion!
b: 12. Dez. 1908	16. Dez. konfluierende Pusteleruption mit typischem Verlauf.
c: 14. Okt. 1909	18. Okt. 1909 deutliche Ausbildung von Pusteln, die sich in gewöhnlicher Weise weiter entwickeln.

III.

Rötliches Kaninchen wird am 18. Juni 1909 geimpft. Am 22. Juni gute Reaktion konfluierender Pusteln. 26. Juli 1909 Geburt von 4 Jungen: a, b, c, d.

Impfung der Jungen	Erfolg
a: 14. Okt. 1909	18. Okt. schwache, aber deutliche Eruption mit typischem Verlauf.
b: 14. Okt. 1909	18. Okt. sehr starke Entwicklung von Pusteln.
c: 19. Okt. 1909	23. Okt. kräftige Pustelbildung.
d: 19. Okt. 1909	22. Okt. Entstehung nicht sehr zahlreicher Pusteln mit etwas beschleunigtem Verlauf.

Aus meinen bisherigen Versuchen geht hervor, daß die Nachkommen vaccine-immuner Kaninchen in der Mehrzahl der Fälle keine nachweisbare Immunität gegen Vaccine besitzen. Bei einem kleinen Prozentsatz ist jedoch eine Beeinflussung der Disposition im Sinne der Vererbung einer partiellen Immunität unverkennbar; diese Immunität ist eine vorübergehende und gewöhnlich lediglich eine partielle; nur ausnahmsweise besteht eine totale Unempfindlichkeit.

Diese Resultate stehen einerseits im Einklang mit den bisherigen Versuchen anderer Autoren am Menschen, andererseits mit unserer Auffassung von der Theorie der Variolavaccineimmunität.

Bekanntlich lassen sich im Serum Vaccinierter bzw. Variolisierter variolizide Immunkörper nachweisen; jedoch tritt der Antikörpergehalt des Serums später auf, als die Unempfänglichkeit der Haut gegenüber einer Insertion des Virus; ebenso erlischt der Gehalt des Serums an Immunkörpern sehr bald wieder, während die kutane Immunität andauert. Weiterhin wissen wir von Experimenten am Kaninchen her, daß die Cornea an der Immunität des Gesamtorganismus nicht partizipiert. Wohl aber läßt sich die Cornea ihrerseits durch Vaccination immunisieren; die so erzeugte Immunität ist hierbei auf die geimpfte Cornea beschränkt.

Bei dem Spezialfall der Kaninchencornea hatten wir eine ganz ausgesprochene lokale Immunität kennen gelernt: Wir konnten bei der kornealen Vaccine in geradezu klassischer Weise verfolgen, wie hier, wo jede Mitwirkung des Blutserums ausgeschlossen ist, überhaupt gar keine andere Möglichkeit in Betracht kommt, als daß die Immunität einerseits cellulären Ursprunges ist, andererseits auch infolge einer cellulären Eigenschaft fort dauert. Findet diese lokale Immunkörperbildung nun nicht am Auge, sondern an einer anderen Epithellage des Körpers statt, so fällt natürlich die ernährungsphysiologische Isoliertheit der Cornea mit ihrer eigenartigen Wirkung, daß die Immunität die anatomischen Grenzen des Corneaepithels nicht überschreiten kann, weg; der Säfteaustausch ist über die ganze Epithellage des Organismus ungehindert, und die Immunität ergreift die gesamte Hautoberfläche.

Wir sind daher geneigt, die Vaccineimmunität in der Hauptsache als eine histogene Immunität aufzufassen. Es würde zu weit führen, wollte ich hier auf die Frage eingehen, ob bei dem Immunisierungsvorgang nach kutaner Infektion mit virulenter Lymphe ausschließlich das Epithel der lokalen Impfstelle beteiligt ist oder ob die Produktion von Immunkörpern auch in anderen Organen — vielleicht ausgelöst durch Antikörper-erzeugende vaccinale Substanzen, die von der Impfstelle aus zur Resorption kommen — vor sich geht. Mag die

Immunität eine rein histogene Leistung sein oder mag stets auch der gesamte Organismus an dem Immunisierungsvorgang mitwirken, so erfolgt jedenfalls von einem bestimmten Moment an ein Uebertritt der Schutzstoffe in das Blut.

Wichtig für die Frage der Immunitätsvererbung ist nun die Tatsache, daß die Immunkörper sehr häufig das Blut rasch passieren. Während die fixen Gewebelemente der Haut- und Schleimhautdecke jahrelang, oft während des ganzen Lebens, die Fähigkeit behalten, eingeführtes Variola- oder Vaccinevirus entweder sofort oder in ganz kurzer Zeit zu überwinden, erweist sich das Serum nach Ablauf einer relativ kurzen Zeit gewöhnlich als immunkörperfrei. Wohl wurden gelegentlich noch 25, ja einmal 50 Jahre nach der Impfung oder der Variolainfektion Immunkörper im Blut gefunden; in der Mehrzahl der Fälle aber waren die Schutzstoffe schon nach wenigen Monaten oder gar nach wenigen Tagen vermindert oder verschwunden; ja sie sind manchmal überhaupt nicht nachweisbar.

Bei der kurzen Dauer des Kreisens der Immunkörper im Blute ist es durchaus verständlich, daß ein intrauteriner Uebergang der Schutzstoffe durch den Placentarkreislauf bei Vaccine nur selten beobachtet wird.

Auf Grund dieser Ueberlegungen und der dargestellten Experimente kommen wir daher zu dem Schluß, daß die Vaccineimmunität von immunen Müttern auf die Nachkommen vererbt werden kann; die Vererbung der Vaccineimmunität erfolgt aber nur ausnahmsweise und bedingt fast stets nur einen partiellen und vorübergehenden Schutz.

Nachdruck verboten.

Der tuberkulo-opsonische Index beim Menschen und beim Rinde.

[Aus dem Opsonischen Laboratorium (Abt. d. Path. Inst.
d. Kgl. S. Tierärztl. Hochschule) zu Dresden.]

Von dem Privatdozenten Dr. med. **Strubell**, Leiter des Laboratoriums,
gemeinsam mit Dr. med. vet. **Felber**, Assistenten des Laboratoriums.

In einer jüngst erschienenen Arbeit „Ueber die Fehlerquellen bei der Bestimmung des opsonischen Index“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 52. Heft 3) haben wir Untersuchungen über den tuberkulo-opsonischen Index normaler Menschen publiziert, deren Resultate mit einer Arbeit Alexander Flemings aus dem Opsonischen Department des Prof. Sir Almroth Wright in St. Marys Hospital in London (The Practitioner, May 1908) so gut übereinstimmten, daß man nun wohl von einer Unbrauchbarkeit und weitgehenden Unzuverlässigkeit des opsonischen Index in technischer Beziehung nicht gut mehr sprechen kann. Wenn die Untersucher in London und die Untersucher in Dresden bei annähernd derselben Anzahl (44 Gesunde bei Fleming, 50 bei Strubell und Felber) den tuberkulo-opsonischen Index der Sera dieser normalen Individuen in 97,5 Proz. (Fleming) resp. 95 Proz. (Strubell und Felber) zwischen 0,90 und 1,10 schwanken sahen, so

ist damit ein hoher Grad von Sicherheit der Technik garantiert. Auch sprechen diese Resultate in so deutlicher Weise für die große Stabilität des tuberkulo-opsonischen Index normaler Individuen, daß sie eine neue wichtige Stütze der Wrightschen Lehre darstellen. Auch unsere (Strubells und Felbers) übrigen Zahlen und Tabellen, die Fehlerquellen bei der Bestimmung des Index betreffend, zeigen eine solche Einheitlichkeit und eine so weitgehende Uebereinstimmung der Resultate, daß man wohl die Thesen derer wird ad acta legen dürfen, welche behauptet haben, die Wrightsche Technik sei unbrauchbar, weil völlig unzuverlässig.

Es frägt sich nun aber, ob der opsonische Index — wir sprechen auch in unseren heutigen Ausführungen ausschließlich von tuberkulo-opsonischen — wenn man eine weitgehende Zuverlässigkeit der technischen Bestimmung zugeben muß, im Sinne Wrights als ein für die Diagnostik, Prognosenstellung und Therapie tuberkulöser Erkrankungen entscheidendes Kriterium anzusehen sei.

Für die Beurteilung dieser Frage sind wir in der Lage, einerseits etwa 50 Fälle von tuberkulösen Menschen heranzuziehen; dieselben entstammen teils Strubells Privatpraxis, zum Teil haben Herr Oberarzt Dr. Werther-Dresden und Herr Dr. Nagelschmidt, Direktor der Finsenklinik in Berlin, eine Anzahl Sera zur Verfügung gestellt, wozu noch eine Reihe von Krankengeschichten kommt, welche Strubell dem ganz besonderen Entgegenkommen von Prof. Sir Almroth Wright-London verdankt, Krankengeschichten von Fällen, welche Strubell seinerzeit selbst persönlich in London mitbeobachtet hat.

Wenn es somit auf Grund dieser Beobachtungen möglich sein wird, uns ein Urteil über den tuberkulo-opsonischen Index des Menschen zu bilden, so haben wir nicht verfehlt, unsere Untersuchungen auch auf den tuberkulo-opsonischen Index des Rindes auszudehnen. Wir haben zunächst einmal an 80 Schlachtrindern den Index gegen Menschen- und Rindertuberkulose festgestellt, wobei der pathologisch-anatomische Befund des betreffenden Tieres genau kontrolliert wurde. Des weiteren verdanken wir der besonderen Freundlichkeit von Herrn Prof. Eber, dem Vorstand des Veterinärinstitutes der Universität Leipzig, ein sehr wertvolles Material von Blutseren künstlich experimenti causa mit Tuberkelbacillen verschiedener Provenienz geimpfter Rinder. Wir möchten nicht verfehlen, hier gleich an dieser Stelle Herrn Prof. Eber ebenso wie den anderen Herren für seine außerordentliche Freundlichkeit und sein liberales Entgegenkommen den besten Dank auszusprechen.

Wir bringen das gesamte Material nun gleich vor und beginnen mit Tabelle I, welche die tuberkulo-opsonischen Indices von genau 50 Fällen verschiedenartiger tuberkulöser Erkrankungen enthält.

Auf der Tabelle I sind eigentlich 52 Fälle notiert, aber die unter No. 60 und 66 (Patient Loffhagen) notierten beiden Indices gehören ein und demselben Patienten an, der an Furunkulose, nicht aber an einer tuberkulösen Erkrankung litt, bei dem aber trotzdem der tuberkulo-opsonische Index bestimmt wurde.

Die übrigen 50 Fälle mit insgesamt 895 Bestimmungen stammten von Patienten, die mit den verschiedenartigsten tuberkulösen Affektionen behaftet waren, und es ist in der Tat sehr interessant zu sehen, wie das durchschnittliche Verhältnis der opsonischen Indices sich sofort ändert, sobald wir es mit tuberkulösen Patienten zu tun haben. Während Tabelle 5 unserer früheren Arbeit („Ueber die Fehlerquellen bei der

Bestimmung etc.“), welche wir der besseren Uebersichtlichkeit halber nochmals reproduzieren, 94,48 Proz. = rund 95 Proz. der tuberkulo-opsonischen Indices normaler Menschen zwischen 0,90 und 1,10 schwanken läßt, sind in unserer neuen Tabelle unter den 50 Fällen nur 38,32 Proz. zwischen 0,90 und 1,10, während 33,57 Proz. der Indices unter 0,90 und 28,82 Proz. über 1,10 zu stehen kommen. Bei den normalen Fällen waren unter 0,90 nur 3,15 Proz., über 1,10 nur 2,36 Proz. des Indices. Uns scheint dieses Resultat, was wir selbst vor der endgültigen Feststellung der Tabellen nicht gut ahnen konnten, ein schlagendes zu sein. Schlagend ist es allerdings, wenn wir bedenken, daß auch die Resultate

Tabelle I.

No.	Diagnose	Zahl der Indices	Der opsonische Index war							
			0,0 bis 0,40	0,40 bis 0,60	0,60 bis 0,80	0,80 bis 0,90	0,90 bis 1,10	1,10 bis 1,20	1,20 bis 1,50	1,50 bis
1	Lupus faciei	105	—	1	9	10	40	16	22	7
11	Lupus	52	1	2	7	1	26	6	7	2
13	Lupus faciei et manus	75	—	2	5	11	26	9	19	3
14	Lupus faciei	17	—	2	3	3	8	—	1	—
16	Tuberkulose des Gesichts und linken Beins	23	—	2	—	3	10	1	4	3
23	Lepra!	15	—	—	—	3	9	1	2	—
45	Geheilte Fall von Lupus	4	—	—	1	—	2	1	—	—
46	Lupus faciei et manus!	25	—	—	5	3	10	2	5	—
47	Lupus faciei et nasi	52	—	—	8	16	17	4	6	1
54	Tuberkulöses Geschwür am linken Unterschenkel	24	—	—	3	7	8	2	4	—
2	Tuberkulöses Geschwür	8	—	—	—	3	3	—	2	—
3	Drüsen am Hals	24	1	2	10	5	5	1	—	—
4	Tuberkulöse Drüsen am Unterkiefer	1	—	—	—	—	1	—	—	—
6	Tuberkulöse Drüsen, Geschwür am Bein	20	—	1	4	2	10	2	1	—
10	Tuberkulose des rechten Handgelenks	17	—	—	4	2	8	1	—	2
17	Skrofulose	16	—	—	3	1	9	1	2	—
18	Tuberkulose am Arm	38	—	4	4	3	14	3	8	2
19	Tuberkulöse Drüsen am Hals	52	1	—	5	12	16	9	7	2
20	Tuberkulöse Drüsen	8	—	—	2	2	2	—	2	—
29	Drüsen am Nacken	18	—	—	4	—	7	5	2	—
31	Drüsen am Hals	5	—	—	2	—	3	—	—	—
33	Tuberkulöse Geschwulst im Auge	27	—	—	1	5	9	3	7	2
35	Tuberkulose der Fingerknochen	12	—	1	3	2	3	1	1	1
39	Tuberkulöse Drüsen am Kinn	4	—	—	—	1	2	—	1	—
42	Tuberkulose des Handgelenks	8	—	—	4	2	2	—	—	—
48	Tuberkulöse Drüsen am Hals	2	—	—	1	—	1	—	—	—
52	Tuberkulöse Drüsen am Hals	8	—	—	1	1	3	1	2	—
53	Tuberkulose am rechten Vorderarm	102	—	2	14	10	40	14	15	7
55	Tuberkulöse Gonitis	22	—	1	4	2	7	3	5	—
22	Tuberkulöse Cystitis	15	—	—	—	3	9	—	3	—
44	Tuberkulöse Cystitis	16	—	—	—	3	8	1	3	1
49	Tuberkulose der Niere und Blase	24	1	2	5	4	8	3	1	—
50	Tuberkulose des rechten Handgelenks	8	—	—	4	1	3	—	—	—
51	Geheilte schwerer Fall von Lupus	16	—	2	3	1	8	—	2	—
34	Fälle	863	4 0,4%	24 2,78%	119 13,79%	122 14,4%	337 39,05%	90 10,43%	134 15,52%	33 3,94%
			31,37%				29,89%			

Fortsetzung von Tabelle I.

No.	Diagnose	Zahl der Indices	Der opsonische Index war								
			0,0 bis 0,40	0,40 bis 0,60	0,60 bis 0,80	0,80 bis 0,90	0,90 bis 1,10	1,10 bis 1,20	1,20 bis 1,50	1,50 bis	
52	Dost	Lupus	2	—	1	—	—	1	—	—	—
53	Falkenberg	Lupus	6	—	3	1	2	—	—	—	—
54	Ackenmann	Lupus	7	—	2	5	—	—	—	—	—
55	Faber	Abgeheilte Tuberk.	9	—	—	2	1	4	—	—	—
56	Milke	Abgeheilte Tuberk.	2	—	—	1	1	—	—	—	—
57	Heller	Tuberkulose	3	—	—	—	3	—	—	—	—
58	Döppner	Lupus	1	—	—	1	—	—	—	—	—
59	Deimel	Lupus	1	—	—	1	—	—	—	—	—
60	Loffhagen	Leidet an Furunk.	—	—	—	—	—	1	—	—	—
61	Golliwitz	Lupuspatienten	—	—	—	—	1	—	—	—	—
62	Danisch	zum Teil mit	—	—	—	—	1	—	—	—	—
63	Werner	Lungentuber-	—	—	—	1	—	—	—	—	—
64	Hoffmann	kulose	—	—	—	—	—	—	1	—	—
65	Frau Paul		—	—	—	—	1	—	—	—	—
66	Loffhagen		—	—	—	—	—	1	—	—	—
67	Browolski		—	—	—	1	—	—	—	—	—
68	Hoffmann	lupuskrank	—	—	—	—	1	—	—	—	—
69	Piels		—	—	—	1	—	—	—	—	—
18	Fälle		31	—	6	14	11	7	1	—	—
52	Fälle		895	4	30	133	133	344	91	134	33
				0,5 %	3,35 %	14,86 %	14,86 %	38,32 %	10,17 %	14,97 %	3,68 %
				33,57 %			28,82 %				

Alexander Flemings sich vollständig in denselben Grenzen bewegten, (97,5 Proz. zwischen 0,90 und 1,10; 0,8 Proz. unter 0,90 und 1,7 Proz. über 1,10 bei gesunden Menschen). Und nun sind die 97 Proz. resp. 95 Proz. von Fleming resp. von uns, normaler tuberkulo-opsonischer Indices zwischen 0,90 und 1,10, reduziert auf 38 Proz. bei tuberkulösen Menschen. Die Tatsache, daß nur 38 Proz. der Indices innerhalb der als normal zu bezeichnenden Grenzen sich befindet, deutet darauf hin, wie tief die opsonische Widerstandsfähigkeit gegen den Tuberkelbacillus bei den tuberkulösen Erkrankungen verändert sein muß, und wie sehr dieselbe bald über, bald unter das Ziel der Norm ausschlägt. Ueber die Größe der Schwankungen des tuberkulo-opsonischen Index tuberkulös erkrankter Menschen haben wir eine weitere Tabelle zusammengestellt, welche wir weiter unter geben und besprechen werden (Tab. II a). Auf der anderen Seite beweist die Tatsache, daß immerhin 38 Proz. dieser Indices noch innerhalb der normalen Grenzen liegen, die eventuelle Unmöglichkeit, aus einer einzigen Indexbestimmung eine opsonische Diagnose zu machen. Es ist auch uns oft genug vorgekommen, daß bei zweifelhaften Fällen, welche in der Privatpraxis dem einen von uns (Strubell) eine Sicherung der Diagnose auf opsonischem Wege wünschenswert erscheinen ließen, eine einmalige Indexbestimmung uns völlig im Stich ließ, denn welche klinischen Schlüsse soll man aus einem einmal erhobenen Index von 0,89 ziehen? Ja, es kann passieren, daß auch mehrere Indices (siehe Fall No. 57) etwas unterhalb der Norm liegen, z. B. zwischen 0,80 und 0,90, ohne daß man aus der bloßen Bestimmung des Index bestimmte Anhaltspunkte bekäme. In der Mehrzahl der Fälle freilich wird auch ohne daß wir Schwankungen des Index künstlich durch Injektionen von Tuberkulin herbeiführen, eine deutliche Labilität der opsonischen Kurve auf die vorhandene tuberkulöse Infektion hin-

Tabelle II. (Tabelle V der früheren Arbeit.)

Name	Indices	Zahl der opson. Restimm.	Der opsonische Index war				
			unter 0,90	0,90—0,94	0,95—1,05	1,06—1,10	über 1,10
1) Dr. Felber	1,08 1,00 0,90 0,96 1,03 1,01 1,03 1,08 1,00 1,04 1,04 1,01 1,00 0,95 1,01 1,00 0,99 1,02	18	.	1	15	2	.
2) Frenzel	1,03 1,02 0,98 1,01 0,95 1,00 0,96 1,04 0,98 1,02 1,00	11	.	.	11	.	.
3) Heyl	0,92 1,05 1,02 1,07	4	.	1	2	1	.
4) Dr. Strubell	0,94 0,93 0,89 1,11 1,07	5	1	2	.	1	1
5) Wunderlich	0,90 0,84 1,00	3	1	1	1	.	.
6) Faber	0,99 1,08 0,97	3	.	.	2	1	.
7) Schultze	1,06 0,87 1,00	3	1	.	1	1	.
8) Bintz	1,00 1,20	2	.	.	1	.	1
9) Lanzl	0,94	1	.	1	.	.	.
10) A. Müller	1,11 0,83	2	1	.	.	.	1
11) Dr. Tayler	0,92 1,02	2	.	1	1	.	.
12) Brücklmayr	0,95 0,98	2	.	.	2	.	.
13) König	0,91	1	.	1	.	.	.
14) Mis Tayler	0,97	1	.	.	1	.	.
15) Schmidt	1,06	1	.	.	.	1	.
16) Rückert	1,00 1,01	2	.	.	2	.	.
17) Zschenschter	1,03 0,98	2	.	.	2	.	.
18) Schindler	1,00	1	.	.	1	.	.
19) Friedrich	1,00 1,01	2	.	.	2	.	.
20) Thiemann	0,94 1,05	2	.	1	1	.	.
21) Benedix	0,97 0,97	2	.	.	2	.	.
22) Müller	0,97 0,99	2	.	.	2	.	.
23) Kraus	0,99 0,98	2	.	.	2	.	.
24) Ließ	0,98 1,00	2	.	.	2	.	.
25) Band	1,03 1,02	2	.	.	2	.	.
29) Bielig	1,02 1,02	2	.	.	2	.	.
27) Ludwig	1,03 1,03	2	.	.	2	.	.
28) Knebel	0,98 1,05	2	.	.	2	.	.
29) Fischer	0,97 0,95	2	.	.	2	.	.
30) Peiserich	0,91 1,01	2	.	1	1	.	.
31) Hochmut	0,96 1,04	2	.	.	2	.	.
32) Busch	1,05 0,94	2	.	1	1	.	.
33) König	1,06 0,98	2	.	.	1	1	.
34) Haeman	0,99 1,00	2	.	.	2	.	.
35) Dietze	1,01 1,00	2	.	.	2	.	.
36) Müller	1,07 1,02	2	.	.	1	1	.
37) Boetsch	1,01	1	.	.	1	.	.
38) Forster	0,97 0,98	2	.	.	2	.	.
39) Naumann	1,01 1,03	2	.	.	2	.	.
40) Puschmann	0,98 0,99	2	.	.	2	.	.
41) Biermann	0,92 0,94	2	.	2	.	.	.
42) Haberloh	1,02 1,01	2	.	.	2	.	.
43) Pflüger	0,98 0,98	2	.	.	2	.	.
44) Jäkel	1,00 1,02	2	.	.	2	.	.
45) Quaaß	1,00 0,96	2	.	.	2	.	.
46) Frenzel II	1,04 1,02	2	.	.	2	.	.
47) Heinz	1,03 1,02	2	.	.	2	.	.
48) Findeisen	1,00 0,97	2	.	.	2	.	.
49) Engelke	0,97 0,99	2	.	.	2	.	.
50) Günther	0,94 0,94	2	.	2	.	.	.
Gesamtzahlen:		127	4	15	96	9	3
in % ausgedrückt:			3,15	11,81	75,59	7,08	2,36

weisen. Es kommt dabei nicht so sehr darauf an, ob der Index über der Norm oder unter der Norm ist, denn schon die zahlreichen Autoinokulationen bei der Tuberkulose können, wie wir wissen und wie ja auch unsere Tabelle beweist, ganz beträchtliche Steigerungen des Index hervorrufen. Es kommt vielmehr darauf an, daß der Index sich entweder dauernd oder vorübergehend häufig außerhalb der normalen Grenzen befindet. Diese Schwankungen (siehe unsere Tabelle IIa) können ganz beträchtlich sein, wie in Fall No. 11 (Lupusfall): Schwankungen zwischen 0,37 und 2,1 oder Fall No. 16: 0,51—1,80, No. 51: 0,4—1,47.

Tabelle IIa.

No. 1	0,53—1,70	Lupus faciei	No. 20	0,73—1,30	Tuberkulöse Drüsen
„ 11	0,37—2,1	Lupus	„ 29	0,65—1,32	Drüsen am Nacken
„ 13	0,54—1,51	Lupus faciei et manus	„ 31	0,65—1,08	Drüsen am Halse, skrofulöse Augenentzündung
„ 14	0,59—1,47	Lupus faciei	„ 33	0,77—1,78	Tuberkulöse Geschwulst im Auge und Tuberkulose an d. Gelenken der Hand
„ 16	0,51—1,80	Tuberkulose des Gesichts und am linken Bein	„ 35	0,52—1,51	Tuberkulose der Fingerknochen
„ 23	0,80—1,38	Lepra!	„ 39	0,83—1,24	Tuberkul. Drüsen unterm Kinn
„ 45	0,80—1,11	Geheilte Fall von Lupus	„ 42	0,74—1,02	Tuberkulose des Handgelenks
„ 46	0,61—1,50	Lupus faciei et brachiorum	„ 48	0,70—1,03	Tuberkulöse Drüsen am Halse
„ 47	0,62—1,51	Lupus faciei et nasi	„ 52	0,79—1,27	Tuberkulöse Drüsen am Halse
„ 51	0,4—1,47	Geheilte schwerer Fall von Lupus	„ 53	0,61—2,10	Tuberkulose am rechten Vorderarm
„ 54	0,70—1,34	Tuberkulöses Geschwür am linken Unterschenkel	„ 55	0,58—1,40	Tuberkulöse Gonitis
„ 2	0,85—1,45	Tuberkulöses Geschwür	„ 22	0,84—1,30	Tuberkulöse Cystitis
„ 3	0,53—1,18	Tuberkulöse Drüsen am Halse	„ 44	0,81—1,60	Tuberkulöse Cystitis
„ 4	0,95	Tuberkulöse Drüsen am Unterkiefer	„ 49	0,58—1,23	Tuberkulose der Niere und Blase
„ 6	0,64—1,21	Tuberkulöse Drüsen, Geschwür am Bein	„ 50	0,74—1,02	Tuberkulose des rechten Handgelenks
„ 10	0,63—1,58	Tuberkulose des rechten Handgelenks			
„ 17	0,74—1,48	Skrophulose			
„ 18	0,47—1,70	Tuberkulose am Arm			
„ 19	0,70—1,80	Tuberkulöse Drüsen am Halse			
No. 61	Dost	0,53—0,97	No. 66	Heller	0,85—0,87
„ 62	Falgenberg	0,49—0,85	„ 67	Doepfner	0,77
„ 63	Ackermann	0,41—0,74	„ 68	Deimel	0,66
„ 64	Fabrice	0,68—0,95	„ 69	Krauth	0,42—0,68
„ 65	Milke	0,70—0,88			

Aus alledem geht hervor, daß die opsonische Beurteilung eines Falles von Tuberkulose nicht so einfach ist, wie manche der scharfen Kritiker Wrights vorausgesetzt haben. In der Tat kann die Mühewaltung unter Umständen eine recht beträchtliche sein. Denn erst nach einer über eine gewisse Zeit sich erstreckenden Beobachtung gelangen wir zu einem klaren Urteil über die Schwankungen der opsonischen Immunität des Individuums. Dieser Weg der Diagnosenstellung ist also kein bequemer, kann aber unter gewissen Umständen ein geradezu entscheidender sein, und wir stehen vollständig in diesem Punkte auf einem Boden mit Much, der auf Grund einer über Tausende von opsonischen Fällen sich erstreckenden Erfahrung die hohe diagnostische Bedeutung des opsonischen Index rückhaltlos anerkannte.

Was nun die prognostische Bedeutung des Index bei der Tuberkulose anlangt, welche von Wright betont, von Much und anderen,

so auch neuerdings von Erhard Schmidt [Klinischer Beitrag zu Wrights Lehre von den Oponinen. (Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 21. 1909. Heft 1)] geleugnet wird, und auf welche wir in dieser Arbeit nicht des näheren einzugehen gedenken, so haben sich manche Autoren, wie es scheint, diese Tatsache auf Grund der von Wright schon gegebenen opsonischen Schemata (positive und negative Phase in ihrer verschiedenen Aufeinanderfolge) wohl etwas zu einfach vorgestellt. Selbstverständlich sieht man nicht in allen Fällen einen so schönen Phasenwechsel, wie er bei manchen von Wrights Parafällen deutlich zu erkennen war. Vielmehr kann die richtige Deutung einer tuberkulo-opsonischen Kurve unter Umständen mit ganz erheblichen Schwierigkeiten verbunden sein, insofern als eventuell im Verlaufe einer erfolgreichen Behandlung und bei Ruhigstellung entweder der erkrankten Extremitäten oder Bettlagerung des Patienten der Index von erhöhten Zahlen allmählich auf die Norm oder auf Werte, die etwas unterhalb der Norm gelegen sind, zurückgehen kann, während unter anderen Umständen eine Steigerung des opsonischen Index, sagen wir bei einer lokalen Gelenkaffektion, nach reichlicher und im klinischen Sinne unzweckmäßiger Bewegung, welche starke Autoinokulation zur Folge hat, mit einer deutlichen Verschlechterung des Befindens konkomitieren kann. Auf die therapeutische Bedeutung des Index wollen wir in dieser Arbeit ebenfalls nicht eingehen, und wenden uns nach der kurzen Erörterung dieser zahlenmäßigen Ermittlungen am Menschen unseren Untersuchungen am Rinde zu.

Wir geben zunächst die kurzen Protokolle von 80 opsonisch untersuchten Schlachtrindern, welchen wahllos vor der Schlachtung Blut entnommen und an denen nach der Schlachtung der pathologisch-anatomische Befund festgestellt wurde.

In Tabelle IV haben wir unter Rubrik I—VI unsere Resultate an gesunden Bullen, Ochsen und Kühen, sowie an tuberkulösen Bullen, Ochsen und Kühen zusammengestellt. Eine Reihe dieser von uns opsonisch gegen Tuberkulose (Typus humanus und Typus bovinus) untersuchten Fälle zeigte gegen Menschentuberkulose unverhältnismäßig hohe Indices, was auf die bereits in unserer früheren Arbeit (Ueber die Fehlerquellen etc.) erwähnte die roten Blutkörperchen agglutinierende Wirkung des Serums des einen von uns (Felber) zurückzuführen ist.

In Rubrik 1 ist die laufende Nummer des Rindes, in Rubrik 2 und 3 der Index gegen Menschen- und Rindertuberkulose, in Rubrik 4 die Differenz dieser beiden Indices in Prozenten angegeben. Unter dem Strich befindet sich jedesmal eine kurze tabellarische Zusammenstellung der Indices sowie über die Lagerung der prozentualen Differenzen des Index gegen Menschen- und Rindertuberkulose.

Tabelle V gibt in summarischer Uebersicht die Differenz in Prozenten zwischen dem Index gegen Menschen- und Rindertuberkulose bei den einzelnen Tieren, während in Tabelle VI, analog der Tabelle V in unserer früheren Arbeit (Ueber die Fehlerquellen etc.) und unserer Tabelle I und II in dieser Arbeit, welche die Resultate der menschlichen tuberkulo-opsonischen Indices zusammenstellt, eine Uebersicht über die Lagerung der opsonischen Indices gesunder und tuberkulöser Rinder, erhoben gegen Typus humanus und Typus bovinus des Tuberkelbacillus gegeben ist.

Tabelle III.

	MTb.	RTb.	Proz.
1) Bulle gesund	0,98	1,03	5,4
2) " "	1,10*	0,87	26,4
3) " "	1,40*	0,90	55,5
4) Bulle. Vereinzelt käsige-kalkige tuberkulöse Herde in den Bronchial- u. Mediastinaldrüsen	1,07*	0,93	15,0
5) Bulle. Einzelne käsige-verkalkte Partien in den Bronchial- und Mediastinaldrüsen	1,12*	0,86	30,2
6) Kuh gesund	1,15*	0,87	32,1
7) " "	1,10*	0,88	25,0
8) Kuh. Käsige-kalkige tuberkulöse Affektion sämtlicher Lungenlymphdrüsen	1,04*	0,91	14,2
9) Kuh. Befund wie sub 8	1,04*	0,98	6,1
10) Kuh. Serosentub. des Brust- und Bauchfells, tuberkulöse verkalkte Herde in den Lungen-, Leber- und Gekrölymphdrüsen	1,05*	0,88	19,3
11) Kuh. Tuberkulöse, jedoch verkalkte Erkrankung der Bronchial- und Mediastinaldrüsen	1,09*	0,88	23,8
12) Ochse gesund	1,20*	1,06	13,2
13) Ochse. Verkalkte Herde in den Lungen- und Leberlymphdrüsen	1,12*	1,05	6,6
14) Ochse. In der Lunge und den dazu gehörigen Lymphdrüsen mehrere verkalkte Herde	1,13*	1,12	0,9
15) Kuh. Verkalkte Herde in den Mediastinallymphdrüsen	1,15*	1,11	3,6
16) Ochse. Befund wie sub 15	1,15*	1,12	2,6
17) Kuh. Mediastinal- und Mesenteriallymphdrüsen mit käsige-kalkigen tuberkulösen Veränderungen besetzt	— *	1,18	—
18) Bulle gesund	1,08	1,05	2,8
19) Kuh. Geringgradige Serosentub. des Brustfells und des pleuralen Ueberzugs der Lunge	1,00	0,97	3,0
20) Ochse. Käsige-kalkige Herde in den Lungenlymphdrüsen	1,15*	1,11	3,6
21) Kuh gesund	1,13*	1,06	6,6
22) Bulle. Lungenlymphdrüsen käsige-kalkig degeneriert	1,10*	1,06	3,7
23) Kuh wie sub 22	1,07	1,02	4,9
24) Kuh. Serosentub. des Brust- und Bauchfells	1,01	0,99	2,0
25) Jungrind gesund	1,11	1,06	4,7
26) Ochse. Bronchial- u. Mediastinaldrüsen käsige-kalkig degeneriert	1,06	1,00	6,0
27) Kuh. Serosentub. des Bauchfells	1,01	1,02	0,9
28) Bulle gesund	1,06	1,05	0,95
29) " "	1,02	1,04	1,96
30) " "	0,95	1,02	7,37
31) Ochse. Serosentub. des Bauchfells, Mesenteriallymphdrüsen käsige-kalkig degeneriert	1,02	1,00	2,0
32) Ochse. Serosentub. des Bauchfells, in Bronchial- und Mediastinaldrüsen verkalkte Herde, ebenso in der Lunge	0,94	0,92	2,17
33) Ochse. Kleinere tuberkulöse Herde in Bronchial- und Mediastinaldrüsen	1,02	1,07	4,9
34) Ochse. Bronchial- und Mediastinaldrüsen käsige-kalkig degeneriert, im Organ ebenfalls verkalkte Herde	0,91	0,90	1,1
35) Ochse. Pneumonia catarrhalis	0,99	0,95	4,2
36) Bulle gesund	0,98	1,05	7,1
37) Ochse gesund	1,00	1,05	5,0
38) Kuh. Serosentub. des Bauchfells. Lunge (Organ nebst Lymphdrüsen) mit käsige-kalkigen Herden durchsetzt, ebenso Leber nebst Portaldrüsen und Milz	1,06	1,24	16,9

* Isoagglutination.

	MTb.	RTb.	Proz.
39) Kuh. Bronchial- und Mediastinaldrüsen käsig degeneriert	0,97	1,03	6,2
40) Bulle gesund	1,03	1,22	18,4
41) " "	1,12	1,14	1,8
42) Ochse. In allen Lungenlymphdrüsen verkalkte tuberkulöse Herde	1,03	1,36	32,0
43) Ochse gesund	1,08	1,18	9,3
44) Bulle gesund	1,17	1,03	13,6
45) " "	1,06	0,99	7,1
46) Kuh. In " Bronchial-, Mediastinal- und Retro-pharyngeallymphdrüsen zahlreiche verkäste tuberkulöse Herde	1,00	1,36	36,0
47) Ochse gesund	1,03	1,23	19,4
48) Kuh. In allen Lungenlymphdrüsen verkalkte Herde	0,89	1,01	13,5
49) Kuh. In den Lungenlymphdrüsen u. im Organ frische u. verkäste Herde, ebenso in der Leber, Portal- und Darmdrüsen	0,97	1,21	24,7
50) Bulle gesund	0,97	1,07	10,3
51) Bulle. In den Bronchialdrüsen stecknadelkopfgroße, käsig, tuberkulöse Herde	—	0,95	—
52) Bulle gesund	1,03	1,07	3,8
53) Kuh. In sämtlichen Lungenlymphdrüsen käsig-kalkige Herde	1,00	1,22	22,0
54) Kuh wie sub 53	0,94	1,12	19,1
55) Kuh. Einige kleine verkalkte Herde in den Bronchialdrüsen	0,97	1,26	29,9
56) Ochse gesund	1,08	1,20	11,1
57) " "	1,04	1,20	15,3
58) Ochse. In sämtlichen Lungenlymphdrüsen, in der Portaldrüse wie in den dazu gehörigen Organen haselnußgroße tuberkulöse Herde. Mesenterialdrüsen käsig degeneriert	0,91	1,20	31,8
59) Bulle gesund	1,05	1,25	19,0
60) " "	1,06	1,23	16,0
61) Kuh gesund	0,94	1,05	11,7
62) Bulle gesund	0,97	1,08	11,3
63) Ochse gesund	0,94	1,05	11,7
64) " "	0,91	0,99	8,8
65) " "	0,92	1,07	16,3
66) Ochse. In Bronchialdrüsen haselnußgroße verkalkte Herde und stecknadelkopfgroße, frische, tuberkulöse Herde in den Mediastinaldrüsen	0,84	1,06	26,1
67) Kuh. Alle Lungenlymphdrüsen käsig-kalkig degeneriert	0,88	0,97	10,2
68) Bulle gesund	1,01	0,99	2,0
69) Ochse. Serosentub. der Pleura. Alle Lungenlymphdrüsen käsig-kalkig degeneriert	0,88	1,07	21,6
70) Ochse. In den Mediastinaldrüsen einige erbsengroße verkalkte Herde	0,91	0,99	8,7
71) Bulle gesund	1,05	1,04	0,9
72) Bulle. In den Bronchial- sowie in Mesenterialdrüsen käsig-kalkige Herde	0,90	0,97	7,7
73) Bulle gesund	0,97	1,08	11,3
74) " "	0,88	1,06	9,0
75) Kuh gesund	0,90	1,03	14,4
76) Bulle gesund	—	1,02	—
77) " "	1,00	1,05	5,0
78) Ochse gesund	0,97	1,06	9,2
79) Bulle. Rachenlymphdrüsen käsig-kalkig degeneriert	—	—	—
80) Kuh gesund	0,87	1,03	18,4

Tabelle IV.

Lfd. No.	Menschentuberkulose	Rindertuberkulose	Differenz in Proz.
I. Gesunde Bullen.			
1 gesund	0,98	1,03	5,4
2 "	+ 1,10	0,87	+ 26,4
3 "	+ 1,40	0,90	+ 55,5
18 "	1,08	1,05	2,8
28 "	1,06	1,05	0,95
29 "	1,02	1,04	1,96
30 "	0,95	1,02	7,37
36 "	0,98	1,05	7,1
40 "	1,03	1,22	18,4
41 "	1,12	1,14	1,8
44 "	1,17	1,03	13,6
45 "	1,06	0,99	7,1
50 "	0,97	1,07	10,3
52 "	1,03	1,07	3,8
59 "	1,05	1,25	19,0
60 "	1,06	1,23	16,0
62 "	0,97	1,08	11,3
68 "	1,01	0,99	2,0
71 "	1,05	1,04	0,9
73 "	0,97	1,08	11,3
74 "	0,88	1,06	9,0
76 "	--	1,02	--
77 "	1,00	1,05	5,0
23 gesunde Bullen	0,88—1,17 exkl. No. 2 u. 3 (Isoagglutination)	0,87—1,23	0,95—18,4 exkl. No. 2 u. 3 (Isoagglutination)
			Differenz
0,80—0,90	1 Fall	1 Fall	4—5 Proz. 7 Fälle
0,90—0,94	0 "	1 "	5—10 " 5 "
0,95—1,05	13 Fälle	12 Fälle	10—20 " 7 "
1,06—1,10	4 "	5 "	(No. 2 u. 3 exkl. Isoagglutination)
1,10—1,20	2 "	1 Fall	
1,20—1,25	0 Fall	3 Fälle	
II. Gesunde Ochsen.			
12	+ 1,20	1,06	13,2
37	1,00	1,05	5,0
43	1,08	1,18	9,3
47	1,03	1,23	19,9
56	1,08	1,20	11,1
57	1,04	1,20	15,3
63	0,94	1,06	11,7
64	0,91	0,99	8,8
65	0,92	1,07	16,3
78	0,97	1,06	9,2
10 gesunde Ochsen	0,91—1,08 (exkl. No. 12 Isoagglutination)	0,99—1,23	5,0—19,9 (No. 12 nicht zu verwerten)
dazu 1 Jung- rind 25	11,1	1,06	4,7
			Differenz
0,80—0,90	0 Fälle	0 Fälle	0—5 Proz. 1 Fall
0,90—0,94	3 "	0 "	6—10 " 3 Fälle
0,95—1,05	4 "	3 "	10—20 " 6 "
1,06—1,10	2 "	3 "	(Differenz No. 12 mit Vorsicht Iso- agglutination)
1,10—1,20		1 Fall	
1,20—1,23 (No. 12 Iso- agglutinat.)			

Lfd. No.	Menschentuberkulose	Rindertuberkulose	Differenz in Proz.
III. Gesunde Kühe.			
6	+ 1,15	0,87	32,1
7	+ 1,10	0,88	25,0
21	+ 1,13	1,06	6,6
61	0,99	1,06	11,7
75	0,90	1,03	14,4
80	0,87	1,03	18,4
6 gesunde Kühe	0,87—1,15	0,87—1,06	6,6—18,4 (exkl. der isoagglut. Fälle 6 u. 7, wo die Fehler offenbar durch die Isoagglut. bedingt sind. No. 21 zeigt trotz Isoagglut. weitgehende Uebereinstimmung, die Zahl für MTb. erscheint aber sehr hoch)
0,80—0,90	1 Fall	2 Fälle	Differenz 0—5 Proz. 0 Fall
0,90—0,94	2 Fälle	0 Fall	5—10 " 1 "
0,95—1,05	0 Fall	3 Fälle	10—20 " 3 Fälle
1,06—1,10	0 "	1 Fall	

Lfd. No.	Menschen-tuberkulose	Rinder-tuberkulose	Differenz in Proz.	Bemerkungen
IV. Tuberkulöse Bullen.				
4	+ 1,07	0,93	15,0	käsige kalkige Herde
5	+ 1,12	0,86	30,2	dgl.
22	+ 1,10	1,06	3,7	dgl.
51	—	0,95	—	ganz kleine käsige Herde
72	0,90	0,97	7,7	käsige kalkige Herde
79	—	—	—	
6 tuberkulöse Bullen	0,90—1,10 (No. 4 u. 5 wegen Isoaggl. unsich.)	0,93—1,06	3,7—7,7 (exkl. No. 4 u. 5 Isoagglutination)	
0,80—0,90	0 Fall	1 Fall	Differenz 0—5 Proz. 1 Fall	
0,90—0,94 (No. 4 u. 5 Isoagglut.)	1 "	1 "	5—10 " 1 "	
0,95—1,05	0 "	2 Fälle	10—20 " 1 "	
1,06—1,10	1 "	1 Fall	darüber " 1 "	

V. Tuberkulöse Ochsen.				
13	+ 1,12	1,05	6,6	verkalkte Herde
14	+ 1,13	1,12	0,9	dgl.
16	+ 1,15	1,12	2,6	dgl.
20	+ 1,15	1,11	3,6	käsige kalkige Herde
26	1,06	1,08	6,0	dgl.
31	1,02	1,08	2,0	Serosentub. und käsige kalkige Herde
32	0,94	0,92	2,17	dgl.
33	1,02	1,07	4,9	kleine tuberk. Herde
34	0,91	0,90	1,1	käsige kalkige Herde
[35	0,99	0,95	4,2	katarrhal. Pneumonie]
42	1,03	1,36	32,0	verkalkte Herde
58	0,91	1,20	31,8	große tuberkulöse Herde, Mesenterialdrüs. käsig degeneriert

Lfd. No.	Menschen-tuberkulose	Rinder-tuberkulose	Differenz in Proz.	Bemerkungen
66	0,84	1,06	26,1	verkalkte Herde u. kleine frische tuberk. Herde
69	0,88	1,07	21,6	käsige kalkige Herde
70	0,91	0,99	8,7	verkalkte Herde
15 tuberk. Ochs.	0,89—1,06 (No. 13, 14, 16, 20 Isoagglutination)	0,92—1,36	0,9—32,0	
			Differenz	
0,80—0,90	2 Fälle	0 Fall	0—5 Proz. 8 Fälle	
0,90—0,94	4 "	2 Fälle	6—10 " 3 "	
0,95—1,05	2 "	5 "	10—20 " 0 Fall	
1,06—1,10	1 Fall	3 "	20—32 " 4 Fälle	
1,10—1,20	0 "	4 "		
darüber	0 "	1 Fall		
VI. Tuberkulose Kühe.				
8	+ 1,04	0,91	14,2	käsige kalkige Herde
9	+ 1,04	0,98	6,1	dgl.
10	+ 1,05	0,88	19,3	Serosentub. u. verkalkte Herde
11	+ 1,04	0,88	23,8	verkalkte Herde
15	+ 1,15	1,11	3,6	dgl.
17	—	1,18	—	käsige kalkige Herde
19	1,00	0,97	3,0	
23	1,07	1,02	4,9	käsige kalkige Herde
24	1,01	0,99	2,0	ger. Serosentuberkulose
27	1,01	1,02	0,9	dgl.
38	1,06	1,24	16,9	dgl. u. käsige kalkige Herde
39	0,97	1,03	6,2	käsige Herde
46	1,00	1,36	36,0	zahlr. verkäste Herde
48	0,89	1,01	13,5	verkalkte Herde
49	0,97	1,21	24,7	frische u. verkäste Herde
53	1,00	1,22	22,0	viel käsige kalkige Herde
54	0,94	1,12	19,1	dgl.
55	0,97	1,26	29,9	verkalkte Herde
67	0,88	0,97	10,2	käsige kalkige Herde
19 tuberk. Kühe	0,88—1,07	0,88—1,24	0,9—30,0 Die Differenz von 8, 9, 10, 11, 15 mit Vorsicht zu verwerten)	
			Differenz	
0,80—0,90	2 Fälle	2 Fälle	0—5 Proz. 5 Fälle	
0,90—0,94	1 Fall	1 Fall	6—10 " 2 "	
0,95—1,05	8 Fälle	7 Fälle	10—20 " 6 "	
1,06—1,10	2 "	0 Fall	20—36 " 4 "	
1,10—1,20	0 Fall	3 Fälle		
1,20—1,36	0 "	5 "		
No. 8, 9, 10, 11, 15 Isoagglutination				

Tabelle V.
Differenz in Prozenten zwischen Index gegen Menschen- und Rindertuberkulose.

	0—5 Proz.	6—10 Proz.	10—20 Proz.	20—36 Proz.
Gesunde Tiere				
1) Bullen	7	5	7	
2) Ochsen	1	3	6	
3) Kühe	0	1	3	
Sa. 33 Fälle	8	9	16	
Tuberkulöse Tiere				
1) Bullen	1	1	1	1
2) Ochsen	8	3	0	4
3) Kühe	5	2	6	4
Sa. 38 Fälle	14	6	7	9

Tabelle VI.
Opsonischer Index.

	Menschentuberkulose					Rindertuberkulose					
	0,80 bis 0,90	0,90 bis 0,94	0,95 bis 1,05	1,06 bis 1,10	1,10 bis 1,20	0,80 bis 0,90	0,90 bis 0,94	0,95 bis 1,05	1,06 bis 1,10	1,10 bis 1,20	1,20 bis 1,36
Gesunde Tiere:											
1) Bullen	1	0	13	4	2	1	1	12	5	1	3
2) Ochsen	0	3	4	2	0	0	0	3	2	3	1
3) Kühe	1	2	0	0	0	2	0	3	1	0	0
Summa	2	5	17	6	2	3	1	18	8	4	4
	Sa. 32 Fälle					Sa. 38 Fälle					
	6,0% 15,9% 53,0% 18,8% 6,0%					7,9% 2,7% 47,4% 21,0% 10,5% 10,5%					
	87,7%					71,1% 21,0%					
Tuberkulöse Tiere:											
1) Bullen	0	1	0	1	0	1	1	2	1	0	0
2) Ochsen	2	4	2	1	0	0	2	5	3	4	1
3) Kühe	2	1	8	2	0	2	1	7	0	3	5
Summa	4	6	10	4	0	3	4	14	4	7	6
(Ausgeschaltet wegen Isoagglutination 6 gesunde und 12 kranke Tiere)	Sa. 24 Fälle					Sa. 38 Fälle					
	16,6% 25,0% 41,7% 16,6%					7,9% 10,5% 36,8% 10,5% 18,5% 15,8%					
	83,3%					57,8% 34,3%					

Und da kommen wir zu dem Resultat, daß bei 32 Fällen von gesunden Rindern (Bullen, Ochsen, Kühen) der opsonische Index gegen MTb. in 87,7 Proz. der Fälle zwischen 0,90 und 1,10 schwankt, während bei 38 Fällen der opsonische Index gegen RTb. in 71,1 Proz. zwischen 0,90 und 1,10 schwankt. Unter 0,90 und über 1,10 war bei den gesunden Rindern der Index gegen MTb. in je 6 Proz. gelagert, während er gegen RTb. in 7,9 Proz. zwischen 0,80 und 0,90, dagegen in 21 Proz. oberhalb 1,10—1,36 sich stellte.

Diese Resultate sind, was die Indices gegen MTb. anlangt, nahezu identisch mit unseren Befunden bei gesunden Menschen, indem etwa 95 Proz. der Indices normaler Menschen, etwa 88 Proz. bei gesunden Rindern gegen Typus humanus innerhalb der Grenze von 0,90 und 1,10 schwankt. Die Indices der normalen Rinder gegen den RTb. wichen von den anderen Resultaten insofern ab, als sich 21 Proz. relativ höhere

Indices feststellen ließen, was sich auf eine jedenfalls durch Vererbung und Anpassung erreichte verhältnismäßig erhöhte opsonische Immunität gegen diesen Krankheitserreger zurückführen läßt.

Anders waren die Resultate bei den tuberkulösen Rindern, welche in 83,3 Proz. Indices zwischen 0,90 und 1,10, keine übernormalen und 16,6 Proz. unternormaler Indices gegen MTb. aufwiesen, während der Index der tuberkulösen resp. tuberkulös gewordenen Rinder gegen RTb. nur in 57,8 Proz. der Fälle innerhalb der Norm sich verhielt. Demgegenüber fanden sich hier nur 7,9 Proz. subnormale, 34,3 Proz. übernormale tuberkulo-opsonische Indices gegen RTb. Das würde dafür sprechen, daß diese Tiere, bei denen es sich ja eigentlich fast überall nicht um frische, sondern in den meisten Fällen wenn nicht um abgeheilte, so doch zum Teil um abgekapselte tuberkulöse Herde handelte, im Verlaufe solcher mehr chronischer Infektionen sich doch eine relative Immunität gegen Rindertuberkelbacillen erworben hatten. Wer aber diesen Schluß nicht als stichhaltig gelten lassen will und wer, wie z. B. neuerdings Joest („Sind tuberkulöse Tiere immun gegen ihre eigenen Tuberkelbacillen?“, Zeitschr. f. Infektionskrankheiten etc. der Haustiere, 6. Bd. 3.—4. Heft) darauf besteht, daß eine solche Immunität der Tiere gegen die eigene Tuberkulose nicht besteht, der wird sagen, daß es sich hier bei diesen tuberkulösen oder tuberkulös erkrankt gewesenen Tieren infolge der überstandenen tuberkulösen Affektion um eine durch Autoinokulation hervorgerufene stärkere Bildung von Opsoninen handelt, die in diesen Fällen natürlich als Immunopsonine zu deuten sind. Auf alle Fälle bleibt es doch recht auffällig, daß bei den 38 Fällen von gegen Rindertuberkelbacillus opsonisch untersuchten tuberkulösen Tieren sich keine abnorm niedrigen opsonischen Indices in vermehrter Zahl finden, daß vielmehr die tuberkulösen Rinder ebenso wie die gesunden Rinder in bloß 7,9 Proz. Indices unter 0,90, und zwar nur zwischen 0,80 und 0,90 zeigen. Das ist ein Verhalten, welches in einem offenkundigen Gegensatz zu dem bei tuberkulösen Menschen steht, und welches den einen von uns (Strubell) veranlaßte, seinen Standpunkt in dieser Frage auf dem internationalen medizinischen Kongreß in Budapest, in der Sektion für innere Medizin, dahin zu präzisieren, daß es sich bei den Rindern offenbar um ganz andere opsonische Immunitätsverhältnisse handelt als beim Menschen (auffällig ist, nebenbei gesagt, die vermehrte Anzahl [16,6 Proz.] der subnormalen Indices gegen MTb. bei den tuberkulösen Tieren). Daß dieser Standpunkt, den Strubell damals im September 1909 ausgesprochen hat, sich nicht auf alle opsonischen Verhältnisse tuberkulöser Infektionen an Rindern ausdehnen läßt, das lehren unsere weiteren eingehenden Erfahrungen an den von Professor Eber uns gütigst zur Verfügung gestellten Seris künstlich infizierten Rinder.

Wir geben zunächst die Reihenfolge der einzelnen Fälle mit den opsonischen Zahlen und den ganz kurzen protokollarischen Notizen, die Herr Prof. Eber uns erst Ende November, resp. Anfang Dezember 1909, zu einem Zeitpunkte, als diese Untersuchungen beinahe völlig abgeschlossen waren, zu übermitteln. Es ist nötig, diese Tatsache, daß wir die klinischen Protokolle Professor Ebers erst so spät bekommen haben, festzustellen, um damit nachzuweisen, daß wir tatsächlich keine Ahnung hatten, was wir eigentlich untersuchten. Wir wußten nur die laufende Nummer der Eberschen Rinder und die Tatsache, daß dieses oder jenes Rind tuberkulös infiziert worden war, ohne über die Art und Provenienz der Infektion irgendwie orientiert zu sein.

Rind No. 87

inf. sk. u. ip. mit Tub., zurzeit noch gesund.

Zeit*der Blut- entnahme	MTb.						RTb.					
	normales Serum			inaktiviertes Serum			normales Serum			inaktiviertes Serum		
	phagoc. Zahl	In- dex		phagoc. Zahl	In- dex		phagoc. Zahl	In- dex		phagoc. Zahl	In- dex	
6. Juli mitt. 12 Uhr	90	98	0,71	—	—	—	201	208	1,03	—	—	—
14. Juli nachm. 4 Uhr	49	55	0,28	35	41	0,21	60	—	0,26	51	54	0,22
22. Juli morg. 8 Uhr	89	97	0,53	56	51	0,29	168	184	0,95	40	42	0,21

Weiblich, ca. 4 Monate alt. Am 2. März 09 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert; keine fieberhafte Allgemeinerkrankung.

Am 23. Juli 1909 (142 Tage n. d. I.) in gutem Ernährungszustand geschlachtet und mit geringgradiger lokaler Bauchfelltuberkulose an der Injektionsstelle behaftet gefunden.

Rind No. 88

inf. sk. u. ip. mit Tub., zurzeit noch gesund.

6. Juli mitt. 12 Uhr	76	72	0,53	50	38	0,34	199	207	1,02	35	30	0,16
14. Juli nachm. 4 Uhr	112	120	0,64	64	76	0,38	148	118	0,58	56	—	0,24
22. August morg. 8 Uhr	109	91	0,56	53	61	0,32	196	—	1,05	58	90	0,38

Weiblich, ca. 4 Monate alt. Am 2. März 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert; vorübergehende leichte Störung des Allgemeinbefindens Ende März bzw. Anfang April, später völlige Erholung, normale Gewichtszunahme, keine fieberhafte Allgemeinerkrankung.

Am 23. Juli 1909 (142 Tage n. d. I.) in gutem Ernährungszustande geschlachtet und mit einer umschriebenen tuberkulösen Infiltration der Halsimpfstelle und geringgradiger lokaler Bauchfelltuberkulose (Imfstelle) behaftet gefunden.

Rind No. 89

inf. sk. u. ip. mit Tub., zurzeit noch gesund.

6. Juli mitt. 12 Uhr	124	118	0,97	56	64	0,46	204	210	1,04	29	34	0,16
14. Juli nachm. 4 Uhr	78	69	0,40	27	35	0,17	88	81	0,37	21	—	0,09

Rind 90 laut Nachricht vom 22. Juli an Tuberkulose gestorben.

Weiblich, ca. 6 Monate alt. Am 15. Juni 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer ursprünglich vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert, die durch Rinderpassage einen hohen Grad von Rindervirulenz erworben hat.

Am 25. Juni 1909 mit schwerem fieberhaften Allgemeinleiden erkrankt, am 19. Juli (34 Tage n. d. I.) an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorben.

Rind No. 91

inf. sk. u. ip. mit Tub., zurzeit noch gesund.

6. Juli mitt. 12 Uhr	114	120	0,89	48	48	0,37	189	202	0,98	38	32	0,17
14. Juli nachm. 4 Uhr	134	127	0,71	91	80	0,47	162	148	0,71	80	82	0,31
22. Juli morg. 8 Uhr	145	127	0,77	48	71	0,33	72	70	0,37	42	50	0,24

Weiblich, ca. 3 Monate alt. Am 9. März 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert; vorübergehende leichte Störung des Allgemeinbefindens Ende März, später völlige Erholung, normale Gewichtszunahme, keine fieberhafte Allgemeinerkrankung.

Am 23. Juli 1909 (136 Tage n. d. I.) in gutem Ernährungszustand geschlachtet und mit einer umschriebenen tuberkulösen Infiltration der Halsimpfstelle und geringgradiger lokaler Bauchfelltuberkulose behaftet gefunden.

Rind No. 92
inf. sk. u. ip. mit Tub., schwerkrank.

Zeit der Blut- entnahme	MTb						RTb					
	normales Serum			inaktiviertes Serum			normales Serum			inaktiviertes Serum		
	phagoc. Zahl	In- dex		phagoc. Zahl	In- dex		phagoc. Zahl	In- dex		phagoc. Zahl	In- dex	
5. Juli mitt. 12 Uhr	42	40	0,31	—	—	—	197	204	1,01	43	37	0,20
6. Juli mitt. 12 Uhr	86	78	0,62	—	—	—	193	202	0,99	41	37	0,19
6. Juli abends 8 Uhr	76	81	0,60	—	—	—	187	199	0,97	18	26	0,11
9. Juli mitt. 12 Uhr	179	178	0,84	50	66	0,26	256	269	1,15	46	44	0,19

Tier liegt in Agonie.

Weiblich, ca. 3 Monate alt. Am 5. Juni 1909 subkutan und intraperitoneal mit Organmaterial von einem Meerschweinchen, das mit ursprünglich vom Menschen stammenden rindervirulenten tuberkulösen Material geimpft war; am 15. Juni schwerfieberhaft erkrankt.

Am 10. Juli 1909 (35 Tage n. d. I.) an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorben.

Rind No. 93
inf. sk. u. ip. mit Tub., schwerkrank.

5. Juli mitt. 12 Uhr | 81 | 74 | 0,58 | — | — | — | 200 | 208 | 1,07 | — | — | —

Weiblich, ca. 3 Monate alt. Am 5. Juni 1909 subkutan und intraperitoneal infiziert mit Organmaterial von einem Meerschweinchen, das mit ursprünglich vom Menschen stammendem rindervirulenten tuberkulösen Material geimpft war.

Am 13. Juni schwer fieberhaft erkrankt; am 6. Juli 1909 (31 Tage n. d. I.) an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose gestorben.

Rind No. 94
gesund.

6. Juli mitt. 12 Uhr	116	126	0,92	29	32	0,23	207	199	1,02	28	33	0,15
14. Juli nachm. 4 Uhr	175	179	0,97	82	97	0,49	84	71	0,34	53	48	0,21
19. Juli abends 6 Uhr	168	184	0,99	36	42	0,22	87	116	0,54	18	30	0,12
20. Juli morg. 8 Uhr mit Tb infiziert 20. Juli vorm. 10 Uhr	156	174	0,94	43	39	0,23	111	138	0,66	42	46	0,23
20. Juli abends 6 Uhr	159	181	0,97	28	37	0,18	160	215	1,00	24	26	0,13
21. Juli abends 6 Uhr	165	173	0,96	23	29	0,14	114	118	0,61	16	38	0,14
22. Juli morg. 8 Uhr	156	165	0,91	34	41	0,19	130	129	0,69	32	42	0,19
24. Juli abends 6 Uhr	165	157	0,94	28	34	0,18	26	36	3,10?	26	16	2,00?
25. Juli morg. 9 Uhr	172	164	0,98	36	52	0,26	32	54	4,30?	16	—	1,60?
26. Juli morg. 8 Uhr	158	171	0,96	27	50	0,22	24	—	2,40?	4	3	0,30?
28. Juli morg. 9 Uhr	152	161	0,94	28	33	0,18	—	—	—	—	—	—
29. Juli morg. 8 Uhr	181	202	1,14	41	53	0,28	—	—	—	—	—	—
10. Aug. abends 6 Uhr	142	160	0,85	190	222	1,16	3	20	0,23?	32	35	0,65?
11. Aug. morg. 8 Uhr	122	138	0,73	54	87	0,39	46	51	0,92?	15	22	0,34?
18. Aug. morg. 8 Uhr	205	207	0,93	44	48	0,20	21	26	2,60?	15	20	1,70?
18. Aug. abends 6 Uhr	117	144	0,59	55	61	0,26	8	13	1,00?	15	16	1,50?
26. Aug. abends 6 Uhr	177	196	1,06	55	82	0,39	3	7	1,67?	0	3	0,67?
27. Aug. morg. 8 Uhr	156	159	0,90	90	94	0,52	5	—	1,67?	1	2	0,67?
2. Sept. abends 6 Uhr	107	125	1,10	50	61	0,52	2	3	1,00?	0	0	0 ?
3. Sept. morg. 8 Uhr	96	109	0,97	39	47	0,41	0	1	0,50?	0	0	0 ?
8. Sept. abends 6 Uhr	170	—	1,22	62	87	0,53	2	3	0,33?	—	—	—
9. Sept. morg. 8 Uhr	104	152	0,92	46	78	0,44	—	—	—	—	—	—
10. Sept. abends 6 Uhr	148	—	1,07	61	76	0,48	—	—	—	—	—	—
16. Sept. abends 6 Uhr	108	114	0,70	54	71	0,39	103	130	0,57	28	26	0,11
17. Sept. morg. 8 Uhr	127	117	0,77	62	57	0,38	115	150	0,59	51	64	0,23
30. Sept. abends 6 Uhr	92	104	0,69	34	47	0,29	148	136	0,66	36	43	0,13
1. Okt. morg. 8 Uhr	88	106	0,68	38	27	0,23	154	126	0,63	51	39	0,21
2. Nov. abends 6 Uhr	138	146	0,84	61	74	0,48	157	163	0,72	62	54	0,26
9. Nov. morg. 8 Uhr	105	113	0,66	42	30	0,21	129	137	0,74	34	47	0,22
23. Nov. morg. 8 Uhr	137	127	0,82	—	—	—	129	137	0,70	—	—	—

Weiblich, ca. 4 Monate alt. Am 20. Juli 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert. Kinder-

faustgroße, später etwas fluktuierende Anschwellung an der Halsimpfstelle; vorübergehende leichte Störung des Allgemeinbefindens Ende Juli bezw. anfangs August, später völlige Erholung, normale Gewichtszunahme, keine fieberhafte Allgemeinerkrankung.

Am 26. Nov. 1909 (137 Tage n. d. I.) geschlachtet und mit einem gänseeigenen abgekapselten tuberkulösen Absceß an der Halsimpfstelle, haselnußgroßer tuberkulöser Infiltration der Bauchimpfstelle und geringgradiger lokaler Bauchfelltuberkulose (Impfstelle) behaftet gefunden.

Rind No. 95
gesund.

Zeit der Blutentnahme	MTb						RTb					
	normales Serum			inaktiviertes Serum			normales Serum			inaktiviertes Serum		
	phagoc. Zahl	In-dex		phagoc. Zahl	In-dex		phagoc. Zahl	In-dex		phagoc. Zahl	In-dex	
24. Juli morg. 10 Uhr Rd. 95 mit Tb. infiziert	181	176	1,05	45	36	0,23	8	18	1,30?	4	5	0,50?
24. Juli 10 ^{1/4} Uhr												
24. Juli abends 6 Uhr	169	174	1,00	59	53	0,33	8	22	1,50?	10	6	0,80?
25. Juli morg. 9 Uhr	176	164	1,00	39	41	0,23	24	—	2,40?	4	2	0,30?
26. Juli morg. 8 Uhr	163	170	0,98	48	41	0,26	20	30	2,50?	2	4	0,30?
28. Juli morg. 9 Uhr	168	164	0,99	56	49	0,31	—	—	—	—	—	—
29. Juli morg. 8 Uhr	137	151	0,85	19	23	0,12	—	—	—	—	—	—
10. Aug. abends 6 Uhr	135	162	0,84	75	52	0,35	21	27	0,46?	20	32	0,50?
11. Aug. morg. 8 Uhr	179	—	1,01	96	—	0,54	18	26	0,42?	42	—	0,80?

Rind 95 ist laut Nachricht vom 19. August gestorben.

Weiblich, ca. 3 Monate alt. Am 24. Juli 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer ursprünglich vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert, die durch Rinderpassage einen hohen Grad von Rindervirulenz erworben hat.

Am 30. Juli 1909 schwer fieberhaft erkrankt; am 17. August 1909 (24 Tage n. d. I.) an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorben.

Rind No. 96
gesund.

26. Juli morg. 8 Uhr	154	173	0,96	32	27	0,18	28	20	2,40?	2	4	0,30?
28. Juli morg. 9 Uhr	170	162	0,99	19	27	0,13	—	—	—	—	—	—
29. Juli morg. 8 Uhr	168	174	1,02	26	33	0,18	—	—	—	—	—	—
Rd. 96 wurde am 6. Aug. mit Tb. infiziert												
10. Aug. abends 6 Uhr	130	—	0,73	41	70	0,31	15	—	0,29?	9	13	0,21?
11. Aug. morg. 8 Uhr	204	208	1,16	69	91	0,44	47	58	1,00?	20	28	0,46?
18. Aug. morg. 8 Uhr	144	180	0,73	92	94	0,41	7	15	1,10?	5	11	0,80?
18. Aug. abends 6 Uhr	157	180	0,76	59	—	0,26	4	5	0,40?	3	7	0,50?

Das Tier ist laut Mitteilung vom 19. August schwerkrank.

Rind 96 ist laut Mitteilung vom 28. August an generalisierter Tub. gestorben.

Weiblich, ca. 3 Monate alt. Am 2. August 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer ursprünglich vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert, die durch Rinderpassage einen hohen Grad von Rindervirulenz erworben hat; am 8. Juli 1909 schwer fieberhaft erkrankt.

Am 23. August 1909 (21 Tage n. d. I.) an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorben.

Rind No. 99
gesund.

9. Sept. abends 6 Uhr Dem Tier wurden am 9. Sept. abd. 8 U. 0,5 ccm Tuberkulin injiziert	86	99	0,66	19	31	0,18	—	—	—	—	—	—
16. Sept. abends 8 Uhr	132	120	0,79	23	37	0,18	105	114	0,49	18	23	0,08
30. Sept. abends 6 Uhr	117	124	0,85	42	46	0,31	126	134	0,59	34	57	0,21
1. Okt. morg. 8 Uhr	127	121	0,88	49	27	0,27	165	153	0,72	42	49	0,21
2. Okt. abends 6 Uhr	165	154	0,94	49	36	0,30	187	165	0,80	34	47	0,18
9. Okt. morg. 8 Uhr	135	121	0,78	38	22	0,18	115	122	0,68	42	34	0,21
23. Nov. morg. 8 Uhr	87	93	0,56	—	—	—	132	125	0,68	—	—	—

Zeit der Blut- entnahme	MTb				RTb							
	normales Serum		inaktiviertes Serum		normales Serum		inaktiviertes Serum					
	phagoc. Zahl	In- dex	phagoc. Zahl	In- dex	phagoc. Zahl	In- dex	phagoc. Zahl	In- dex				
Rind No. 100 gesund.												
26. Okt. mitt. 1 Uhr Das Tier wurde am 26. Okt. nachm. 2 Uhr mit Tb. infiziert.	182	171	1,05	52	43	0,28	189	203	0,96	64	53	0,26
27. Okt. morg. 8 Uhr	175	189	1,09	41	44	0,24	217	212	1,05	59	47	0,23
27. Okt. abends 6 Uhr	178	160	1,03	54	49	0,30	232	221	1,10	68	53	0,27
28. Okt. morg. 8 Uhr	170	174	1,03	47	35	0,23	228	219	1,09	63	54	0,26
2. Nov. abends 6 Uhr	154	170	0,96	29	53	0,29	196	184	0,86	56	71	0,28
3. Nov. morg. 8 Uhr	167	159	0,97	48	36	0,29	188	174	0,84	50	38	0,20
11. Nov. morg. 8 Uhr	146	130	0,84	45	58	0,32	197	182	1,05	56	68	0,34

Weiblich, ca. 3 Monate alt. Am 26. Okt. 1909 subkutan und intraperitoneal mit je 5 cg einer ursprünglich vom Menschen stammenden Tuberkelbacillenreinkultur infiziert, die durch Rinderpassage einen hohen Grad von Rindervirulenz erworben hat.

Am 2. Nov. 1909 mit schwerem fieberhaften Allgemeinleiden erkrankt. Am 23. Nov. 1909 (28 Tage n. d. I.) an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorben.

Bei den sämtlichen Seren wurde der opsonische Index gegen Typus humanus und Typus bovinus untersucht, darnach in der Mehrzahl der Fälle die Sera inaktiviert und dann nochmals gegen MTb. und RTb. opsoniert. Das Datum der Infektion und der klinische Verlauf ist in den Protokollen nachzulesen, und wir müssen nur noch mit Bedauern bemerken, daß in der Zeit vom 10. Aug. bis 15. Sept. 1900 ein Kollege, der uns unterstützte, in Abwesenheit von uns Beiden zwar die tuberkulo-opsonischen Indices gegen MTb. sehr gut und zuverlässig bestimmt, aber in Ermangelung einer geeigneten Emulsion von RTb. leider völlig unzuverlässige Indices gegen RTb. erhalten hat. Der Herr war im Opsonieren und Zählen schon sehr geschickt, aber technisch noch nicht genügend geschult, um selbständig eine neue Tuberkelbacillenemulsion einzustellen, und durch dieses Unvermögen ist leider eine Zeit von 5 Wochen, wenigstens für die Frage des Index gegen RTb. ungenützt verstrichen. Die fraglichen Indices gegen RTb. sind mit Fragezeichen versehen und wären, wenn überhaupt, dann nur mit allergrößter Vorsicht zu verwerten.

Was nun die Resultate an den mit massiven Dosen von vom Menschen stammender und zum Teil durch Tierpassage rindervirulent gemachter Tuberkelbacillen infizierter Rinder anlangt, so sehen wir hier freilich bei den exquisiten und zum Teil zum Tode führenden tuberkulösen Erkrankungen dieser Tiere (ein Teil der Versuchsrinder, nämlich die direkt mit MTb ohne vorherige rindervirulent machende Tierpassage Geimpften, erholte sich auch und wurde diagnoseos causa geschlachtet) deutlich in die Augen springende Schwankungen sowohl des opsonischen Index gegen MTb. wie gegen RTb., Schwankungen, welche durchaus nicht untereinander identisch sind. Wir sehen, daß unter brüskten Schwankungen die Indices häufig tief herunter gehen, so z. B. bei Rind 98, das am 15. Juni infiziert, am 19. Juli an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorben ist. Hier war der Index am 6. Juli gegen MTb. 0,97, gegen RTb. 1,04, während am 14. Juli, also 5 Tage vor dem Tode, er gegen MTb. 0,40, gegen RTb. 0,37 betrug. Daß der Index nicht immer

ante mortem so tief zu stehen braucht, beweist das Verhalten von Rind 92, bei dem sich übrigens eine höchst merkwürdige und interessante eklatante Differenz zwischen dem opsonischen Index gegen MTb. und dem gegen RTb. erkennen läßt. Während der opsonische Index gegen MTb. am 5. Juli 0,31 beträgt, ist der opsonische Index gegen RTb. am selben Tage 1,01 und hält sich bei diesem am 10. Juli an ausgebreiteter Bauchfelltuberkulose und akuter Miliartuberkulose der Lungen gestorbenen Tiere dauernd auf der Höhe der Norm oder erreicht übernormale Werte (1,15), während sich der Index gegen MTb. in subnormalen Gegenden bewegt, allerdings einen Tag vor dem Tode bis auf 0,84 wieder ansteigt. Wir haben, als wir diese merkwürdigen Resultate erhoben, nicht gewußt, daß das tuberkulöse Material, womit das Tier infiziert worden war, vom Menschen stammte und erst später rindervirulent gemacht worden ist. Es ist dies jedenfalls doch höchst merkwürdig und wirft auf die Bedeutung der opsonischen Untersuchungen ein ganz besonderes Schlaglicht, daß hier dieses durch einen ursprünglich zum Typus humanus gehörenden Bacillus infizierte und später zugrunde gegangene Tier die starke Erniedrigung seines Index nur gegen MTb., nicht aber gegen RTb. aufweist. Ähnlich aufzufassen sind die Zahlen von Rind No. 93. Aber nicht in allen Fällen war ein gleiches Verhalten zu beobachten. Besondere Schwierigkeiten verursacht die Deutung der Zahlen von Rind 94, bei dem bereits vor der Infektion die Indices gegen RTb. beträchtlich schwanken und tief subnormal sind, während der Index gegen MTb. eine ganze Zeit lang auf der Höhe bleibt, um erst 3 Wochen nach der Infektion vorübergehend herabzusinken, ein Verhalten, das sehr bald durch erneute Steigerungen bis über die Norm (1,10:1,21 MTb.) ausgeglichen wird. Die Zahlen gegen RTb. sind im August bei diesem Falle nicht zu gebrauchen.

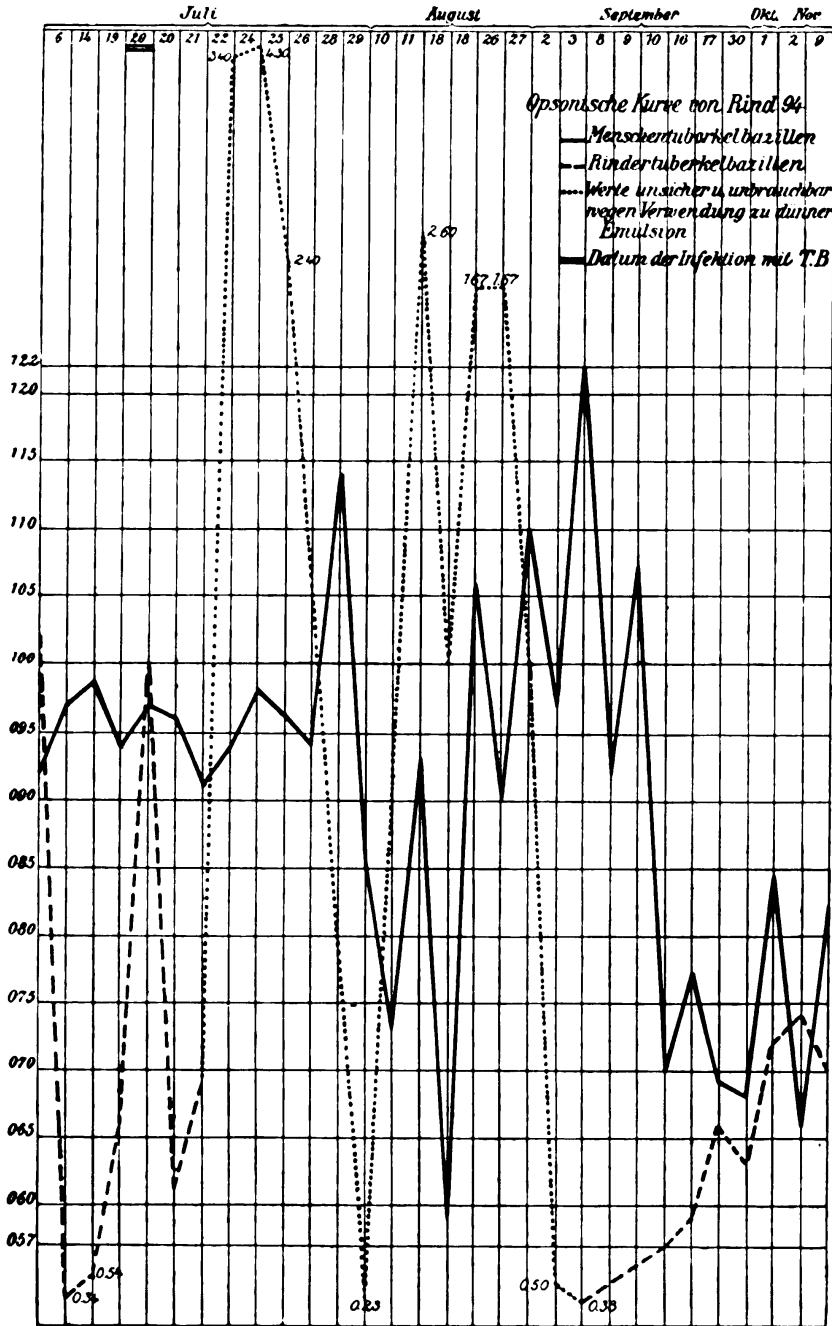
Bei Rind No. 95 ließen sich trotz der am 24. Juli ausgeführten erfolgreichen Infektion mit ursprünglichen MTb., die durch Rinderpassage wieder virulent gemacht worden waren, welche am 19. Aug. zum Tode führte, keine tiefen Senkungen oder stärkere Erhöhungen des Index gegen MTb. feststellen, der vielmehr nicht unter 0,84 herunterging, und am 8. Nov., d. h. 8 Tage vor dem Tode 1,01 betrug. Leider sind in diesem Falle die Indices gegen RTb. aus dem oben erwähnten Grunde nicht zu brauchen.

Rind No. 99 zeigt bereits am Tage der Infektion 2 Stunden vor derselben einen Index von 0,66 gegen MTb., was ebenso wie die Beobachtungen bei Rind No. 94 (RTb.) unseren übrigen Erfahrungen strikte widerspricht.

Wir können die Möglichkeit nicht völlig von der Hand weisen, daß eventuell bei solchen Tieren eine klinisch nicht erkennbare tuberkulöse Erkrankung bereits in dem Tier gesteckt haben könnte.

In Tabelle VII bringen wir die opsonische Kurve von Rind No. 94, welches am 20. Juli 1909 mit vom Menschen stammenden Tuberkelbacillen geimpft worden war und nur eine kinderfaustgroße, später etwas fluktuierende Anschwellung an der Halsimpfstelle, nur vorübergehende leichte Störung des Allgemeinbefindens Ende Juli und Anfang August, später völliges Wohlbefinden zeigte. Die Schwankungen sowohl des Index gegen MTb. als gegen RTb. kommen deutlich zur Geltung, wobei die blaugestrichelt gezeichneten Teile der Kurve gegen RTb. als unsichere nur mit Vorsicht zu verwerten sind.

Tabelle VII.



Auf den beiden Tabellen VIII u. IX bringen wir eine Uebersicht über die Lagerung der opsonischen Indices gegen MTb. und RTb. Aus den beiden Tabellen ergibt sich, daß der O. I. gegen MTb. bei 85 Bestimmungen in 50,7 Proz., der gegen RTb. bei 53 Bestimmungen in 54,2 Proz. sich innerhalb der Norm zwischen 0,90 und 1,10 bewegt, während 45,8 Proz. der Indices gegen MTb. und 52,7 Proz. der gegen RTb. unterhalb der Norm sich bewegen, und nur 3,5 Proz. der Indices gegen MTb. und 1,9 Proz. gegen RTb. über die Norm, d. h. über 1,10 hinausgehen. Das sind allerdings Resultate, die in einem sehr offenkundigen Gegensatz zu den an den 80 Schlachtrindern gewonnenen stehen und die den Nachweis

Tabelle VIII. Aktives Serum: MTb.

Rd. No.	Indices									Zahl der ops. Best.	Der opson. Index war:						
											unter 0,80	0,80—0,90	0,90—0,94	0,95—1,05	1,06—1,10	1,11—1,20	1,21—
87	0,71	0,28	0,53	3	3
88	0,53	0,64	0,56	3	3
89	0,97	0,40	2	1
91	0,89	0,71	0,77	3	2	1
92	0,31	0,62	0,60	0,84	4	3	1
93	0,58	1	1
94	0,92	0,97	0,99	0,94*	0,97	0,96	0,91	0,94	0,98	30	7	2	8	7	3	1	1
	0,96	0,94	1,14	0,85	0,73	0,93	0,59	1,06	0,90								
	1,10	0,97	1,22	0,92	1,07	0,70	0,77	0,69	0,68								
	0,84	0,66	0,82								
95	1,05*	1,00	1,00	0,98	0,99	0,85	0,84	1,01	.	8	.	2	.	6	.	.	.
96	0,96	0,99	1,02*	0,73	1,16	0,73	0,76	.	.	7	3	.	.	3	.	1	.
99	0,66	0,79	0,85	0,88	0,94	0,78	0,56	.	.	7	4	2	1
100	1,05*	1,09	1,03	1,03	0,06	0,98	0,84	.	.	7	7	1	.	5	1	.	.
101	0,98	1,04	0,92	0,88	4	.	1	1	2	.	.	.
102	0,91	0,85	2	.	1	1
103	1,03	0,76	2	1	.	.	1	.	.	.
104	0,90	1	.	.	1
105	1,08	1	.	.	.	1	.	.	.
in Proz. ausgedrückt:										85	28	11	12	26	5	2	1
											32,9	12,9	14,2	30,6	5,9	2,3	1,2
											45,8%		50,7%			3,5%	

Tabelle IX. Aktives Serum: RTb.

Rd. No.	Indices								Zahl der ops. Best.	Der opson. Index war:							
										0,80	0,80—0,90	0,90—0,94	0,95—1,05	1,06—1,10	1,11—1,20	1,21—	
87	1,03	0,26	0,95	3	1	.	.	2
88	1,02	0,58	1,05	3	1	.	.	2
89	1,04	0,37	2	1	.	.	1
91	0,98	0,71	0,37	3	2	.	.	1
92	1,01	0,99	0,97	1,15	4	.	.	.	3	.	1	.	.
93	1,07	1	1	.	.	.
94	1,02	0,34	0,54	0,66*	1,00	0,61	0,69	—	14	12	.	.	2
	0,57	0,59	0,66	0,63	0,72	0,74	0,70										
95
96
99	—	0,49	0,59	0,72	0,80	0,68	0,68	.	6	5	1
100	0,96*	1,05	1,10	1,09	0,86	0,84	1,05	.	7	2	.	.	3	2	.	.	.
101	0,97	0,96	1,02*	0,95	4	.	.	.	4
102	0,95	0,80	2	1	1	.	1
103	0,90	0,79	2	1	.	1
104	1,01	1	.	.	.	1
105	0,60	1	1
in Proz. ausgedrückt:										53	26	2	1	21	2	1	.
											49	3,7	1,9	39,6	3,7	1,9	.
											52,7%		45,2%			1,9%	

liefern, daß wenn eine tuberkulöse Infektion nur massiv genug ist, sie auch den O. I. in ganz exquisiter Weise beeinflußt, und zwar, wie diese beiden Tabellen zeigen, mit einer ganz unverkennbaren Tendenz nach unten. Es läßt sich nicht verkennen, daß hier, wo experimenti causa die Tiere solche Dosen Tuberkelbacillen injiziert bekamen, der Index sowohl gegen MTb. wie gegen RTb. in demselben Sinne, wenigstens bei der durchschnittlichen Gesamtübersicht der Indices, nach unten bewegt. Das schließt, wie wir bereits oben gesehen haben, nicht aus, daß gelegentlich der O. I. gegen MTb. und gegen RTb. durchaus nicht zu korrespondieren brauchen, daß vielmehr ihre Schwankungen, wie zuverlässige Bestimmungen beweisen, durchaus nicht gleichsinnige zu sein brauchen.

Auf alle Fälle ist durch diese unsere Untersuchungen dargetan, daß die Bestimmung des opsonischen Index auch bei Rindern als ein ganz exquisites diagnostisches Kriterium zu gelten hat, wenn man nur nicht die Forderung stellt, daß man aus einer oder wenigen Indexbestimmungen stets die ganze Diagnose, Prognose etc. ablesen können müsse. Wir glauben an dieser Stelle noch besonders hinweisen zu dürfen, daß die ersten 34 Fälle in unserer auf MTb. sich beziehenden Tabelle behandelte Fälle waren, d. h. solche, die nicht nur gelegentlich, sondern systematisch Tuberkulineinspritzungen bekommen haben. Das erklärt das teilweise und im Gegensatz zu diesen letzten beiden Rindertabellen vorhandene Hervortreten von normalen Indices. Unsere unbehandelten Fälle No. 35—52 der auf menschlichem Krankenmaterial aufgebauten Tabelle zeigen eine weit geringere Neigung zum Auftreten übernormaler Indices.

In den Tabellen X u. XI bringen wir die Uebersicht unserer opsonischen Untersuchungen inaktivierter Sera gegen MTb. und RTb. Da ist vor allen Dingen die interessante Tatsache festzustellen, daß die Indices der inaktivierten Sera gegen MTb. wesentlich höhere waren, als die gegen RTb. Unter 73 Bestimmungen des opsonischen Index an inaktivierten Seren gegen MTb. betrug der Index in 38,3 Proz. über 0,30, während er bei den inaktivierten Seren gegen RTb. nur in 6,80 Proz. über 0,30 sich erhob. Wir haben den Eindruck, daß es sich bei dieser Feststellung vielleicht um das wichtigste Resultat unserer ganzen Untersuchungen handelt, denn wir ersehen daraus, daß bei diesen mit ursprünglich vom Menschen stammenden, zum Teil freilich durch Tierpassage rindervirulent gemachten, Tuberkelbacillen infizierten Rindern sich beträchtlich mehr Immunopsonine gegen MTb. als gegen RTb. gebildet haben. Wir wiederholen, daß wir, als die Untersuchungen angestellt wurden, nicht gewußt haben, welcher Art und Provenienz die Infektionskeime waren, welche Prof. Eber verwendet hat, ebenso wie überhaupt niemals in unserem Laboratorium ein Untersucher, wenn er zählt, eine Ahnung davon hat, was für ein Präparat er eigentlich zählt. Vielmehr werden die Präparate beim Opsonieren einfach numeriert und erst nach der Zählung die gefundenen Resultate in das Protokollbuch eingetragen. Die Feststellung also, daß die inaktivierten Sera der Eberschen Rinder gegen MTb. 38,3, gegen RTb. nur 6,80 Proz. der Indices über 0,30 aufwiesen, kam also für uns ebenso überraschend nach dem Abschluß der mühselig aufzustellenden Tabellen, wie die Nachricht, welche Prof. Eber uns zukommen ließ, daß es sich bei diesen Rindern ausschließlich um mit ursprünglichen MTb. infizierte Tiere handele. Es

Tabelle XI. Inaktiviertes Serum RTb.

Ra. N ^o .	Indices	Zahl der Opf. Tiere	Der Index betrug															
			0,00 bis 0,10	0,11 bis 0,20	0,21 bis 0,30	0,31 bis 0,40	0,41 bis 0,50	0,51 bis 0,60	0,61 bis 0,70	0,71 bis 0,80	0,81 bis 0,90	0,91 bis 1,00	über 1,00					
87	20 Min. 0,22 15 Min. 0,21	2	.	.	2
88	20 Min. 0,16 15 Min. 0,38	3	.	1	1
89	20 Min. 0,09 15 Min. 0,24	2	1	1
91	20 Min. 0,17 20 Min. 0,31	3	.	1	1
92	20 Min. 0,20 15 Min. 0,19	4	.	4
93	20 Min. 0,15 15 Min. 0,23*																	
94	15 Min. 0,19																	
95	10 Min. 0,13	13	.	.	6
96	10 Min. 0,21 15 Min. 0,26																	
99	5 Min. 0,08 10 Min. 0,21	5	1	1	3
100	10 Min. 0,26* 15 Min. 0,18	7	.	1	5	.	1
101	15 Min. 0,18 1/2 Std. 0,17	3	.	3
102	1/2 Std. 0,16	1	.	1
103		1	.	1
104		—
105		—
		44	2	21	18	3
			4,6	47,7	40,9	6,8
		in Prozenten ausgedrückt																

Tabelle X. Inaktiviertes Serum. MTb.

Rd. No.	Indices	Zahl der Körper	Der Index betrug												über 1,00		
			0,00 bis 0,10	0,11 bis 0,20	0,21 bis 0,30	0,31 bis 0,40	0,41 bis 0,50	0,51 bis 0,60	0,61 bis 0,70	0,71 bis 0,80	0,81 bis 0,90	0,91 bis 1,00					
87	20 Min. 15 Min. 0,21 0,29	2	.	2
88	20 Min. 15 Min. 0,34 0,38	3	.	.	3
89	20 Min. 0,46 0,17	2	.	1
91	20 Min. 15 Min. 0,37 0,33	3	.	.	2	1
92	—	1
93	—	—
94	20 Min. 15 Min. 15 Min. 15 Min. 0,23 0,49 0,22 0,23* 0,18 0,14 0,19	—
10	10 Min. 10 Min. 10 Min. 10 Min. 0,18 0,26 0,22 0,18 0,28 1,16 0,39	6	.	6	4	5	3	1
10	10 Min. 10 Min. 10 Min. 15 Min. 15 Min. 0,20 0,26 0,39 0,52 0,41 0,63	29
15	15 Min. 5 Min. 10 Min. 15 Min. 0,44 0,48 0,39 0,38 0,29 0,23 0,48	8
10	10 Min. 10 Min. 10 Min. 10 Min. 0,23 0,33 0,23 0,26 0,31 0,12 0,35	8	.	1	3	3	1
10	10 Min. 10 Min. 10 Min. 10 Min. 0,54 0,18 0,13 0,31 0,44 0,41 0,26	7	.	.	3	1	2
96	10 Min. 10 Min. 10 Min. 10 Min. 10 Min. 0,18 0,18 0,18 0,31 0,27 0,30 0,18	6	.	.	3	2	1
99	10 Min. 10 Min. 10 Min. 15 Min. 15 Min. 0,24 0,28* 0,24 0,30 0,23 0,29 0,32	7	.	.	.	6	1
100	15 Min. 1/2 Std. 1/2 Std. 0,26 0,28 0,18	3	.	1	2
101	1/2 Std. 1/2 Std. 0,15 0,23	1	.	1
102	1/2 Std. 1/2 Std. 0,23	1
103	—	—
104	—	—
105	—	—
		73	0	16	28	15	9	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		.	0	21,9	38,3	20,5	12,3	5,5	1,3
			38,3 Proz.														

In Prozenten ausgedrückt

Tabelle XI. Inaktiviertes Serum RTb.

Rd.No.	Indices	Zahl der Prob.	Der Index betrug														
			0,00 bis 0,10	0,11 bis 0,20	0,21 bis 0,30	0,31 bis 0,40	0,41 bis 0,50	0,51 bis 0,60	0,61 bis 0,70	0,71 bis 0,80	0,81 bis 0,90	0,91 bis 1,00	über 1,00				
87	20 Min. 15 Min. 0,22 0,21	2	.	.	2
88	20 Min. 15 Min. 0,16 0,24	3	.	1	1
89	20 Min. 20 Min. 0,16 0,09	2	1	1
91	20 Min. 15 Min. 0,17 0,24	3	.	1	1
92	20 Min. 20 Min. 0,20 0,19	4	.	4
93	20 Min. 15 Min. 15 Min. 0,15 0,12 0,23*	
94	15 Min. 15 Min. 15 Min. 0,19 — —	
95	10 Min. 10 Min. 15 Min. 0,13 0,21 0,26	13	.	.	6
96	10 Min. 10 Min. 15 Min. 1/3 Std. 0,13 0,21 0,26 0,22	
99	5 Min. 10 Min. 10 Min. 15 Min. 1/3 Std. 0,08 0,21 0,21 0,18 0,21	5	1	1	3
100	10 Min. 10 Min. 10 Min. 15 Min. 1/3 Std. 0,26* 0,23 0,27 0,28 0,20	7	.	1	5	.	1
101	15 Min. 15 Min. 1/3 Std. 0,18 0,14	3	.	3
102	1/3 Std. 1/3 Std. 0,17 0,17	1	.	1
103	1/3 Std. 1/3 Std. 0,16	1	.	1
104	—	—
105	—	—
		44	2	21	18	3
			4,6	47,7	40,9	6,8
			in Prozenten ausgedrückt														

ist offenbar, daß diese Rinder wirklich im wesentlichen mehr Immunopsonine gegen MTb. als gegen RTb. gebildet haben, und dies würde, wenn weitere Untersuchungen diese Resultate bestätigen, für die Zukunft allerdings ein ganz wichtiges Kriterium für die Beurteilung tuberkulöser Infektionen und ihrer Provenienz darstellen.

Daß auch andere Autoren auf die Thermostabilität der Immunopsonine und ihr prozentuales Uebrigbleiben nach der Inaktivierung der Sera für die Diagnose tuberkulöser Affektionen Gewicht legen, beweist auch neuerdings die Arbeit von Erhardt Schmidt, welcher unter 356 Indices inaktivierter Sera 182 opsonische Indices bei 103 Nichttuberkulösen 74 opsonische Indices bei 38 Tuberkulösen untersuchte. Erhardt Schmidt nimmt als den Grenzwert zwischen inaktiviertem Normal- und Immuserum einen opsonischen Index von 0,34 an, als die höchste bei sicher Nichttuberkulösen gefundenen Zahl. Diese Zahl von 0,34 entspricht auch der von Böhme (Münchn. med. Wochenschr. No. 22 u. 23) gefundenen. Erhardt Schmidt zieht aus seinen Untersuchungen über Tuberkulose-Immunopsonine den Schluß, daß Indices inaktivierter Sera,

Tabelle XII. MTb.

Rd. No.	Die Verkleinerung, die der opsonische Index durch das Inaktivieren des Serums erleidet, beträgt in Proz.						
		20 Min.	15 Min.				
87	—	25 Proz.	45 Proz.				
	20 Min.	20 Min.	15 Min.				
88	36 Proz.	41 Proz.	43 Proz.				
	20 Min.	20 Min.					
89	52 Proz.	58 Proz.					
	20 Min.	20 Min.	15 Min.				
91	59 Proz.	34 Proz.	56 Proz.				
			20 Min.				
92	—	—	69 Proz.				
93	—	—					
	20 Min.	20 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.
94	75 Proz.	50 Proz.	78 Proz.	75 Proz.	82 Proz.	87 Proz.	79 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.
	81 Proz.	74 Proz.	77 Proz.	81 Proz.	76 Proz.	14 Proz.*	47 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.
	79 Proz.	56 Proz.	64 Proz.	42 Proz.	53 Proz.	58 Proz.	58 Proz.
	15 Min.	15 Min.	5 Min.	5 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.
	52 Proz.	55 Proz.	44 Proz.	51 Proz.	58 Proz.	66 Proz.	43 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.
95	78 Proz.	67 Proz.	77 Proz.	74 Proz.	69 Proz.	86 Proz.	59 Proz.
	10 Min.						
	47 Proz.						
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.
96	81 Proz.	87 Proz.	83 Proz.	58 Proz.	62 Proz.	44 Proz.	66 Proz.
	10 Min.	5 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	
99	73 Proz.	77 Proz.	64 Proz.	70 Proz.	68 Proz.	77 Proz.	
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.
100	73 Proz.	78 Proz.	61 Proz.	88 Proz.	70 Proz.	71 Proz.	62 Proz.
	15 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.				
101	74 Proz.	73 Proz.	81 Proz.				
	$\frac{1}{2}$ Std.						
102	84 Proz.						
	$\frac{1}{2}$ Std.						
103	78 Proz.						
104	—						
105	—						

die höher als 0,34 vor und besonders nach der Injektion von Tuberkulin zu liegen kommen, „mit großer Wahrscheinlichkeit für Tuberkulose sprechen, während niedrige Indices auch bei Tuberkulösen häufig vorkommen, diagnostisch also nicht verwertbar sind“.

Tabelle XIII. RTb.

Rd. No.	Die Verkleinerung, die der opsonische Index durch das Inaktivieren des Serums erfährt, beträgt in Proz.					
87	—	20 Min.	15 Min.	—	—	—
	20 Min.	16 Proz.	78 Proz.	—	—	—
88	85 Proz.	20 Min.	15 Min.	—	—	—
	20 Min.	59 Proz.	64 Proz.	—	—	—
89	85 Proz.	20 Min.	—	—	—	—
	20 Min.	77 Proz.	—	—	—	—
91	91 Proz.	20 Min.	15 Min.	—	—	—
	20 Min.	57 Proz.	35 Proz.	—	—	—
92	20 Min.	20 Min.	20 Min.	20 Min.	—	—
	81 Proz.	81 Proz.	89 Proz.	84 Proz.	—	—
93	—	—	—	—	—	—
	20 Min.	20 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.
94	86 Proz.	38 Proz.	78 Proz.	65 Proz.	87 Proz.	77 Proz.
	15 Min.	—	—	—	—	—
	73 Proz.	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	5 Min.	5 Min.
	—	—	—	—	81 Proz.	61 Proz.
	10 Min.	10 Min.	15 Min.	—	—	—
95	81 Proz.	67 Proz.	64 Proz.	71 Proz.	—	—
96	—	—	—	—	—	—
	—	5 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.
99	—	83 Proz.	65 Proz.	71 Proz.	78 Proz.	69 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	15 Min.
100	73 Proz.	78 Proz.	75 Proz.	76 Proz.	68 Proz.	76 Proz.
	15 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	—	—	$\frac{1}{2}$ Std.
101	81 Proz.	81 Proz.	87 Proz.	—	—	—
	$\frac{1}{2}$ Std.	—	—	—	—	—
102	82 Proz.	—	—	—	—	—
	$\frac{1}{2}$ Std.	—	—	—	—	—
103	82 Proz.	—	—	—	—	—
104	—	—	—	—	—	—
105	—	—	—	—	—	—

Welche Verkleinerung der opsonische Index gegen MTb. und RTb. durch das Inaktivieren der Sera erleidet, ist aus den beiden Tabellen XII u. XIII zu ersehen, wozu wir zu bemerken haben, daß nach Wright [s. auch Sauerbeck: Neue Tatsachen und Theorien in der Immunitätsforschung (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse der Pathologie. 11. Jg., Wiesbaden 1907. No. 754)] die Zerstörung des labilen Teiles der Opsonine sehr rasch vor sich geht, indem schon nach wenigen, 1—3 Minuten, der endgültige Zustand erreicht wird. So war der Index z. B.

	am Ende der 1.	2.	3. Minute
für Normalserum	von 20 auf 5,	auf 1,	auf 0,5
für Immunserum	von ca. auf 50,18	nicht weiter gefallen	

Auch Wright hezeichnet die Bestimmung der Differenz des Index im erhitzten und nichterhitzten Serum (auf 10 Minuten bei 60°) als ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel. Ist die Differenz sehr groß, so liegt keine Infektion vor, ist sie klein, so ist diese vorhanden. Es ist möglich, an der Hand der Tabellen XII und XIII diese Verkleinerung

zu studieren, wobei zu bemerken ist, daß in der Mehrzahl der Fälle 10, aber auch 15 und 20 Minuten inaktiviert worden ist. Bei den wenigen Fällen, wo die Inaktivierungsdauer nur 5 Min. betrug, sind trotzdem (s. Rind No. 94, RTb., Rind No. 99, RTb.) die Differenzen ganz beträchtliche (81, 83 und 61 Proz.). Das spricht dafür, daß alle wirklich bei 60° zerstörbaren Opsonine tatsächlich zugrunde gegangen sind. Nur bei einem Index, Rind No. 94, gegen MTb. wurde durch die Inaktivierung eine Vermehrung des Index um 14 Proz. herbeigeführt.

Tabelle XIV. MTb.

Rd. No.	Der Gehalt an Immunopsoninen beträgt						
87	—	20 Min.	15 Min.				
	20 Min.	75 Proz.	55 Proz.				
88	64 Proz.	20 Min.	15 Min.				
	20 Min.	59 Proz.	57 Proz.				
89	48 Proz.	20 Min.					
	20 Min.	42 Proz.					
91	41 Proz.	20 Min.	15 Min.				
	66 Proz.	66 Proz.	44 Proz.				
92	—	—	—	20 Min.			
93	—	—	—	31 Proz.			
94	20 Min.	20 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.
	25 Proz.	50 Proz.	22 Proz.	25 Proz.	18 Proz.	13 Proz.	21 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.		10 Min.
	19 Proz.	26 Proz.	23 Proz.	19 Proz.	24 Proz.	114 Proz.	53 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.
	21 Proz.	44 Proz.	36 Proz.	58 Proz.	47 Proz.	42 Proz.	42 Proz.
	15 Min.	15 Min.	5 Min.	5 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min. $\frac{1}{2}$ Std.
	48 Proz.	45 Proz.	56 Proz.	49 Proz.	42 Proz.	36 Proz.	57 Proz. $\frac{1}{2}$ Std.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.
95	22 Proz.	33 Proz.	23 Proz.	26 Proz.	31 Proz.	14 Proz.	41 Proz.
	10 Min.						
	53 Proz.						
96	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.
	19 Proz.	13 Proz.	17 Proz.	42 Proz.	38 Proz.	56 Proz.	34 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.	
99	27 Proz.	23 Proz.	36 Proz.	30 Proz.	32 Proz.	23 Proz.	
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.
100	27 Proz.	22 Proz.	39 Proz.	12 Proz.	30 Proz.	29 Proz.	38 Proz.
	15 Min.	15 Min.	$\frac{1}{2}$ Std.				
101	26 Proz.	27 Proz.	19 Proz.				
	$\frac{1}{2}$ Std.						
102	16 Proz.						
	$\frac{1}{2}$ Std.						
103	22 Proz.						
104	—						
105	—						

Den Gehalt an Immunopsoninen in Prozenten gegen MTb. und RTb. zeigen die Tabellen XIV und XV, während Tabelle XVI eine übersichtliche Darstellung der Verkleinerung des Index durch das Inaktivieren in Prozenten gibt.

Tabelle XVII stellt das prozentuale Vorhandensein von Immunopsoninen gegen MTb. in 73, gegen RTb. in 44 Fällen zusammen. Dabei waren Immunopsonine unter 30 Proz. in 45,2 Proz. der Fälle bei MTb., in 65,9 Proz. der Fälle bei RTb. vorhanden, während die Immunopsonine gegen MTb. in 54,7 Proz. der Fälle, gegen RTb. in 34,0 Proz. der Fälle über 30 Proz. des ursprünglichen opsonischen Index ausmachten.

Tabelle XV. RTb.

Rd. No.	Der Gehalt an Immunopsoninen beträgt					
87	—	20 Min.	15 Min.	—	—	—
	20 Min.	84 Proz.	22 Proz.	—	—	—
88	15 Proz.	20 Min.	15 Min.	—	—	—
	20 Min.	41 Proz.	36 Proz.	—	—	—
89	15 Proz.	20 Min.	—	—	—	—
	20 Min.	23 Proz.	—	—	—	—
91	9 Proz.	20 Min.	15 Min.	—	—	—
	20 Min.	43 Proz.	65 Proz.	—	—	—
92	20 Min.	20 Min.	20 Min.	20 Min.	—	—
	19 Proz.	19 Proz.	11 Proz.	16 Proz.	—	—
93	—	—	—	—	—	—
94	20 Min.	20 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.	15 Min.
	14 Proz.	62 Proz.	22 Proz.	35 Proz.	13 Proz.	23 Proz.
	15 Min.	—	—	—	—	—
	27 Proz.	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	5 Min.	5 Min.
	—	—	—	—	19 Proz.	39 Proz.
	10 Min.	10 Min.	15 Min.	1/2 Std.	—	—
95	19 Proz.	33 Proz.	36 Proz.	29 Proz.	—	—
96	—	—	—	—	—	—
	—	5 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	1/2 Std.
99	—	17 Proz.	35 Proz.	39 Proz.	22 Proz.	31 Proz.
	10 Min.	10 Min.	10 Min.	10 Min.	15 Min.	15 Min.
100	27 Proz.	22 Proz.	25 Proz.	24 Proz.	32 Proz.	24 Proz.
	15 Min.	15 Min.	1/2 Std.	—	—	1/2 Std.
101	19 Proz.	19 Proz.	13 Proz.	—	—	—
	1/2 Std.	—	—	—	—	—
102	18 Proz.	—	—	—	—	—
	1/2 Std.	—	—	—	—	—
103	18 Proz.	—	—	—	—	—
104	—	—	—	—	—	—
105	—	—	—	—	—	—

Eine Reihe von Autoren haben im Gegensatz zu Wright und seinen sämtlichen Schülern die Behauptung aufgestellt, daß bei den opsonischen Indexbestimmungen die Provenienz der verwendeten Leukocyten eine Rolle spiele. Sie haben gefunden, daß bei Verwendung gleichartiger Leukocyten die betreffenden Sera viel höhere phagocytäre Zahlen erzielten als bei Verwendung der Leukocyten einer anderen Species. Aus Tabelle XVIII erhellt, daß dies ganz offenbar nicht richtig sein dürfte, indem die darin verzeichneten Bestimmungen des opsonischen Index, gegen MTb. und RTb. ausgeführt, erstens mit Menschenblutkörperchen

Tabelle XVI.

Tabelle zur Verkleinerung des opsonischen Index.

	0 bis 10 Proz.	11 bis 20 Proz.	21 bis 30 Proz.	31 bis 40 Proz.	41 bis 50 Proz.	51 bis 60 Proz.	61 bis 70 Proz.	71 bis 80 Proz.	81 bis 90 Proz.	91 bis 100 Proz.
MTb.										
72 Bestimmungen	.	.	1	2	10	14	14	20	11	.
In Proz. ausgedrückt	.	.	1,4	2,8	13,9	19,1	19,1	27,7	15,3	.
RTb.										
44 Bestimmungen	.	1	.	2	.	2	9	13	16	1
In Proz. ausgedrückt	.	2,3	.	4,6	.	4,6	20,4	29,5	36,4	2,3

Tabelle XVII.
Immunopsonine.

	0 bis 10 Proz.	11 bis 20 Proz.	21 bis 30 Proz.	31 bis 40 Proz.	41 bis 50 Proz.	51 bis 60 Proz.	61 bis 70 Proz.	71 bis 80 Proz.	81 bis 90 Proz.	91 bis 100 Proz.	über 100 Proz.
MTb. 73 Bestimmungen In Proz. ausgedrückt	.	11 15,1	22 30,1	12 16,4	15 20,5	9 12,5	2 2,7	1 1,3	.	.	1 1,3
		45,2 %		54,7 %							
RTb. 44 Bestimmungen In Proz. ausgedrückt	1 2,3	16 36,4	12 27,2	10 22,7	2 4,5	.	2 4,5	.	1 2,3	.	.
	65,9 %			34,0 %							

Tabelle XVIII.
Tabelle zur Vergleichung der Werte bei Verwendung von Menschen- und Rinderblutkörperchen.

	Menschentuberkelbacillen						Rindertuberkelbacillen					
	Menschen- blutkörperchen			Rinder- blutkörperchen			Menschen- blutkörperchen			Rinder- blutkörperchen		
	phag. Zahl	Index		phag. Zahl	Index		phag. Zahl	Index		phag. Zahl	Index	
Rd 94, 23. 11. 8 Uhr vorm.	137	127	0,82	133	127	0,86	129	137	0,70	140	131	0,75
Rd 99	87	93	0,56	89	102	0,64	132	125	0,68	87	98	0,52
Rd 101	136	143	0,88	131	138	0,90	172	187	0,95	181	174	0,99
Rd 102	141	132	0,85	120	109	0,76	147	157	0,80	144	159	0,88
Rd 103	113	130	0,76	122	138	0,87	156	143	0,79	157	148	0,90
Rd 104	149	142	0,90	157	146	1,00	201	185	1,01	201	188	1,08
Rd 105	181	166	1,08	139	154	0,98	118	110	0,60	175	191	1,01
Felber	154	168	1,00	144	156	1,00	184	195	1,00	173	186	1,00

und zweitens mit Rinderblutkörperchen, mit Ausnahme einer einzigen Zahl, eine weitgehende Uebereinstimmung beweisen. Es liegt somit auf Grund dieser Untersuchungen unserer Ansicht nach kein Grund vor, der von Wright und seiner Schule in einwandfreier Weise erhobenen Tatsache widersprechen zu wollen, daß für die Höhe der phagocytären Zahl die opsonische Kraft des Blutserums wesentlich, die Provenienz der Leukocyten unwesentlich ist.

Wir fassen unsere Resultate in folgender Weise zusammen:

1) Nachdem durch unsere mit den Untersuchungen Alexander Flemings übereinstimmenden Resultate an 50 gesunden Menschen festgestellt ist, daß der tuberkulo-opsonische Index in rund 95 Proz. (bei Fleming 97) der Fälle zwischen 0,90 und 1,10 schwankt, sind auf Grund dieses Materials, sorgfältigste Beobachtung der Technik vorausgesetzt, die Zahlen 0,90 und 1,10 als die Grenzwerte normaler Indices anzusehen.

2) Auf Grund von 895 Bestimmungen tuberkulo-opsonischer Indices an 50 tuberkulösen Patienten kamen wir zu dem Resultat, daß nur rund 38 Proz. der Indices tuberkulös Erkrankter sich innerhalb der Grenzen der Norm (0,90 und 1,10) bewegten und rund 33 Proz. subnormale, rund

28 Proz. übernormale Werte aufwiesen, wobei zu bemerken ist, daß das Auftreten der übernormalen Werte zum Teil auch auf die Behandlung mit Tuberkulin zurückzuführen ist.

3) Die Schwankungen der Indices tuberkulös erkrankter Menschen können sehr beträchtliche sein; die größte bei einem Fall von uns beobachtete lag zwischen 0,37 und 2,1.

4) Die Untersuchungen der tuberkulo-opsonischen Indices gesunder Schlachtrinder ergaben, daß der opsonische Index gesunder Bullen, Ochsen und Kühe gegen MTb. in 87,7 Proz., gegen RTb. in 71,1 Proz. der Fälle zwischen 0,90 und 1,10, also innerhalb der normalen Grenzen schwankte, während übernormale Zahlen bei diesen gesunden Schlachtrindern gegen RTb. in 21 Proz. der Fälle vorhanden waren.

5) Tuberkulöse resp. tuberkulös gewesene Schlachtrinder (Bullen, Ochsen und Kühe) zeigten Indices innerhalb der Norm in 83,3 Proz. gegen MTb., in 57,8 Proz. gegen RTb., außerdem waren übernormale Indices gegen RTb. in 34,3 Proz. der Fälle vorhanden.

6) Die aktiven Sera künstlich mit Tuberkelbacillen ursprünglich humaner Provenienz infizierter Rinder hatten normale Indices gegen MTb. in 50,7 Proz., gegen RTb. in 45,2 Proz., während 45,8 Proz. der Indices gegen MTb. und 52 Proz. der Indices gegen RTb. subnormale waren.

7) Die inaktivierten Sera derselben Rinder zeigten in 38,3 Proz. Indices gegen MTb. über 0,30, gegen RTb. in 6,80 Proz. über 0,30. Es ist in diesem differenten Verhalten offenbar ein Fingerzeig zu erkennen über die in Zukunft anzustellende Differenzierung des Typus humanus und bovinus.

8) Aus unseren Tabellen XII—XVII erhellt die prozentuale Verkleinerung des Index durch das Inaktivieren und der prozentuale Gehalt an Immunopsoninen. Der letztere betrug (Tabelle XVII) gegen MTb. in 45,2 Proz. der Fälle unter 30 Proz. Immunopsonine, in 54,7 Proz. der Fälle über 30 Proz. Immunopsonine, während gegen RTb. in 65,9 Proz. der Fälle unter 30 Proz. Immunopsonine, in 34,0 Proz. der Fälle über 30 Proz. Immunopsonine vorhanden waren.

9) Die Provenienz der für das opsonische Gemisch verwendeten Leukocyten (Menschenleukocyten, Rinderleukocyten) ist nach unseren Erfahrungen, die sich mit denen Wrights decken, für die Höhe der phagocytären Zahl unwesentlich.

*Nachdruck verboten.***Ueber die Abtötung der Tuberkelbacillen durch Erhitzung.**

Von Prof. Dr. Forster, Straßburg E.

In einer Erwiderung auf meine Besprechung¹⁾ neuerer Versuche über die Einwirkung hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen wiederholt Basenau²⁾ die Behauptung, daß die von mir und meinen Schülern ausgeführten Untersuchungen ein von den Ergebnissen seiner Versuche abweichendes Resultat deshalb gegeben hätten, weil nicht genügend viel Tuberkelbacillen erhitzt worden wären. Basenau macht sich und seinen Lesern die Sache leicht, indem er nicht beachtet, was ich hierüber äußerte; ich bin daher gezwungen, nochmals auf diesen Punkt einzugehen. In unseren, in der zitierten Abhandlung erwähnten Versuchen, wurde besonders darauf gesehen, auch große Mengen von Tuberkelbacillen der Erhitzung auszusetzen und zu impfen. Das geschah in voller Absicht. Denn gerade ich bin es gewesen, der immer nicht bloß in Vorlesungen und Kursen, sondern ebenso bei den Arbeiten im Laboratorium betont hat, wie wichtig es ist, bei Versuchen, in denen bakterienschädigende Einwirkungen geprüft werden, die Mengenverhältnisse zu berücksichtigen. Das geschah also z. B. bei unseren, im hygienischen Laboratorium zu Amsterdam angestellten Versuchen über das Pasteurisieren von Bakterien (van Geuns, Admiraal) und über die Wirkung des Eintrocknens auf Krankheitskeime (Polak), wie bei den späteren, im Straßburger hygienischen Institute ausgeführten Untersuchungen von Brehme³⁾ über den Einfluß des Gefrierens auf Typhus- und Cholerabacillen, von Levy und Bruns⁴⁾ über die Widerstandsfähigkeit der Sporen der Tetanusbacillen und von A. Schmidt⁵⁾ über das Verhalten der Rauschbrandbacillensporen bei der Erhitzung. In diesen und ähnlichen Versuchen wurde gezeigt, daß man vielfach, gerade weil man zu geringe Mengen Bakterien behandelt hatte, zu irrigen Anschauungen über die Wirkung des Trocknens, der Kälte oder Erhitzung auf niedere Organismen gekommen war. Außerdem wurde, wie ich deutlich angab⁶⁾, in der Arbeit de Mans über die Einwirkung hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen der ausdrückliche Beweis geliefert, daß große Massen von Tuberkelbacillen, z. B. in Form von fast nur aus Tuberkelbacillen bestehender käsigen Substanz aus dem tuberkulösen Euter von Kühen oder von Kavernen, erhitzt und geimpft wurden. Verschiedene Male nämlich ist von uns bei den Versuchstieren die von Fokker u. a. beschriebene Wirkung der Impfung toter Tuberkelbacillen beobachtet worden; diese aber tritt bekanntlich nur zutage, wenn große Mengen Tuberkelbacillen injiziert werden. Basenau tut daher Unrecht, wenn er ohne Rücksicht auf meine Auseinandersetzung bei seiner Behauptung bleibt und neuerdings sogar⁷⁾ — vermutlich infolge eines durch Hörensagen hervorgerufenen

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 417.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1909. p. 61.

3) Dissertat. Straßburg 1901 u. Arch. f. Hyg. Bd. 40. 1901. p. 320.

4) Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chirurg. Bd. 10. 1902. p. 235.

5) Dissertat. d. veterin.-med. Fakultät in Bern. Straßburg 1906.

6) a. a. O. p. 420.

7) a. a. O. p. 63.

Mißverständnisses — den Vorwurf der Anwendung von kapillaren Röhrchen hinzufügt. Es kommt doch bei den Versuchen nicht darauf an, daß eine halbe oder ganze Flasche voll Milch einer tuberkulösen Kuh erhitzt wird, sondern daß die Masse der zu erhitzenden und zu impfenden Tuberkelbacillen groß genug ist. Ich behaupte, daß in verschiedenen unserer Versuche das Mehrfache der Tuberkelbacillen erhitzt und injiziert worden ist, die Basenau aus 100 ccm Milch tuberkulöser Kühe durch Zentrifugieren hat zusammenkriegen können.

In den von mir und meinen Schülern unternommenen Arbeiten wurde festgestellt, daß die Tuberkelbacillen regelmäßig zugrunde gehen, wenn sie mindestens 15 Minuten lang bei 65° gehalten werden, und daß mit steigender Temperatur immer kürzere Zeit zu ihrer Vernichtung genügt. Das Verfahren, das wir anwendeten, ist genau beschrieben und auf die möglichen Fehler wurde hingewiesen. Demgegenüber stehen die Versuche von de Jong, Basenau und van der Sluis, nach deren schwankenden Ergebnissen die Tuberkelbacillen bei der gleichen Erhitzung sich regellos und ungleichmäßig verhalten; sie ertragen angeblich einmal 80—85° eine halbe bis eine ganze Stunde, ein anderes Mal werden sie in der gleichen Zeit schon bei 65° getötet. Bei der Mitteilung der Untersuchungen wird das Verfahren nur angedeutet, nebenbei wird das eine oder andere erwähnt, woraus man schließen muß, daß gewisse Fehlerquellen nicht unbeachtet geblieben seien. Zwischen den eindeutigen Ergebnissen der einen und den vieldeutigen der anderen Untersuchungsreihen besteht also ein Widerspruch, der durch den obigen, einzigen Einwand Basenaus nicht gelöst werden kann. Den nächstliegenden Grund für dessen Erklärung, daß nämlich die Erhitzung nicht richtig vorgenommen wurde, läßt Basenau für die Versuchsanordnung de Jongs gelten, weist ihn aber für seine Versuche als irrtümlich zurück. Allein die Angaben in der Mitteilung von van der Sluis¹⁾, auf die sich Basenau stützt und die mir vorlagen, sind unbestimmt und dunkel. An der von Basenau zitierten Stelle²⁾ wird zwar angegeben, daß die Milchflaschen in einem Pasteurisirapparat unter Wasser auf die erwünschte Temperatur gebracht wurden. Was bedeutet das? Wie weit unter Wasser? Heller wird die Sache durch die Aeußerung von Basenau selbst nicht; er sagt³⁾: „in einem Sterilisator im Wasser“. Eine der Bedeutung der Sache entsprechende und in einer wissenschaftlichen Darstellung unentbehrliche Beschreibung der Methode und Versuchsanordnung ist dies ebensowenig wie die an einer anderen Stelle⁴⁾ enthaltene Angabe über die Art und Prüfung der Erhitzung. Dazu kommt eine weitere Unklarheit, die darin liegt, daß bei den Versuchen von Basenau und van der Sluis die Erhitzung angeblich nach der in einer Amsterdamer Milchanstalt üblichen Weise vorgenommen worden sei; de Jong⁵⁾ aber erklärt in einer sonst allerdings wenig verständlichen Entgegnung auf meine Bemerkungen neuerdings kurzweg: „het pasteuriseeren van melk geschiedt hier te lande in den regel in niet-ondergedompelde flesschen.“ Die Unsicherheit in den physikalischen Bedingungen der Versuche zeigt sich schließlich noch an einer dritten

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 378.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 387.

3) Tuberculose en pasteurisatie. p. 9 d. Sep.-Abdr. aus Weekblad v. Melkhyg. 1909.

4) van der Sluis, a. a. O. p. 396.

5) Nederlandsch Tijdschr. v. Geneesk. 1909. 2. helft. p. 1530.

Stelle der Abhandlung von Basenaus Schüler van der Sluis¹⁾. Da wird behauptet, daß organische (organisierte!) Elemente in der Milch wie Leukocyten usw., die Tuberkelbacillen einschließen, beim Erhitzen „durch Koagulation des Protoplasmas gleichsam einen schützenden Wall um die Tuberkelbacillen herum bilden, wodurch diese der vollen Einwirkung und Dauer der Erhitzung mehr oder weniger entzogen werden“. Eine solche laienhafte Auffassung bei mikroskopische Gebilde treffenden Erwärmungsversuchen, die eine halbe bis eine Stunde lang fortgesetzt werden, widerspricht selbstverständlich den tatsächlichen Vorgängen bei der Wärmeleitung durch tierische oder pflanzliche Substanz und der Wärmeleitung überhaupt.

Der Irrtum, den Basenau mir zuschreibt, ist also nicht so erheblich, daß meine „kritischen Bemerkungen jeden Grundes entbehren“. Denn erst jetzt gibt Basenau eine Beschreibung des Erwärmungsverfahrens. Jedenfalls war meine Forderung gerechtfertigt, daß wenn Versuche über den Einfluß der Wärme auf Bakterien gemacht und veröffentlicht werden, die Versuchsbedingungen genau und deutlich angegeben werden, damit man sieht, daß sie berücksichtigt sind. Erst so verdienen die Untersuchungen das nötige Vertrauen, namentlich wenn ihre Ergebnisse in Widerspruch mit schon Bekanntem stehen. Wenn die Resultate meiner Versuche durch Basenau auf Grund seiner Untersuchungen umgedeutet und damit — wenn auch in höflicher Form — als unrichtig dargestellt werden, so kann ich verlangen, daß Rechenschaft darüber gegeben wird, daß er die Versuchsbedingungen beherrscht. Die gilt aber nicht bloß für die physikalischen Verhältnisse, die begreiflicher Weise zuerst mein Bedenken erweckten und meinen Einspruch veranlaßten, sondern auch für die pathologischen Bedingungen. Aber auch bei diesen herrscht eine gleiche Unklarheit. Von Basenau und van der Sluis wird als Vorzug ihrer Methode bezeichnet, daß die Versuchstiere große Massen von Tuberkelbacillen injiziert erhielten. Nach solchen Injektionen treten bei den Versuchstieren, wie erwähnt, die Erscheinungen der Pseudotuberkulose auf. Die dabei in Organen und an serösen Häuten gefundenen pathologischen Veränderungen sind häufig von echt tuberkulösen Bildungen nicht zu unterscheiden, zumal in beiden mikroskopisch Tuberkelbacillen zu sehen sind. Das ist bekanntlich die Folge der Injektion toter Tuberkelbacillen, deren Wirkung um so deutlicher ist, je mehr von ihnen injiziert wurde. Findet man also nach der Injektion großer Mengen erhitzter Tuberkelbacillen bei der Sektion der Versuchstiere anscheinend tuberkulöse Knötchen oder verkäste Herde, so ist festzustellen, ob diese von toten oder lebenden Bakterienzellen herrühren. Das haben de Man²⁾ und auch de Jong³⁾ getan, indem Substanz der verdächtigen Bildungen auf gesunde Meerschweinchen übertragen und damit geprüft wurde, ob die Erkrankung echte Tuberkulose war oder nicht. Bei Basenau und van der Sluis finde ich von einer solchen Prüfung nichts erwähnt, so daß unbekannt ist, wie viele der von ihnen als tuberkulös bezeichneten Versuchstiere an Tuberkulose oder Pseudotuberkulose litten oder eingingen. Das zu wissen ist aber notwendig; ohne Kenntnis hier-

1) a. a. O. p. 398.

2) Nederlandsch Tijdschr. v. Geneesk. 1892. 1. helft. p. 766; Arch. f. Hyg. Bd. 18. 1893. p. 164.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 673.

von können weder die Versuchsergebnisse genügend beurteilt, noch richtige Schlüsse gezogen werden.

Nach allem ist deutlich, daß die Versuche Basenaus und seines Schülers ebensowenig wie die de Jongs geeignet sind, die Frage zu beantworten, bei welcher Temperatureinwirkung die Tuberkelbacillen getötet werden.

Nachdruck verboten.

Ueber den biologischen Nachweis der Echinococcus- krankheit.

[Aus der chirurgischen Klinik der Königl. Universität in Cagliari
(Direktor: Prof. R. Binaghi).]

Von Dr. J. Putzu, Adjunkt.

Es ist wissenschaftlich bewiesen, daß der Organismus auf die Einverleibung eines Antigens, wobei dessen Form und die Art der Einführung gleichgültig ist, mit der Bildung einer neuen und vollkommen spezifischen Substanz reagiert, welche Antikörper heißt. Antigene sind bekanntlich die verschiedenen tierischen und pflanzlichen Eiweißkörper, die artfremden roten Blutkörperchen, die Bakterien und ihre Toxine, die entsprechenden Antikörper die Präzipitine, die Hämolysine, die Agglutinine und die Antitoxine; überhaupt sind Antigene alle artfremden Substanzen, welche in den Organismus eingeführt werden, und Antikörper jene, die der Organismus in der Abwehr gegen sie bildet. Antigen und Antikörper sind daher die zwei grundlegenden Tatsachen für die serodiagnostischen Reaktionen und zugleich Ursache und Ausdruck ihres Geschehens. Es ist unnötig, die Bedeutung dieser Untersuchungsmethoden zu betonen, über die man sich klar war, seitdem die ersten Mitteilungen darüber erschienen sind. Hervorgegangen aus den Laboratorien, gingen sie schnell genug auf die Klinik über und breiteten sich so von dem enger begrenzten Feld der Wissenschaft auf das größere der Praxis aus. Die Untersuchungen über die spezifischen Antikörper wurden so auf die Diagnose der verschiedensten Krankheiten angewendet, von denen, deren spezifische Erreger nachgewiesen, bis zu denen, deren Ursachen vollkommen unbekannt sind, von den durch pathogene Bakterien bis zu den von höher organisierten Parasiten bewirkten. Und so haben sie Anwendung gefunden beim Typhus, beim Paratyphus, beim Maltafieber, bei der Malaria, bei der Syphilis, der Lepra, der Tuberkulose, der Aktinomykose, der Helminthiasis usw.

Ist der Nutzen der Serodiagnose bei allen diesen Krankheiten groß, so wird sie noch wertvoller bei jenen, bei welchen wir keine diagnostischen Hilfsmittel besitzen, die sicher und einwandfrei wären, wie z. B. die Echinokokkenkrankheit, bei der die körperlichen Symptome oft nicht nur ungenügend sind, die Diagnose sicherzustellen, sondern sogar zu Irrtümern Veranlassung geben.

Niemand ist heute im unklaren darüber, wie wenig Vertrauen man zu einigen Angaben haben kann, welche ehemals für die wichtigsten bei der Diagnose des Echinococcus gehalten wurden, wie das Hydatiden-

schwirren, die Eosinophilie, die Probepunktion, nachdem sie gewöhnlich fehlen oder täuschen oder sich nicht erheben lassen.

Das Hydatidenschwirren ist in der Tat ein Symptom, welches nicht allein nicht mehr als pathognomisch gilt für die *Echinococcus*-cyste, da es sich auch bei anderen Cysten, bei den serösen und speziell bei den vom Ovarium ausgehenden findet, sondern überdies so selten ist, daß es von einigen überhaupt bezweifelt und für ein äußerst subjektives, um nicht zu sagen suggestives Symptom des Klinikers gehalten wurde.

Die Eosinophilie kommt nicht nur bei einer großen Zahl von Krankheitszuständen vor, sondern kann auch beim *Echinococcus* fehlen, und so zu Täuschungen Anlaß geben, so daß sie für sich allein jede diagnostische Bedeutung verloren hat.

Die Probepunktion endlich kann unausführbar sein, wenn es sich um Cysten handelt, die tief oder in lebenswichtigen Organen liegen, kann überdies gefährlich werden besonders bei Hydatiden, die in intra-abdominellen Organen lokalisiert sind, wegen des Ausfließens der Cystenflüssigkeit auf die Serosa des Peritoneums. — Heute zweifelt niemand mehr an der Toxizität dieser Flüssigkeit: Das häufige Auftreten von Urticaria, die selteneren, aber sichergestellten Fälle, bei denen außer Urticaria Kollaps, Erbrechen, Bauchschmerzen und hohes, durch mehrere Tage anhaltendes Fieber eintraten, beweisen es aufs deutlichste, und andererseits erinnern sich alle an die plötzlichen Todesfälle, die im Gefolge von Probepunktionen bei *Leberechinococcus* auftraten und von Moissenet¹⁾, Martineau²⁾, Bryant³⁾, Chauffard⁴⁾ u. a. beschrieben worden sind.

Indem wir auch auf dieses letzte Hilfsmittel verzichten müssen, bleibt uns bei der Echinokokkenkrankheit kein einziger sicherer diagnostischer Behelf. Daher der große praktische Nutzen der biologischen Untersuchung bei der Diagnose des *Echinococcus* und die Notwendigkeit, ihre Anwendung bekannter zu machen. Dies hat mich auch veranlaßt, den vorliegenden, nicht uninteressanten Beitrag der Öffentlichkeit zu übergeben.

* * *

Yoest⁵⁾ und Gherardini⁶⁾ im Jahre 1906 waren die ersten, welche allerdings mit negativem Erfolg, nach dem Bestehen von spezifischen Präzipitinen im Blutserum von Tieren (Rindern und Schafen) forschten, die von der Echinokokkenkrankheit befallen waren. Ghedini⁷⁾ dagegen konnte in zwei Fällen von *Echinococcus*-cysten beim Menschen die Gegenwart von spezifischen Antikörpern nachweisen, und zwar mittels der Methode der Komplementbindung von Bordet-Gengou. Das gleiche Resultat hatten Fleig und Lisbonne⁸⁾ bei einem Kranken mit *Leberechinococcus* und bei verschiedenen Tieren, welche mit den Produkten der Hydatiden immunisiert worden waren. In der Folge lieferten Beiträge zu dieser Frage Welsh und Chapman⁹⁾, Weinberg und

1) Moissenet, Arch. génér. de méd. 1899.

2) Martineau, Bull. soc. méd. des hôpit. 1879.

3) Bryant, Trans. clinical Soc. of London. 1877—78.

4) Chauffard, La Semaine médicale. 1896. 8. Juli.

5) Yoest, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1906. 23. Nov.

6) Gherardini, Il moderno zoiatro. 1906. No. 46—52.

7) Ghedini, Gazzetta d. osped. e d. clin. 1906. 23. Dez.; 1907. 13. Juni.

8) Fleig et Lisbonne, Soc. d. biol. de Paris. T. 62 u. 65. 1907. 8. Juli.

9) Welsh u. Chapman, The Lancet. 1908. Mai.

Parvu¹⁾, Weinberg und Vieillard²⁾, Weinberg und Boidin³⁾, Apphatie und Lorenz⁴⁾, Lejars und Parvu⁵⁾, und noch einmal Weinberg⁶⁾, der schließlich in einer letzten Arbeit, die kürzlich aus dem Metschnikoffschen Institut herauskam, die von ihm erreichten Resultate zusammengefaßt hat.

Die Frage ist also aktuell und ich habe, noch bevor viele, ja sogar die Mehrzahl der zitierten Arbeiten erschienen waren, das ist seit Mai vorigen Jahres, Untersuchungen an verschiedenen Echinococcusfällen angestellt, die in meine Beobachtung kamen, und deren Resultate mit einem kurzen Bericht der Gesellschaft zur Pflege der medizinischen und Naturwissenschaften in Cagliari in der Sitzung vom 6. April 1909⁷⁾ mitgeteilt. Vor der Besprechung meiner Krankengeschichten mit den diesbezüglich ausgeführten Versuchen will ich die Technik zusammenfassend darstellen, über die ich einige Bemerkungen zu machen für angezeigt halte.

* * *

Das Aufsuchen der für die Echinokokkenkrankheit spezifischen Antikörper beruht auf dem Phänomen von Bordet-Gengou: So oft ein Antikörper mit seinem Antigen in Berührung gebracht wird, vereinigt er sich mit diesem, indem eine dritte Substanz, das sogenannte Alexin oder Komplement, gebunden wird, woher der Name Komplementbindungsreaktion stammt. Damit das Phänomen auftritt, sind daher drei Substanzen notwendig: Der Antikörper, das Antigen und das Komplement. Der Antikörper ist eine thermostabile Substanz, d. h. er widersteht einer Temperatur von 56—60°, das Komplement ist eine thermolabile Substanz, d. h. es wird bei einer Temperatur von 56—60° im Wasserbad zerstört; jener ist für das eigene Antigen spezifisch, dieses in keiner Weise spezifisch, da es auch im normalen Serum vorkommt.

Wenn wir diese drei Substanzen miteinander in Kontakt bringen, erhalten wir keinerlei sichtbaren Ausdruck der eingetretenen Reaktion und deswegen müssen wir einen zweiten Versuch anstellen. Zu diesem Zwecke setzen wir der Mischung, bestehend aus dem fraglichen Serum, nachdem es inaktiviert wurde, + dem Antigen + dem Komplement, eine zweite Mischung zu, bestehend aus roten Hammelblutkörperchen + inaktiviertem hämolytischen Kaninchenserum. Wenn das zu untersuchende Serum, mit dem Antigen in Berührung gebracht, das Komplement gebunden hat, so tritt keine Hämolyse ein, weil das hämolytische Kaninchenserum kein freies Komplement vorfindet und daher seine auflösende Wirkung auf das Hammelblut nicht ausüben kann. Umgekehrt tritt die Hämolyse ein, wenn das fragliche Serum, sobald es für das Antigen, mit dem es zusammengebracht worden ist, nicht spezifisch ist, das Komplement somit nicht gebunden hat, weil dieses letztere jetzt von dem hämolytischen Serum fixiert wird, das so die Eigenschaft erwirbt, die Hammelblutkörperchen aufzulösen.

1) Weinberg u. Parvu, Compt. rend. soc. d. biol. 1908. 17. Okt.

2) Weinberg u. Vieillard, Soc. centr. d. méd. vét. 1909. 21. Jan.

3) Weinberg u. Boidin, Sitz. v. 23. Jan. 1909.

4) Apphatie u. Lorenz, Tribune méd. 1909.

5) Lejars u. Parvu, Bull. et mém. soc. de chir. Paris. 1909. No. 12.

6) Weinberg, Compt. rend. soc. biol. 1909. Sitz. v. 23. Jan. u. 27. März. — Ann. de l'Inst. Pasteur. 1909. No. 6.

7) Il Policlinico. 3. Prat. 1909. No. 23.

Derart haben wir einen Beweis für die Spezifität oder wenigstens für das Vorhandensein von Antikörpern in einem zu untersuchenden Serum zu dem verwendeten Antigen; und wir werden sagen, daß spezifische Antikörper vorhanden sind, wenn die roten Blutkörperchen intakt auf den Boden der Eprouvette sinken und die darüberstehende Flüssigkeit sich trübt (negative Hämolyse); und daß keine spezifischen Antikörper vorhanden sind, wenn die ganze Flüssigkeitssäule klar und durchsichtig bleibt und eine lackrote Farbe annimmt, ohne daß irgendein Bodensatz auftritt (positive Hämolyse).

Zu dieser Untersuchung sind also unumgänglich notwendig fünf verschiedene Bestandteile, welche ich zum bequemeren und besseren Verständnis in zwei Gruppen einteilen will, indem ich in eine das Serum des Kranken, das Antigen und das Komplement zusammenfasse, in die zweite die roten Blutkörperchen und das hämolytische Serum. Unnötig hinzuzufügen, daß sowohl bei der Gewinnung des nötigen Materials wie bei der Ausführung der Reaktionsproben alle Regeln der Asepsis aufs peinlichste beobachtet werden müssen.

Krankenserum. Das Serum des Kranken kann auf verschiedene Arten gewonnen werden; entweder durch Stich in einen Finger, durch Aderlaß oder durch blutige Schröpfköpfe. Indessen haften aller diesen Methoden Unbequemlichkeiten an: Der einfache Stich in den Finger liefert oft keine genügend große Blutmenge, der Aderlaß ist ein immerhin verletzender und für den Kranken ziemlich aufregender Eingriff, die blutigen Schröpfköpfe endlich sind schmerzhaft und können auch bei Beobachtung der strengsten Asepsis zu lästigen Wunden, die nur langsam heilen, Veranlassung geben. Daher ziehe ich es vor, zu einer anderen Methode zu greifen, die sehr viel schneller ist, wenig oder gar nicht schmerzhaft für den Patienten, und keinerlei unangenehme Folgen hat. Ich mache eine elastische, nicht zu enge Abschnürung am unteren Drittel des Armes und aspiriere nach vorhergegangener gründlicher Desinfizierung mit einer Pravaz-Spritze aus einer der auf diese Art gestauten Venen 10 ccm Blut. Dieses Blut wird 1 Stunde lang ruhig stehen gelassen, wird dann defibriniert und zentrifugiert, um das Serum abzuscheiden, das für einige Proben genügt. Ein kleiner Teil des frischen Serums dient, wie wir weiterhin sehen werden, für eine schnelle Untersuchung, der Rest wird durch Erhitzen im Wasserbade auf 56—60° durch $\frac{1}{2}$ Stunde inaktiviert und dann im Eiskasten aufgehoben.

Das Antigen. Als Antigen verwende ich den Cysteninhalte vom Echinococcus des Schafes. Man kann auch den Hydatideninhalt vom Menschen oder Rinde benützen, aber diese beiden geben, wie Weinberg richtig bemerkt, nicht immer exakte und konstante Resultate, da sie die Komplementbindungsreaktion auch mit normalen Seris geben können oder bei Individuen mit einer anderen Erkrankung, aber frei von Echinococcus. Der Cysteninhalte muß aseptisch gewonnen werden, sehr klar sein und kann längere Zeit in zugeschmolzenen Glasröhrchen aufbewahrt werden, wenn sie im Eiskasten stehen. Weinberg empfiehlt noch eine andere Art der Konservierung, bestehend darin, daß die Hydatidenflüssigkeit im Vakuum getrocknet und in einen festen Rückstand verwandelt wird. Dieser wird an einem trockenen Ort aufbewahrt und nach Bedarf ein kleiner Teil in einem entsprechenden Quantum Wasser aufgelöst, wodurch man sofort eine gebrauchsfertige klare Lösung erhält.

Das Komplement. Man benützt dazu das Meerschweinchen. Vom Blut des Meerschweinchens trennt man das Serum nach der üblichen Art und konserviert es im Eiskasten, ebenfalls in zugeschmolzenen Röhrchen oder auch in trockenem Zustand. Indessen empfiehlt es sich, lieber frisches Serum und womöglich am selben Tage gewonnenes zu verwenden, was leicht zu erreichen ist, da man immer Meerschweinchen zur eigenen Verfügung haben kann. Man muß sich erinnern, daß dieses Serum niemals erwärmt werden darf, da das Komplement, wie schon erwähnt, eine thermolabile Substanz ist.

Rote Blutkörperchen. Am besten nimmt man die roten Blutkörperchen vom Hammel nach wiederholter Waschung mit physiologischer Kochsalzlösung. Zu diesem Zwecke macht man eine Emulsion von 5 Proz. defibrinierten Blutes in physiologischer Kochsalzlösung, zentrifugiert sodann, schüttet die klare Flüssigkeit ab und ersetzt sie durch eine gleich große Menge physiologischer Kochsalzlösung. Dieses Auswaschen wiederholt man 3—4mal. Die Emulsion muß immer unmittelbar vorher hergestellt werden.

Hämolytisches Serum. Zur Darstellung des hämolytischen Serums verwenden wir Kaninchen, welche man mit Hammelblut vorbehandelt. Alle 5—7 Tage werden in die Peritonealhöhle des Kaninchens 5—8 ccm roter Hammelblutkörperchen injiziert, nachdem sie auf die vorhin beschriebene Art gewaschen und durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volumen gebracht worden sind. Nach 5 Injektionen ist das Kaninchen genügend vorbehandelt, und man hat nichts weiter zu tun, als das Blut zu entnehmen, von dem auf die gewöhnliche Art das Serum getrennt wird. Auch dieses Serum muß inaktiv gemacht werden, so daß es seine hämolytische Wirkung auf das Hammelblut erst nach erfolgter Berührung mit einem neuen, freien Komplement entfalten kann.

Nachdem so das ganze zur Serodiagnose nötige Material vorbereitet ist, schreitet man zur Untersuchung. Da kann man nun auf zweierlei Art vorgehen, je nachdem es auf eine sehr schnelle, wenn auch weniger genaue Probe ankommt, oder man eine langsamere, aber dafür exakte Methode anwenden will. Die zwei Untersuchungsmethoden heißen eben mit Rücksicht auf die Geschwindigkeit der Ausführung: Die erstere die „schnelle“, die zweite die „langsame“ Untersuchung.

Die schnelle Untersuchung. Zu dieser Prüfung nimmt man Krankenserum, das nicht inaktiviert wurde, weil das darin enthaltene Komplement das Meerschweinchenkomplement ersetzt, das man eben auf diese Art ersparen kann.

Sie beruht auf der Beobachtung von Margarete Stern¹⁾, die bei Untersuchungen mit der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion eine größere Zahl positiver Resultate erhielt, wenn sie nicht erwärmtes, als wenn sie inaktiviertes Serum benützte.

Zu allererst macht man die Mischung aus physiologischer Kochsalzlösung, nicht erwärmtem Serum und Hydatidenflüssigkeit, und gibt sie in den Brutofen bei 37°; nach 1 Stunde, einer Zeit, die zur Komplementbindung genügt, fügt man die sensibilisierten roten Hammelblutkörperchen hinzu, worauf die Eprouvetten neuerlich in den Thermostaten kommen; nach einer weiteren 1/2 Stunde ist die Reaktion vollendet. Bevor man

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. 1909.

aber die Probe anstellt, ist es unerlässlich, sich zu überzeugen, ob 0,2 ccm des erwärmten Serums soviel Komplement enthalten, als zur Auflösung von 1 ccm der sensibilisierten Blutkörperchen notwendig ist. Oft muß man eine Aufschwemmung der roten Blutkörperchen von nur $2\frac{1}{2}$ Proz. oder noch schwächer anwenden.

Anordnung der schnellen Untersuchung.

No. der Röhren	Physiologische Kochsalzlösung ccm	Serum (nicht erwärmt) ccm	Hydatiden- flüssigkeit ccm	Rote Hammel- blutkörperchen sensibilisiert ccm	Resultat
1	1,7	0,2	0,1	1	keine Hämolyse
2	1,6	0,2	0,2	1	
3	1,5	0,2	0,3	1	
4	1,4	0,2	0,4	1	
5	1,8	0,2	0,4	1	
6	1,7	0,2	0,1	1	Hämolyse
7	1,6	0,2	0,2	1	
8	1,5	0,2	0,3	1	
9	1,4	0,2	0,4	1	
10	1,8	0,2	0,4	1	

Diese Methode ist recht bequem und schnell; aber leider gibt sie nicht immer verlässliche Resultate, weshalb man jedesmal auch noch die definitive Probe anstellen muß.

Die langsame Untersuchung. Zur Ausführung dieser entscheidenden Prüfung bedürfen wir auch noch des Meerschweinchenkomplements; ferner muß das zu prüfende Serum inaktiviert sein. Zunächst freilich ist es nötig, Vorversuche anzustellen zwecks Bestimmung des Meerschweinchenkomplements und zur Sicherstellung des Bindungsvermögens beim Antigen und bei den verwendeten Seris, sowohl beim Kranken- wie beim Kontrollserum. Denn es ist sichergestellt, daß gewisse Sera Substanzen enthalten, die das Komplement binden oder ablenken, die Hämolyse verhindern oder befördern. So hatte Weinberg in 4 Fällen von Leberkrebs ein Serum gefunden, das bei Anwesenheit von Hydatidenflüssigkeit (ebenfalls vom Hammel) das Komplement fixierte und die Hämolyse verhinderte, während umgekehrt das Serum einiger Kranken mit Leberechinococcus und schwerem Ikterus keinerlei Bindungsvermögen besaß, so daß es leicht zur Hämolyse kam.

Anordnung der Vorversuche.

No. der Röhren	Physiologische Kochsalzlösung ccm	Serum oder Antigen ccm	Komplement ccm	Rote Blut- körperchen sensibilisiert ccm
1	1,4	0,5	0,1 ad $\frac{1}{8}$	1
2	1,4	0,5	0,1 ad $\frac{1}{4}$	1
3	1,4	0,5	0,1 ad $\frac{1}{8}$	1
4	1,4	0,5	0,1 ad $\frac{1}{4}$	1
5	1,5	0,5	0,1 ad $\frac{1}{4}$	1
6	1,5	0,5	0,1 ad $\frac{1}{4}$	1

Wenn möglich, muß man das Komplement in Verdünnung von $\frac{1}{4}$ anwenden. Erst nach Beendigung dieser genau durchzuführenden Bestimmung kann die endgültige Probe angestellt werden.

Anordnung der endgültigen Untersuchung.

No. der Röhren	Physiolog. Kochsalzlösung ccm	Inaktiviertes zu untersuchendes Serum ccm	Hydatidenflüssigkeit ccm	Komplement ccm	Rote Blutkörperchen sensibilisiert ccm	Resultat
1	1,3	0,2	} Krankenserum	0,4	0,1	1
2	1,2	0,3		0,4	0,1	1
3	1,1	0,4		0,4	0,1	1
4	1,0	0,5		0,4	0,1	1
5	1,3	0,2	} Kontrollserum	0,4	0,1	1
6	1,2	0,3		0,4	0,1	1
7	1,1	0,4		0,4	0,1	1
8	1,0	0,5		0,4	0,1	1

Auch hier macht man zuerst die Mischung aus physiologischer Kochsalzlösung, inaktiviertem Kranken- oder Kontrollserum, Hydatidenflüssigkeit und Komplement und stellt sie, nachdem gut durchgeschüttelt wurde, in den Brutofen bei 37°; nach 1 Stunde fügt man die sensibilisierten roten Hammelblutkörperchen hinzu, schüttelt die Mischung neuerdings und gibt sie für eine weitere ½ Stunde in den Thermostaten. Um mit Sicherheit behaupten zu können, daß im Serum des Kranken spezifische Antikörper vorhanden seien, muß in den Röhren, die es enthalten, die Hämolyse vollkommen negativ sein, und umgekehrt in den Kontrollröhren die Hämolyse komplett sein, ohne jeden Niederschlag von Blut.

Eine andere recht einfache und schnelle Methode ist die von Fleig und Lisbonne angegebene. Die Autoren setzen zu 2 ccm einer vollkommen klaren und durchsichtigen Hydatidenflüssigkeit 12 Tropfen vom Serum des auf Echinokokkose verdächtigen Menschen oder von Tieren zu, die mit Hydatidenflüssigkeit immunisiert wurden. Sie stellen dann die Mischung in den Brutschrank bei 40—42° und untersuchen sie von Zeit zu Zeit: Nach einigen Stunden oder später erscheint ein weißlicher flockiger Niederschlag, welcher zuerst in der Flüssigkeit suspendiert bleibt, um sich dann auf dem Boden der Eprouvette abzusetzen.

Ich habe diese Methode nachprüfen wollen, obwohl sie nicht genau ausführbar und auch nicht präzise in der Technik ist, wie ich gleich nachher zeigen werde, indem ich die Tabelle mit einer von mir vorgeschlagenen Verbesserung bringe.

No. der Röhren	Zu prüfendes Serum ccm	Hydatidenflüssigkeit ccm	Physiologische Kochsalzlösung ccm	Resultat
1	1,0	} Krankenserum	0,5	} Niederschlag
2	1,5		0,5	
3	2,0		0,5	
4	2,0		—	
5	1,0	} Kontrollserum	0,5	} kein Niederschlag
6	1,5		0,5	
7	2,0		0,5	
			—	

Fleig und Lisbonne behaupten, daß die Reaktion die größte Empfindlichkeit besitze, wenn man das von ihnen angegebene Mischungsverhältnis anwendet und die Mischung im Brutschrank bei 40—42° hält.

Aus meinen Untersuchungen indessen geht hervor, daß die Probe wesentlich empfindlicher und schneller ist, wenn man sich in der Anordnung an die oben abgebildete Tabelle hält. Tatsächlich tritt die Reaktion viel früher ein als der früheste Zeitpunkt, den Fleig und Lisbonne angeben, was sehr vorteilhaft ist, da sie nach und nach ihre spezifische Bedeutung einbüßt, je später sie erscheint. Ebenso wenig ist es nötig, die Mischung in einer Temperatur von 40—42° zu halten, da die Reaktion auf dieselbe Art und mit derselben Geschwindigkeit auch bei Zimmertemperatur eintritt.

Ich habe diese Methode in allen auf *Echinococcus* verdächtigen Fällen und bei 6 Kaninchen versucht, die mit Hydatidenprodukten immunisiert waren; diese stammten aus einer *Echinococcus* cyste mit serösem, klarem, durchsichtigem Inhalt, die in der linken Achselhöhle eines 10-jährigen Knaben lokalisiert war, bei dem die Serodiagnose mittels der Komplementbindungsreaktion und die Seropräzipitation beide positiv waren. Die Methode versagte in 50 Proz. der Fälle, da sie negativ blieb in 2 Fällen von *Echinococcus*, die durch einen chirurgischen Eingriff sichergestellt wurden, und in weiteren zwei von drei untersuchten, aber *echinococcus*-freien Fällen ein positives Resultat ergab.

Woher kommt dieser Unterschied der Resultate? Die Methode von Fleig und Lisbonne beruht, wie sich aus der früheren Darstellung ergibt, auf dem Prinzip der spezifischen Präzipitine, wonach bei Berührung eines Eiweißantigens oder einer präzipitierenden Substanz, dem Präzipitinogen mit seinem Antikörper oder Präzipitin, ein Reaktionsprodukt auftritt, das Präzipitat. Gibt es nun im Serum der Kranken mit *Echinococcus*-cysten spezifische Präzipitine? Das Ausbleiben der Präzipitation in vielen Fällen von *Echinokokkose* und andererseits ihr Auftreten bei Zusammentreffen der Hydatidenflüssigkeit mit anderen Seris läßt es zweifelhaft erscheinen. Indessen müssen wir bedenken, daß Tiere, denen Hydatidenflüssigkeit einverleibt wurde, spezifische Präzipitine bilden und daß das Grundprinzip, nach dem ein gegebenes Quantum Präzipitin unter günstigen Bedingungen ein gleich großes Quantum Präzipitinogen bindet, entsprechend den Gesetzen bestimmter Proportionen, wie sie Ehrlich für die Vereinigung von Toxin und Antitoxin aufgestellt hat, nicht immer mit dem wirklichen Vorgang übereinstimmt.

Kraus meint, daß gleiche Quantitäten von Präzipitinogen nicht immer eine konstante kleinste Quantität von Präzipitin absorbieren, so daß die gebundene Menge Präzipitin in gewissen Fällen eine größere sein kann, oder daß eine gleiche Menge Antigen verschieden große Mengen Antikörper absorbieren kann¹⁾.

Ferner können im Serum Präzipitoide, d. h. unvollständige oder partielle Präzipitine, vorkommen, wobei die Gruppen, die das Präzipitat zu bilden fähig sind, nicht in gleichem quantitativen Verhältnis zueinander stehen. Daher werden die Resultate bisweilen durch diese partiellen oder inkompletten Präzipitationen verschleiert.

Alle diese Tatsachen sind ebenso viele Ursachen für Irrtümer, wie sie vielleicht bisweilen bei der Seropräzipitation nach Fleig und Lisbonne vorkommen und ihre Resultate trüben. Trotzdem kann sie

1) Belfanti, Ital. Uebersetzung der „Technik der sero-diagnostischen Methoden von Müller“. Mailand (Itucchi, Ceretti u. Comp.) 1909. Siehe Vorwort.

als Kontrollprobe zur Methode von Bordet-Gengou dienen, schon vermöge der Einfachheit und Geschwindigkeit ihrer Technik; wir dürfen ihr aber nur dann Bedeutung beilegen, wenn sie mit der letzteren übereinstimmt, indem sie so die Resultate bestätigt.

Die Fälle, die ich zu beobachten Gelegenheit hatte, sind zwar noch nicht zahlreich, dafür aber sehr interessant und lehrreich.

Fall I. 10-jähriger Knabe, vom Lande kommend, an dem sich seit ungefähr 1 Jahre eine kugelige, orangegroße Geschwulst zeigte, die die linke Achselhöhle vollständig ausfüllt, glatte Oberfläche, derb-elastische Konsistenz besitzt, auf Druck nicht empfindlich, nach oben, unten und seitlich verschieblich und am Pectoralis major adhärent ist. Blutbefund: 3 800 000 Erythrocyten, 7600 Leukocyten, Hämoglobin 65 Proz., Eosinophilie 4 Proz.

Klinische Diagnose: Echinococcuscyste der linken Achselhöhle.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Positiv.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Positiv.

Operationsdiagnose: Echinococcuscyste der linken Achselhöhle mit serösem, klarem, durchsichtigem Inhalt.

Mit Hydatidensubstanz (20-proz. Aufschwemmung von Membranen der Tochterblasen in physiologischer Kochsalzlösung) wurden folgende Versuche gemacht:

1) Kaninchen von 1630 g.

21. Mai 1908 Injektion von 20 ccm der Aufschwemmung intraperitoneal

25. „ 1908 „ „ 30 „ „ „ „

30. „ 1908 „ „ 30 „ „ „ „

5. Juni 1908 „ „ 30 „ „ „ „

12. „ 1908 „ „ 40 „ „ „ „

15., 18. und 24. Juni Serodiagnose positiv nach der Methode von Bordet-Gengou und nach der Präzipitationsmethode.

2) Kaninchen von 1320 g.

Nach derselben Technik werden im ganzen 130 ccm der Aufschwemmung injiziert. Serodiagnose positiv.

3) Kaninchen von 1500 g.

Injiziert werden 160 ccm der Aufschwemmung. Serodiagnose positiv.

4) Kaninchen von 1300 g.

Injektion von 125 ccm der Aufschwemmung. Serodiagnose positiv.

5) Kaninchen von 2000 g.

Injektion von 175 ccm der Aufschwemmung. Serodiagnose positiv.

6) Kaninchen von 1800 g.

Injektion von 175 ccm der Aufschwemmung. Serodiagnose positiv.

Fall II. 40-jähriger Patient, bemerkt seit 4 Jahren das Erscheinen einer Geschwulst in der Regio epigastrica, im Anfang weniger deutlich und wenig schmerzhaft, später empfindlicher und deutlicher vorragend. Augenblicklich zeigt sie sich wesentlich größer rechts von der Linea alba, von kugelige Form, glatter Oberfläche, derb-elastischer Konsistenz, auf Druck schmerzhaft, mannsfaustgroß, fast überall mit der Respiration verschieblich. Man bemerkt leichte Diastase der Recti, die bei aufrechter Haltung des Kranken deutlicher wird und den Tumor hervortreten läßt. Seit 2 Jahren wird der Patient von häufigen Magen-Darmstörungen heimgesucht und von Frösten, gefolgt von abendlichen Temperatursteigerungen und leichtem Schweißausbruch.

Blutbefund: Rote Blutkörperchen 3 500 000, weiße 12 500, Hämoglobin 60 Proz., Eosinophilie 3 Proz.

Klinische Diagnose: Vereiterte Echinococcuscyste der Leber.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Negativ.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Negativ.

Operationsdiagnose: Vereiterte Echinococcuscyste der Leber.

Fall III. 29-jährige Frau, im Hauswesen beschäftigt, seit ungefähr 11 Monaten heimgesucht von malariaartigen Anfällen in 8—10-tägigen Intervallen, unterbrochen durch Perioden des Wohlbefindens. Seit derselben Zeit beobachtet sie das Erscheinen und die konstante Größenzunahme einer Geschwulst, die unter dem rechten Rippenbogen lokalisiert ist. Augenblicklich präsentiert sich im rechten Hypochondrium eine halbkugelige Schwellung von glatter, konvexer Oberfläche, derb-elastischer Konsistenz, ein wenig schmerzhaft auf Druck, respiratorisch verschieblich, mit der größten Vorwölbung in der Fortsetzung der rechten Parasternallinie. Diese Geschwulst reicht nach

unten bis auf 3 cm vom Nabel, medialwärts bis 2 cm links von der Linea alba, nach oben und rechts verschwindet sie unter dem Rippenbogen.

Niemals bestand Ikterus; leichte periodisch alle 7—8 Tage auftretende Temperatursteigerungen und Verdauungsstörungen mit Erbrechen und Diarrhöen.

Blutuntersuchung: Rote Blutkörperchen 3 200 000, weiße 9750, Hämoglobin 55 Proz., Eosinophilie 12 Proz.

Klinische Diagnose: Echinococcuscyste der Leber.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Negativ.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Positiv.

Operationsdiagnose: Wahrscheinlich Adenom der Leber.

Die Kranke starb 3 Monate nach dem operativen Eingriff. Bei der Autopsie findet sich keine Spur von Echinococcus in keinem Teil des Körpers; die Leber ist auf beiläufig ein Zehntel der normalen Größe verkleinert. Weder makroskopisch noch mikroskopisch konnte eine exakte anatomische Diagnose gestellt werden.

Fall IV. 28-jähriger Mann, Bergarbeiter, seit 3 Jahren an Schmerzen im rechten Hypochondrium leidend, die gegen Schulter und Nabel ausstrahlen, ohne Temperatursteigerungen, ohne Fröste, ohne gastro-intestinale Störungen. Zu gleicher Zeit wie die Schmerzen erschien eine Schwellung im Bereich der Lebergegend. Am rechten Rippenbogen, 2 cm unter dem Processus xyphoideus, zeigt sich eine Geschwulst von glatter Oberfläche, undeutlich begrenzt, unter normaler Haut, von derb-elastischer Konsistenz, respiratorisch verschieblich; die Dämpfung der Geschwulst geht in die der Leber über.

Blutuntersuchung: Rote Blutkörperchen 4 600 000, weiße 9600, Hämoglobin 70 Proz., Eosinophilie 8 Proz.

Klinische Diagnose: Zweifelhaft ob Echinococcuscyste der Leber oder Hepatitis chronica.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Negativ.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Negativ.

Bei der Operation findet sich keine einzige Stelle, die auf Echinococcus verdächtig wäre; die Leber ist geschwollen, gestaut.

Fall V. 30-jähriger Feldarbeiter, seit ungefähr 15 Monaten krank; anfangs spürte er heftige Schmerzen in der linken Brust und genau entsprechend der Fossa infra-spinata, mit leichten Temperatursteigerungen und Atembeschwerden. Wiederholtes Erbrechen mit Hydatidencysten im Erbrochenen, das letzte Mal vor 8 Tagen.

Die Erkrankung ist in der linken Scapulargegend lokalisiert, wo sich eine gedämpfte Partie ungefähr von Form und Größe eines 5 Francstückes findet. Bei der Auskultation konstatiert man Fehlen des Atemgeräusches, des Stimmfremitus und der Bronchophonie. Der Kranke klagt über stechende Schmerzen an dieser Stelle und hat häufige Anfälle von Dyspnoë.

Blutbefund: Rote Blutkörperchen 4 700 000, weiße 7500, Hämoglobin 75 Proz., Eosinophilie 1,25 Proz.

Klinische Diagnose: Echinococcuscyste der linken Lunge.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Positiv.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Positiv.

Der Patient lehnte die vorgeschlagene Operation ab, doch machte die Diagnose keine Schwierigkeit, da sich die Cysten im Erbrochenen vorfanden; auch fanden sich bei der mikroskopischen Untersuchung die charakteristischen Hakenkränze.

Fall VI. 50-jähriger Stallknecht, verspürte zuerst vor 7 Monaten leichte, intermittierende Schmerzen in der Lebergegend, die in der Folge intensiver und andauernd wurden. Einen Monat später zeigte sich im Epigastrium eine Schwellung, die allmählich an Größe zunahm.

Augenblicklich sieht man im Epigastrium, deutlicher gesagt, rechts von der Linea alba einen Tumor, etwas größer als eine Orange, von glatter Oberfläche, derb elastischer Konsistenz, druckschmerzhaft, dessen Dämpfung sich in die Leberdämpfung verliert. Er reicht nach oben und vorn bis unter den Processus xyphoideus, medialwärts bis zum inneren Rand des linken Rectus, nach unten bis zum Nabel, und zeigt respiratorische Verschieblichkeit. Der Allgemeinzustand des Patienten ist gut, keinerlei Zeichen von Kachexie.

Blutbefund: Rote Blutkörperchen 4 200 000, weiße 16 240, Hämoglobin 70 Proz., Eosinophilie 3,33 Proz.

Klinische Diagnose: Echinococcuscyste der Leber.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Negativ.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Positiv.

Operationsdiagnose: Sarkom der Leber.

Fall VII. 36-jähriger Schreiber. Vor 4 Monaten trat eine Geschwulst auf, die die Größe einer Mandarine hatte und langsam wuchs bis zum heutigen Umfang, der dem eines großen Apfels entspricht. — Der Tumor ist leicht vorgewölbt, unter normaler Haut, von weich elastischer Konsistenz, etwas fluktuierend, nicht schmerzhaft auf Druck, respiratorisch verschieblich, mit gedämpftem Schall. Er reicht medianwärts beinahe bis zur Linea alba, nach unten bis 2 Querfinger über dem Nabel. — Kein Fieber, keine Verdauungsstörungen, kein Ikterus. Patient klagt bloß über ein Gefühl von Schwere, von Spannung in der Lebergegend.

Blutbefund: Rote Blutkörperchen 3 950 000, weiße 8700, Hämoglobin 65 Proz., Eosinophilie 4,7 Proz.

Klinische Diagnose: Echinococcuscyste der Leber.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Positiv.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Negativ.

Operationsdiagnose: Echinococcuscyste der Leber mit klarem, durchscheinendem Inhalt.

Fall VIII. 45-jährige Frau, häuslich beschäftigt, die vor 4 Jahren das Auftreten einer Geschwulst im Epigastrium bemerkte, die langsam größer wurde, ohne Schmerzen oder eine andere Störung zu verursachen, mit Ausnahme eines Gefühls von Druck in der Lebergegend. Augenblicklich finden sich im rechten Hypochondrium zwei Vorwölbungen, jede von der Größe des Kopfes eines reifen Neugeborenen, von glatter Oberfläche, unter normaler Haut, von weich elastischer Konsistenz und respiratorischer Verschieblichkeit. Die eine liegt unter dem rechten Rippenbogen, ihn überragend, bis einen Querfinger breit über dem Nabel reichend, entlang der Fortsetzung der rechten Parasternallinie. Die andere sitzt in der Fortsetzung der Mamillarlinie am Rippenrand. Beide fluktuieren und kommunizieren miteinander. Denn wenn man die Hand flach auf die eine Vorwölbung legt, während man mit der rechten auf die andere drückt, fühlt man den Anprall der Welle. Zwischen beiden befindet sich ein 2—3 cm breiter Streifen gedämpften Schalles. — Kein Ikterus, kein Fieber, keine Verdauungsbeschwerden. Patientin befindet sich wohl, sieht blühend aus, klagt über nichts als einen leichten Schmerz im rechten Hypochondrium, der gegen die gleichnamige Schulter austrahlt und in langen Zeitintervallen auftritt.

Blutbefund: Rote Blutkörperchen 4 350 000, weiße 7600, Hämoglobin 70 Proz., Eosinophilie 5,6 Proz.

Klinische Diagnose: Echinococcuscyste der Leber.

Serodiagnose nach Bordet-Gengou: Positiv.

Serodiagnose nach der Präzipitationsreaktion: Negativ.

Operationsdiagnose: Echinococcuscyste der Leber mit serösem, klarem, durchsichtigem Inhalt.

Resummieren wir die gewonnenen Resultate. Sie zerfallen in zwei Gruppen:

I. 5 Fälle von Echinococcuscysten. Serodiagnose nach Bordet-Gengou positiv 4mal, negativ 1mal. Seropräzipitation positiv 2mal, negativ 3mal.

II. 3 Fälle, die Echinococcus vortäuschten, und die bei der Operation oder bei der Autopsie keine Spur von Echinococcus erkennen ließen. Serodiagnose nach Bordet-Gengou alle 3mal negativ. Seropräzipitation positiv 2mal, negativ 1mal.

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich sofort der Wert der Komplementbindungsmethode und die geringe Verlässlichkeit der Seropräzipitation; jene gab immer exakte Resultate, bis auf einen einzigen Fall, über den ich sofort sprechen werde, diese in 60 Proz. der Fälle fehlerhafte Resultate. Ich glaube daher, daß diese letztere nur dann eine gewisse Bedeutung beanspruchen kann, wenn sie mit der Komplementbindungsreaktion übereinstimmt, indem sie in diesem Falle beiträgt, die Diagnose zu sichern.

In einem Falle (No. II) von Echinococcus gab auch die Methode Bordet-Gengou ein negatives Resultat; in diesem Falle war die Cyste vereitert. Weinberg, Parou, Welsh und Chapman fanden die Serodiagnose positiv auch bei vereiterten Echinococcuscysten. Andererseits erhielt Weinberg in einem Falle von Echinococcuscyste mit serösem, klarem, durchsichtigem Inhalt mit der Methode Bordet-Gengou ein negatives Resultat vor dem operativen Eingriff, und ein positives nach dem Eingriff. Er versuchte diese widersprechenden Be-

funde zu erklären, indem er zu diesem Zwecke 2 Hypothesen aufstellte: Entweder enthielt das Serum des Kranken Substanzen, die die Reaktion verhindert haben und nach der Operation verschwunden sind. Oder aber der Organismus hatte während der Operation ausfließende Hydatidenflüssigkeit resorbiert und dann erst neue spezifische Antikörper gebildet, die die Serodiagnose positiv gemacht hatten. Weinberg selbst neigt der zweiten Annahme zu. Indessen wird damit nicht erklärt, aus welchem Grunde die Antikörper im Blutserum vor der Operation gefehlt hatten.

Mein Fall zeigt eine gewisse Analogie zu dem Weinbergs, trotzdem es sich bei mir um eine vereiterte Cyste gehandelt hat und das serodiagnostische Resultat auch nach der Operation negativ geblieben ist.

Existierten im Blutserum neben den spezifischen Antikörpern auch Substanzen, die die serodiagnostischen Resultate beeinträchtigten, oder aber haben die spezifischen Antikörper vollkommen gefehlt? Der Umstand, daß die Cyste seit ca. 2 Jahren vereitert war, läßt mir die zweite Annahme plausibler erscheinen. Es ist tatsächlich einzusehen, daß ganz zu Beginn, unter dem Einfluß der lebenden Hydatide, sich spezifische Antikörper gebildet hätten, die später wieder ausgeschieden wurden, ohne daß der Organismus neue produzieren konnte, da eben die Hydatide abgestorben war.

Daß die spezifischen Antikörper schnell verschwinden können, ist bewiesen durch die Untersuchungen von Fleig und Lisbonne¹⁾, von Weinberg²⁾ und von mir: Ich konnte im ersten meiner Fälle, in dem die Cyste vollkommen extirpiert werden konnte, das Verschwinden der spezifischen Antikörper in der 4. Woche nach dem operativen Eingriff feststellen.

Man kann somit annehmen, daß nach dem Absterben der Cyste, gleich oder nach einer gewissen Zeit, keine spezifischen Antikörper mehr gebildet werden, und die vorhandenen mehr oder weniger rasch ausgeschieden werden.

Mitunter freilich tritt auch das Gegenteil ein. Aus der letzten Arbeit Weinbergs geht hervor, daß in einer relativ geringen Zahl von Fällen die spezifischen Antikörper auch noch lange Zeit nach dem operativen Eingriff im Blutserum nachgewiesen werden können. Vielleicht handelt es sich eben um Antikörper, die seit langem vorhanden sind und sehr langsam ausgeschieden werden; oder um solche, die überhaupt nicht völlig ausgeschieden werden können, oder um neugebildete, weil die Cystenwand nicht vollständig entfernt wurde? Oder gibt es vielleicht bei solchen Kranken noch andere Lokalisationen des Parasiten, die sich dem klinischen Nachweis entziehen?

Guinard³⁾ hat zu dieser Frage erst kürzlich ein sehr interessantes Beispiel in der Pariser chirurgischen Gesellschaft mitgeteilt. Bei einer Kranken, bei der er eine Hydatidencyste der Leber operiert hatte, blieb die Reaktion noch 9 Monate nach der Operation bestehen, obwohl

1) Im Falle von Fleig und Lisbonne verschwand die Seroreaktion 3 Wochen nach der Operation.

2) Weinberg äußert sich darüber folgendermaßen: „Lorsque le kyste hydatique se trouve dans un organe comme l'épiploon, sous la peau ou bien dans les muscles, on peut l'extraire facilement avec sa paroi adventice. Dans ces conditions, les anticorps disparaissent rapidement du sérum. Nous avons pu le constater chez les malades de Mm. Roumoulin, Guinard, Routier et Walther.“

3) Presse med. 1909. No. 55.

keinerlei Symptom für ein Rezidiv vorhanden war. Diese Patientin bekam eine Pleuritis, die eine Punktion notwendig machte; bei dieser entleerte sich zuerst die zitronengelbe Flüssigkeit, dann aber, als der Troikart ein wenig tiefer vorgeschoben wurde, eine klare, wie Quellwasser durchsichtige, für Echinococcus charakteristische Flüssigkeit. Es bestand also hier eine Echinococcus cyste der Lunge, die keine Symptome gemacht hatte; womit auch das Fortbestehen der Komplementbindungsreaktion aufgeklärt war.

Hoffentlich werden weitere Untersuchungen diese ungemein wichtige Frage aufhellen, speziell auch, ob das Fortbestehen der Seroreaktion immer ein Hinweis auf klinisch nicht nachweisbare Lokalisation weiterer Cysten ist, wie im Falle Guinard. Diese Annahme ist um so mehr gerechtfertigt, als die Intensität der serodiagnostischen Reaktion mit dem Volumen der Cyste nicht parallel geht: Das Phänomen kann ebenso rasch und intensiv erscheinen bei den größten Cysten wie bei sozusagen mikroskopisch kleinen.

Die Methode eignet sich daher aufs beste, auch klinisch nicht zu diagnostizierende, ja nicht einmal zu vermutende Cysten zu entdecken. Sie hat ferner differentialdiagnostische Bedeutung in Fällen, die nicht den ganzen Symptomenkomplex klar ausgeprägt zeigen. So kommt es bisweilen vor, daß die physischen Symptome für Echinococcus sprechen, während die Serodiagnose den diagnostischen Irrtum aufdeckt, und die Operation das Resultat des biologischen Nachweises bestätigt.

Drei Fälle unter den oben angeführten illustrieren dieses Faktum, und zwar die Fälle III, IV und VI. In Fall III handelte es sich um eine Frau, bei der alle Symptome für Leberechinococcus sprachen: Die Allgemein- und die Lokalsymptome, die Eosinophilie (12 Proz.), der ganze Verlauf, alles sprach für Echinococcus. In Fall IV war zwar die Symptomatologie nicht charakteristisch, trotzdem mußte die Wahrscheinlichkeitsdiagnose Echinococcus lauten, zumal auch hier die Eosinophilie (8 Proz.) über die Norm war. In Fall VI war es das Vorhandensein des epigastrischen Tumors von halbkugeliger Form, glatter Oberfläche und derb-elastischer Konsistenz und das blühende Aussehen des Patienten, was die Diagnose: Leberechinococcus vollkommen rechtfertigte. Nun denn, in allen diesen Fällen sprach der Ausfall der biologischen Probe gegen die Diagnose: Echinococcus, und der operative Eingriff bestätigte dieses Resultat.

Diese Tatsachen beweisen, daß die Serodiagnose des Echinococcus nützlich ist bei positivem Befund, daß sie es vielleicht noch mehr ist, wenn sie im Gegensatz zu den klinischen Daten, negativ ist, indem sie so den Operateur wie den Patienten vor unnötigen und bisweilen auch schädlichen Eingriffen zu schützen vermag.

Ein anderes Faktum, das sich aus den mitgeteilten Beobachtungen ergibt, ist die fehlende Uebereinstimmung von Serodiagnose und Eosinophilie; oft geben sie sogar vollkommen konträre Befunde. Häufig kommt es vor, daß die Eosinophilie hohe Prozente zeigt, während Serodiagnose und Operation das Fehlen von Echinococcus dartun; in anderen Fällen wieder ist im Gegenteil die Eosinophilie niedrig, und trotzdem ist ein Echinococcus vorhanden.

Ehemals legte man der Eosinophilie beim Echinococcus die größte diagnostische Bedeutung bei, ja es gab sogar einen Augenblick, wo einige ihr den Wert eines pathognomonischen Symptoms zuschreiben wollten.

Spätere Untersuchungen haben indessen gezeigt, daß Eosinophilie mit höheren als normalen Werten noch bei einer ganzen Reihe anderer Krankheiten vorkommt, wie bei Ankylostomiasis, Trichinosis, Bilharzia-krankheit, bei gewissen Hautkrankheiten, bei Syphilis, Leukämie, Asthma bronchiale, bei vielen malignen Tumoren etc. Und es kann auch gar nicht anders sein, da ja die Eosinophilie nicht eine spezifische vitale Reaktion auf den Reiz bestimmter und wohlcharakteristischer Erreger ist, sondern nur eine Art, in der der Organismus gleichmäßig auf viele und verschiedene Ursachen reagiert.

Tatsächlich befriedigt unter allen Theorieen, besser gesagt Hypothesen, die zur Erklärung der intimen Vorgänge bei der vermehrten Produktion der Eosinophilen aufgestellt wurden, weitaus am besten die Ehrliche Theorie, nach der die Zunahme der Eosinophilen im Blutströme auf chemotaktischen Vorgängen beruht: Die eosinophilen Leukocyten, empfindlich gegenüber gewissen chemotaktischen Agentien, verlassen unter deren Einwirkung ihren gewöhnlichen Aufenthalt, das Knochenmark, um in den Blutkreislauf zu gelangen¹⁾. Diese Erklärung wurde später auch von Schleich, Opie u. a. akzeptiert. Diese chemotaktischen Vorgänge können durch eine große Zahl infektiöser Agentien und tierischer Parasiten ausgelöst werden, weshalb in einer ganzen Reihe von Krankheiten Eosinophilie vorkommt. Die Eosinophilen sind immer gleich, mit denselben morphologischen Charakteren, weshalb man keinerlei Eigentümlichkeit der Struktur angeben kann, welche ihnen eine für die einzelnen Krankheiten spezifische Bedeutung geben würde.

Die Eosinophilie hat somit als diagnostisches Element an sich jeden Wert eingebüßt; trotzdem kann sie noch von einer gewissen Bedeutung sein, wenn sie mit der biologischen Probe übereinstimmt, ist aber, wenn sie in Widerspruch mit dieser steht, vollkommen zu vernachlässigen.

Angesichts aller dieser Tatsachen, angesichts des Fehlens einer klaren und präzisen Symptomatologie und der Häufigkeit, mit der Hydatiden in inneren Organen lokalisiert sind, erweist sich der ungeheure praktische Nutzen der Serodiagnose, die auf wissenschaftlichen nunmehr sichergestellten und nicht zu bezweifelnden Prinzipien basierend, dem Kliniker den sicheren Beweis wenigstens für das Vorhandensein des *Echinococcus* liefert.

Diese Erwägungen gerade haben mich bestimmt, meine Untersuchungen zu publizieren, als deren Ergebnis sich, wie ich glaube, die folgenden Schlußsätze aufstellen lassen:

I. Im Blutserum der *Echinococcus*kranken gibt es spezifische Antikörper, welche sich durch das Phänomen der Komplementbindung, nur bei Anwesenheit ihres spezifischen Antigens, darstellen lassen.

II. Das beste Antigen ist Hydatidenflüssigkeit vom Hammel. Man kann auch solche vom Menschen und vom Rind benützen, doch gibt dieses bisweilen positive Reaktion auch mit dem Serum gesunder oder an anderen Krankheiten leidender Individuen.

III. Die Komplementbindungsreaktion ist bei der Echinokokkenkrankheit das einzige unschädliche, sichere und beweisende Hilfsmittel der Diagnose.

1) Daddi, Manuale pratico di ricercho cliniche. Mailand (Soc. Editr. libr.) 1909.

IV. Sie ist immer positiv, wie immer die Größe, wo immer der Sitz der Cyste ist. Auch bei vereiterten Cysten ist sie positiv; nur manchmal, aus noch nicht näher bekannten Gründen, besonders wenn die Vereiterung schon seit langen besteht, kann die Reaktion negativ sein.

V. Die Seropräzipitation ist ein wenig verlässliches diagnostisches Hilfsmittel. Man kann ihr nur dann vertrauen, wenn das Resultat mit der Komplementbindungsreaktion übereinstimmt, die dadurch noch größere Bedeutung gewinnt.

Ganz kürzlich (August 1909) hat Rossello¹⁾ die Resultate publiziert, die er bei der Untersuchung der Hydatiden-Antikörper mit der Komplementbindungsreaktion in 12 Fällen von Echinococcuscysten erhalten hat. Die Reaktion war fast immer positiv. Er hat die Technik etwas modifiziert, indem er als Antigen ein wässriges Extrakt aus der Cystenwand, anstatt des Cysteninhalts verwendete. — Sowohl mit dem Cysteninhalt wie mit dem wässrigen Extrakt der Cystenwand gelang es ihm, bei Tieren das Erscheinen der spezifischen Antikörper hervorzurufen, wobei jeder Antikörper nur für das gerade verwendete Antigen spezifisch war und nicht für das andere; es kann daher vorkommen, daß diese zwei Antigene verschiedene Reaktionen auslösen.

Er kann also behaupten, daß der Hydatidenparasit im Organismus eine 2-fache Abwehrreaktion hervorruft, welche sich in der Existenz von zweierlei Antikörpern äußert, die verschieden spezifisch sind, je nach dem verwendeten Antigen. Diese zwifache Abwehrreaktion des Organismus äußert sich nicht in sichtbaren physischen Anzeichen.

Vom Standpunkt des Praktikers aus betrachtet, steht es auch für ihn fest, daß die Komplementbindungsreaktion ein ausgezeichnetes diagnostisches Hilfsmittel darstellt.

Nachdruck verboten.

Ueber den Dieudonnéschen Blutalkaliagar.

[Aus dem städtischen Obuchowhospital für Männer in St. Petersburg
(Chefarzt: Dr. A. Netschajew).]

Von Dr. M. Tuschinsky.

Zur Diagnosenstellung der Cholera und bei der Entlassung eines von der Cholera Genesenen ist die bakteriologische Untersuchung des Falles unerlässlich. An das Laboratorium wird hierbei vor allem die Anforderung der schnellen und exakten Diagnose gestellt, der Nachweis der Choleravibrionen in Reinkultur und die nachfolgende Agglutationsprobe.

Der von Dieudonné (1) vorgeschlagene und von Hunt Müller (2) und A. Berdnikow (3) beschriebene Nährboden bietet die Möglichkeit

1) *La Presse méd.* 1909. No. 63.

schnell und sicher aus den Exkrementen eine Reinkultur von Cholera-vibrionen zu erhalten.

Zur Herstellung dieses Nährbodens nimmt man eine Normallösung von Aetzkali (Verf. nahm 56 g Kal. caust. auf 1 Liter Aqua dest.) und vermischt sie zu gleichen Teilen mit defibriniertem Rinderblut. A. Berdnikow hat darauf hingewiesen, daß man auch das Blut von anderen Tieren hierzu verwenden kann. Verf. benutzte das reine (nicht steril entnommene) Blut eines Kalbes vom Schlachthof und vermischte es mit der Kaliumlösung. Das von letzterer hämolysierte Blut wird $\frac{1}{2}$ Stunde lang in strömendem Dampf sterilisiert, im Verhältnis von 3:7 mit neutralem Agar vermengt und in Petri-Schalen gegossen. Verf. verwandte den auf Liebig's Fleischextrakt gewonnenen Agar, welcher 2 Proz. Agar-Agar enthielt. Danach werden die Schalen 5 Minuten (Dieudonné) bis $\frac{1}{2}$ Stunde (Huntemüller) bei 60° C oder mehrere Tage (Dieudonné) bei 37° C im Thermostaten getrocknet. Verf. trocknete sie 24 Stunden lang bei 37° C. Da aus der Blutlösung viel Ammoniak entsteht, welcher dem Wachstum auch der Cholera-vibrionen schädlich ist, rät Huntemüller, die Schalen erst zu benutzen, nachdem sie 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden haben. Die oben angeführte Art des Trocknens von 24 Stunden bei 37° C genügt vollkommen.

Auf die derart vorbereiteten Schalen brachte der Verf. mit dem Drigalskyschen Stäbchen eine Oese Schleim aus den Exkrementen oder eine gleiche Menge geformter Faeces, welche nur wenig mit Peptonwasser verdünnt worden war. Bei Reißwasserstühlen genügt eine Schale vollkommen, bei gefärbten Exkrementen gebrauchte Verf. 2—3 Schalen.

Nun werden die bestrichenen Schalen wiederum bei 37° C auf ca. 12 Stunden in den Thermostaten gestellt, worauf die Agglutinationsprobe erfolgt. Schon nach 12 Stunden ist das Wachstum deutlich erkennbar. In den meisten Fällen ist die weitere Uebertragung auf Agar überflüssig: die Agglutinationsprobe gelingt auch direkt aus den Schalen.

Aus dem typischen Choleraschleim wachsen in der Regel nur Cholera-vibrionen, selten und meist nur in geringer Anzahl gehen Kolonien anderer Mikroorganismen auf. Die Untersuchungen von Reiswasserfaeces in den Fällen, wo der Charakter der Kulturen vermerkt war (vom 16.—30. Sept.), ergab folgendes Resultat:

Reiswasserfaeces	Reinkultur von Cholera-vibrionen	Fast absolute Reinkultur (ver-einzelte Kolonien anderer Mikroben)	Unreine Kultur (viele anders-artige Kolonien)	Keine Cholera-vibrionen er-kennbar	Summe der Fälle
Anz. d. Fälle	21	7	8	3	39

Hieraus geht hervor, daß man in 72 Proz. typischer Cholerafaeces Reinkulturen von Vibrionen erhält, nur zuweilen ist eine unbedeutende Anzahl anderer Kolonien konstatiert worden.

In 44 Fällen atypischer Exkremente, wo jedoch auch Vibrionen konstatiert wurden (im selben Zeitabschnitt), erhielt Verf. folgende Resultate:

Charakter der Exkremente	Reinkultur von Cholera-vibrionen	Fast absolute Rein-kultur	Unreine Kultur	Summe der Fälle
1. Farblose Exkremente (ohne Schleim)	7	1	2	10
2. Schleimige Exkremente mit Blutzusatz	2	1	3	6
3. Flüssige Exkremente	10	3	9	22
4. Geformte Faeces	1	0	5	6
Summe	20	5	19	44

Der Dieudonnésche Nährboden ist von den Vertretern der Darmflora für die Cholera-vibrionen ganz besonders günstig; neben letzteren gedeihen auch andere Mikroorganismen, jedoch bedeutend weniger üppig.

Der *Vibrio* bildet nach Huntentüller „große, kreisrunde, im durchfallenden Lichte glashelle, im auffallenden graue Kolonien mit glattem Rand“. Diese Kolonien sind üppig, zerfließen auf Agar, haben die Tendenz, sich mit den Nachbarkolonien zu vereinigen und glänzen bei reflektiertem Lichte.

Die Kolonien des *Bac. coli communis* sind trüber, die Ränder schärfer; sie zerfließen nicht so, wie die oben besprochenen. Zuweilen sind sie schwer von den Kolonien der Cholera-vibrionen zu unterscheiden. Von dem wenn auch nur selten auf dem beschriebenen Nährboden vorkommenden Wachstum des *Bac. coli communis* spricht auch Dieudonné selbst.

Die Kolonien des *Bac. pyocyaneus* zerfließen niemals so auf den Dieudonnéschen Schalen, wie das auf gewöhnlichem Agar der Fall ist. Außerdem haben sie einen grünlichen Schimmer.

Zuweilen, besonders bei geformten Faeces, bleiben die Schalen steril.

Der Verf. hat in der Zeit vom 14. August bis zum 30. September mit Hilfe des Dieudonnéschen Nährbodens 450 Untersuchungen von Exkrementen Cholera-kranker und Cholera-verdächtiger gemacht, ebenso von Personen, die mit den Kranken in Berührung kamen und der sogenannten Cholera-träger.

Parallel mit der Kultur auf den Schalen brachte Verf. die Exkremente auf Peptonwasser (mit 2-prom. Alkali) mit weiterer Uebertragung auf gewöhnlichen alkalischen Agar.

In allen Fällen, wo auf dem Agar Kolonien von Cholera-vibrionen entstanden, ergab der Dieudonnésche Nährboden eine dichte, üppige, fast immer reine Kultur von Cholera-vibrionen, an welcher direkt die Agglutinationsprobe gemacht werden konnte. Häufig ergaben die Schalen Vibrionenkulturen, während auf dem gewöhnlichen Agar keine nachgewiesen werden konnten.

In 68 Fällen benutzte Verf. außer den direkt auf den Schalen angelegten Kulturen noch Uebertragungen von Peptonwasser auf die Schalen (nach 4–5-stündiger Aufbewahrung im Thermostat bei 37° C). Die Resultate waren in den meisten Fällen die gleichen. In 5 Fällen entstand der *Vibrio* direkt aus den Exkrementen, während es nicht gelang, aus dem Peptonwasser Kolonien zu gewinnen. In 2 Fällen, ganz am Anfang der Arbeit, als Verf. noch die Exkremente stark mit Pepton-

wasser verdünnte, wurden Vibrionenkolonien aus Peptonwasser gewonnen, während sie in der direkten Kultur der Exkreme fehlten. In einem Fall wurde auf Pepton eine reichliche, wenn auch viele andere Mikroben enthaltende Kultur erzielt, während direkt aus den Exkrementen nur eine Kolonie von Choleravibrionen entstand.

Bemerkenswert ist es, daß der direkt aus den Exkrementen angelegten Kultur nicht nur in bezug auf Einfachheit und Schnelligkeit der Vorrang gebührt, sondern es scheint auch, daß man ohne Peptonwasservorkultur bessere Resultate erzielt. Um aber die sichersten Resultate zu erlangen, ist es unumgänglich notwendig, sich beider Arten zu bedienen, wie das auch von A. Berdnikow angeraten wird, welcher die Ansicht ausspricht, daß beide Methoden einander ergänzen.

Dieudonné weist darauf hin, daß der auf dem Nährboden entstandene Vibrio seine Fähigkeit zur Agglutination nicht verliert. Zur Veranschaulichung dieser Frage stellte ich in einigen Fällen seinen Titre fest.

Fall 1815. Reiswaerfaeces. 10. September Kultur auf Dieudonnéschen Nährboden. 11. September Uebertragung auf Agar. 12. September Titre 1:8000.

Derselbe Fall. Reiswaerfaeces. 10. September Kultur auf Peptonwasser. Nach 4 Stunden Uebertragung auf Dieudonnéschen Nährboden. 11. September Uebertragung auf Agar. 12. September Titre 1:8000.

Derselbe Fall. Reiswaerfaeces. 10. September Kultur auf Peptonwasser. Nach 4 Stunden Uebertragung auf gewöhnlichen Agar. 11. September Uebertragung auf Agar. Titre 1:8000.

Fall 2025. Reiswaerfaeces. 17. September Kultur auf Dieudonnéschem Nährboden. 18. September direkt von der Schale Titre 1:4000.

Derselbe Fall. Reiswaerfaeces. 17. September Kultur auf Peptonwasser. Nach 4 Stunden Uebertragung auf Agar. 18. September Titre 1:8000.

In 2 anderen Fällen waren die Resultate so gut wie die oben beschriebenen. Eine die Agglutination der Vibrionen bemerkbar beeinträchtigende Wirkung übt der Nährboden nicht aus, obgleich in einigen Fällen die Agglutination einen niedrigen Titre geben kann. Bei der Agglutinationsprobe bediente Verf. sich des Heilserums von J. Schurupow (Serie 29).

Aber auch mit Hilfe dieses Nährbodens gelang es nicht, bei allen Fällen klinischer Cholera Vibrionen zu finden. Von 119 Fällen klinisch erwiesener Cholera, ergab der Dieudonnésche Nährboden in 13 Fällen (11 Proz.) keine Vibrionen. Unter diesen befanden sich: a) 2 Fälle, wo die Kranken erst im typhoiden Zustande ins Krankenhaus eingetreten waren; die Exkreme beider Kranken wurden erst am 6. Tage nach der Erkrankung untersucht. b) 6 Fälle leichter und mittelschwerer Cholera; die meisten dieser Kranken hatten Calomel oder Natrium sulfocarbolicum erhalten. c) 5 Fälle algider Cholera mit schwerem Kollaps (1 Kranker wurde am 4. Tage nach der Erkrankung untersucht, 2 nach 2 Tagen und 2 nach 1 Tage); nur in einem Falle waren die Faeces reiswaerartig. Leider wurden die Exkreme aller dieser Kranken nur 1mal untersucht.

5mal wurde gleichzeitig mit den Exkrementen auch das Erbrochene untersucht.

Hiervon wurden in einem Falle weder in den Exkrementen noch im Erbrochenen Vibrionen gefunden; in 2 Fällen erwiesen sich die Schalen mit dem darauf gebrachten Schleim aus dem Erbrochenen

steril, während in den Exkrementen Vibrionen gefunden wurden; in 2 Fällen ergaben sowohl die Exkremente als auch das Erbrochene Reinkulturen von Vibrionen, ohne Kolonien anderer Bakterien.

Von den 76 Kulturen, die mit den typischen Reiswasserfaeces auf dem Dieudonnéschen Nährboden angelegt wurden, konnten in 8 Fällen, d. h. in 10 Proz., keine Vibrionen gefunden werden (7mal fehlten Vibrionenkolonien, 1mal erwiesen sich die Schalen als steril). In 23 Fällen der Uebertragung von Peptonwasser auf den Dieudonnéschen Nährboden fehlt in 3 Fällen der Vibrio, in 1 Fall blieben die Schalen steril. Im ganzen entfielen auf 99 Untersuchungen 12 Mißerfolge, d. h. 12 Proz. In der Winterepidemie von 1908 stellte Dr. V. Jakowlew (4) den Prozentsatz der Mißerfolge bei der Untersuchung von Reiswasserfaeces mit 22,2 fest.

Von 65 Untersuchungen von der Cholera Genesender hielt sich der Vibrio in 8 Fällen (12,3 Proz.) über 1 Woche, und zwar: bei 3 bis zum 8. Tage, bei 1 bis zum 10., bei 1 bis zum 11., bei 1 bis zum 12., bei 1 bis zum 16. und bei 1 bis zum 18. Tage.

Dieses sind die Resultate der Arbeit des Verf. mit dem Dieudonnéschen Nährboden, welche im Verlaufe von 1½ Monat erzielt wurden. Sie zwingen dazu, diesen Nährboden dem Interesse der Kollegen warm zu empfehlen.

Die einfache und billige Herstellung des Nährbodens, die leichte Handhabung, die Schnelligkeit und verhältnismäßig große Sicherheit der erlangten Resultate geben den Grund zur Voraussetzung, daß der Dieudonnésche Nährboden sich den ihm gebührenden Platz in der bakteriologischen Untersuchung der Cholera erobern und die Zahl derjenigen Fälle, in welchen die bakteriologische Untersuchung der Exkremente trotz aller klinischen Merkmale der Cholera, ein negatives Resultat ergab, auf ein Minimum reduzieren wird.

Literatur.

- 1) Dieudonné, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 1.
- 2) Huntmüller, ibidem.
- 3) Berdnikow, A., Russkij Wratsch. 1909. No. 36.
- 4) Ber. d. Sanitätskomm. über den Kampf mit der Cholera in St. Petersburg im Jahre 1908. p. 258 (russisch).

Inhalt.

- Cano, Umberto**, L'hyperémie à la Bier dans le traitement local de l'infection rabique, p. 37.
- Chatterjee, G. C.**, On the occurrence of a form of fowl-septicaemia in Calcutta, p. 1.
- Eysell, Adolf**, Erwiderung auf „Zur Frage der Eier von *Culex cantans*“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 545–546), p. 27.
- Forster**, Ueber die Abtötung der Tuberkelbacillen durch Erhitzung, p. 74.
- Galli-Valerio, B. und Rochas de Jongh, J.**, Beobachtungen über Culiciden, p. 21.
- Kühl, Hugo**, Ueber ein Vorkommen von Hefe auf schmieriger Wursthaut, p. 5.
- Lumbau, S.**, Les murides infectés avec le virus fixe de Sassari par voie sous-cutanée meurent absolument de rage, p. 29.
- Putzu, J.**, Ueber den biologischen Nachweis der Echinococcuskrankheit, p. 77.
- Selenow, I. F.**, Zur Morphologie der *Spirochaeta pallida*: Ring- und Sternformen derselben, p. 7.
- Strabell und Felber**, Der tuberkulopsonische Index beim Menschen und beim Rinde, p. 44.
- Stäpfle, Karl**, Die Vererbung der Vaccineimmunität, p. 38.
- Tedeschi, Aldo**, Experimenteller Beitrag zur Erforschung der Spirochäte des afrikanischen Recurrensfiebers (*Spirochaete Duttoni*), p. 12.
- Tièche**, Ueber massenhaftes Vorkommen von zur Familie der Tyroglyphidae gehörenden Milben im menschlichen Stuhl, p. 32.
- Tuschinsky, M.**, Ueber den Dieudonnéschen Blutalkaliagar, p. 91.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung **Gustav Fischer in Jena** einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 54. Heft 2.

Nachdruck verboten.

Ueber ein für Kaninchen und Meerschweinchen pathogenes, noch nicht beschriebenes Bakterium.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. B. Fischer).]

Von Dr. Ludwig Laven,

früherem Assistenten am Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten.

Mit 1 Tafel.

Im Jahre 1900 implantierte Herr Geheimrat B. Fischer bei Versuchen über den Syphiliserreger einem Meerschweinchen einen frischen harten Schanker unter die Bauchhaut. Das Tier ging nach einigen Wochen ein; die Sektion ergab einen Eiterherd unter der Bauchhaut, eitrige Peritonitis, Mediastinitis und eine beginnende Pneumonie. Aus dem Eiter wurde ein für Meerschweinchen und Kaninchen pathogenes kleines, gramnegatives, zuweilen zu Fäden auswachsendes Kurzstäbchen gezüchtet, das sich nur lückenhaft färbte und auf Agar zarte fadenziehende Auflagerungen bildete. Da die Kulturen oft schon nach kurzer Zeit abstarben, konnte die Untersuchung wegen schließlichen Eingehens der Bakterien damals nicht zu Ende geführt werden.

Während der folgenden Jahre zeigten sich bei dem Tierbestand des Instituts öfters Eiterungsprozesse an verschiedenen Körperstellen, als deren Urheber dasselbe Bakterium nachgewiesen werden konnte.

Da sich eine durchgreifende Isolierung und Desinfektion damals nicht ermöglichen ließ, zudem die Unterkunftsräume der Tiere mangelhaft waren, so kam die erwähnte Erkrankung eigentlich nie ganz zum Erlöschen, wenn auch ein gehäuftes Auftreten nicht zu verzeichnen war.

Auch bei den letzterwähnten Fällen setzte das rasche Absterben der Kulturen jedesmal der genaueren Untersuchung ein Ziel.

Im Frühjahr 1908 ging nun wieder ein Kaninchen ein. Bei der Sektion fand ich die rechte Brusthöhle angefüllt mit einer zähen, gelblichweißen Eitermasse, auch die angrenzenden Lungenteile waren eitrig zerfallen. Sonst fand sich nichts Abnormes an dem Tiere, speziell nicht an den Luftwegen.

Aus dem Pleuraeiter und dem Herzblut habe ich einen Mikroorganismus isoliert, der wohl mit dem obenerwähnten identisch, jedoch bisher noch nicht beschrieben ist.

Es handelt sich um ein gramnegatives Stäbchen von verschiedener Größe und Form: Kleine, fast kokkenartige Gebilde (Fig. 2a), kurze, plumpe Stäbchen (Fig. 2b) mit abgerundeten Enden, schlanke, doppelt bis mehrfach so lange als breite Formen (Fig. 2c), sowie einzelne Fäden (Fig. 2i).

Neben gleichmäßig gefärbten Bakterien findet sich in jedem Gesichtsfelde eine nicht geringe Anzahl von ungleichmäßig gefärbten, die an einem Ende einen dunkelrot gefärbten Punkt oder Strich aufweisen, woran sich ein blaßrosa gefärbtes Gebilde von runder oder ovaler Form, oft ohne deutliche Umrisse, anschließt (Fig. 2d) (Färbung mit Karbolfuchsin).

Seltener erscheinen die beiden Pole dunkel, die Mitte aber blaß gefärbt (Fig. 2e), oder es ist das ganze Stäbchen — wohl weil im Absterben begriffen — nur schwach gefärbt (Fig. 2f).

Während die Mehrzahl der Bakterien einzeln liegt, sieht man hier und da Formen, die an Doppelkokken oder -stäbchen erinnern; zuweilen zeigt dann das eine Stäbchen einen blaßgefärbten Anhang. Hierbei handelt es sich offenbar um Teilungsformen (Fig. 2g).

Seltener findet man die Kurzstäbchen in Kettenform angeordnet (Fig. 2h), sowie längere Fäden, die in ihrem Innern ebenfalls blaßgefärbte Stellen aufweisen und oft mit einer ungefärbten, kugelförmigen Verdickung enden (Fig. 2i).

Verästelung wurde nie beobachtet.

Die kleineren Formen haben eine gewisse Aehnlichkeit mit den Erregern der Hühnercholera, während die größeren zuweilen an Rotzbakterien erinnern.

Vielleicht bestehen die blaßgefärbten Partien aus einer schleimigen Masse, wodurch sich auch die schleimige Beschaffenheit der Kolonien (s. unten), für die sich sonst keine Ursache findet, erklären ließe; denn eine Kapsel- und Zoogloabildung war nicht nachzuweisen.

Die Länge unseres Bakteriums schwankt, entsprechend seiner mannigfachen Form und Größe, von 0,2—1 μ ; die Fäden erreichen 20 μ und mehr.

Die erwähnte ungleichmäßige Färbung wurde regelmäßig beobachtet, und sie kann geradezu als differentialdiagnostisches Merkmal gelten.

Daß es sich bei den dunkelgefärbten Körperchen nicht um Babes-Ernstsche Körnchen handelt, geht aus dem negativen Ausfall der Neisserschen und Ljubinskischen Polfärbung hervor.

Eigenbewegung wurde trotz wiederholter Untersuchung nie beobachtet; dementsprechend auch keine Geißeln. Sporenbildung war nie nachzuweisen; auch sprechen die Untersuchungen über die Resistenz unseres Stäbchens verschiedenen äußeren Einflüssen gegenüber dafür, daß wir es mit einem wenig widerstandsfähigen Mikroorganismus ohne Dauerformen zu tun haben.

So sterben 24-stündige Kulturen bei 55—60° bereits in 5 Minuten ab. Bringt man mit Kulturaufschwemmung getränkte Seidenfäden in trockene, sterile Glasschälchen, so zeigt sich bei der Aussaat der Fäden auf Blutagar, daß die Bakterien bereits nach 3—4-stündigem Austrocknen bei Zimmer- oder Bruttemperatur tot sind.

Ueber Chlorcalcium getrocknet und aufbewahrt, behalten die Bakterien ihre Lebensfähigkeit 3—4 Tage.

Daß sie Austrocknung schlecht vertragen, zeigt auch ihr Verhalten zu den einzelnen Nährböden und die Lebensdauer auf diesen: Am längsten bleiben die Kulturen am Leben auf den flüssigen Nährböden, Milch (6—7 Wochen) und Bouillon (5—7 Wochen); am ehesten büßen sie ihre Lebensfähigkeit ein auf den oberflächlich bald austrocknenden Nährböden, Agar, Blutagar (18—20 Tage) und Kartoffeln (10 Tage). Dabei verblieben die Kulturen dauernd bei 37°.

Die auffallend lange Lebensdauer — bis zu 6 Wochen — im Gelatine-stich hängt offenbar damit zusammen, daß die Bakterien hier infolge ihrer geschützten Lage im Innern der Gelatinemasse der Austrocknung weniger ausgesetzt sind.

Es scheint, als ob schon wenig unter 20° liegende Temperaturen unser Bakterium schädigen; denn läßt man eine dicht besäte Blutagarplatte bei 15° stehen, so ist selbst nach 5—6 Tagen kein Wachstum zu bemerken. Bringt man jetzt die Platte in den Brutschrank, so entwickeln sich nur einige Kolonien. Daß hier Austrocknung das Absterben bewirkt habe, ist nicht anzunehmen. Bei 22° entwickeln sich erst nach einigen Tagen ganz kleine Kolonien.

Als Nährboden eignet sich am besten Blutagar. Er enthielt etwa 10 Proz. Ziegenblut. Nach 14—20 Stunden erscheinen tautropfenartige Kolonien von schleimiger Beschaffenheit, mit der Neigung zu konfluieren. Die Einzelkolonie ist kreisrund und flach gewölbt. Durch Zusammenfließen mehrerer Kolonien entstehen unregelmäßige Figuren.

Später werden die Kolonien grauweiß. Nach 4—5-tägigem Aufenthalt bei 37° zeigt sich unter den Kolonien eine geringe hämolytische Aufhellung.

An den Kulturen, besonders auf Blutagar, fiel ein eigentümlicher, spermaartiger Geruch auf.

Auf der Agarplatte erscheinen nach 24 Stunden ebenfalls runde, schleimige, weißliche, in der Durchsicht bräunliche Kolonien, auch mit der Neigung zu konfluieren, indes nicht so üppig wie auf Blutagar; nur an den Stellen, wo das Kulturmaterial dick aufgetragen ist, entwickeln sich Kolonien. Diese sind bei schwacher Vergrößerung so durchsichtig, daß sie sich nur bei ganz starker Abblendung von der Umgebung abheben.

Von der etwas dunkler gefärbten Mitte der Kolonie ziehen unregelmäßige, gekörnte Streifen nach dem Rande. Die bräunliche Färbung nimmt bei größeren Kolonien nach der Peripherie hin ab.

Tiefliegende Kolonien sind wetzsteinförmig und ebenfalls bräunlich gefärbt.

Das Wachstum in der Agarstichkultur hat nichts Besonderes; in Verteilungskulturen ist es auf die oberen zwei Drittel beschränkt, wobei die Kolonien mit der Annäherung an die Oberfläche größer und zahlreicher werden.

Auf schräg erstarrtem Agar gedeiht unser Stäbchen, wohl wegen des größeren Feuchtigkeitsgehaltes, ganz leidlich, am üppigsten in der Nähe des Kondenswassers, in das die Kulturrasen allmählich hinabrutschen. Hier entsteht dann eine schleimige, fadenziehende Masse. Im oberen Teil des Röhrchens trocknen die Kolonien bald ein und sind dann nur noch schwer von ihrem Substrat zu entfernen.

Wohl wegen der leichteren Austrocknung und niedrigeren Temperatur gelang mir die Züchtung auf der Gelatineplatte nie, und auf schräg erstarrter Gelatine nur ganz selten. Dagegen wurde in der Stichkultur mehrfach ein schwaches Wachstum beobachtet, ohne daß es zu einer Verflüssigung der Gelatine kam.

Auf Kartoffeln behalten unsere Stäbchen wohl bei Bruttemperatur 10 Tage lang ihre Lebensfähigkeit; indes kommt es weder zu einer erkennbaren Auflagerung noch zu einer Verfärbung, wodurch es sich wesentlich unterscheidet von den von Kraus, Tartakowski, Schwer und Südmersen beschriebenen Erregern, für die ein gutes braunes, gelbliches oder grünliches Kartoffelwachstum charakteristisch ist (vgl. die Uebersicht).

Uebersicht über die durch gramnegative Stäbchen hervorgerufenen

Autor	Beweglichkeit	Färbung	Sporen	Bouillonkultur	Gelatinekultur		Milchkultur	Kartoffelwachstum
					Verflüssigung	Wachstum		
Beck, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 15	0	Gram —	0	n. 48 Std. Trübung, später Bodensatz	0	n. 48 Std. +		0
Kraus, Centralblatt f. Bakt. Bd. 24	lebhaft	Gram — zuweilen Polkörner	0	n. 24 Std. Trübung, später Bodensatz		n. 48 Std. +		gelbbrauner Rasen
Eberth und Mandry, Fortschritte d. Med. 1900		Gram — zuweilen Polfärbung		„Die Kultur hat die größte Aehnlichkeit mit der			Koagulation +	
Tartakowski, Centralblatt f. Bakt. Bd. 25	0	Gram —	0	n. 24 Std. Trübung	0	n. 4 bis 5 Tagen +		bräunlich-gelber Belag
Volk, Centralblatt f. Bakt. Bd. 31	0	Gram —	0	n. 24 Std. Trübung, später Bodensatz u. Oberflächenhaut	0	bürstenartig		0
Schwer, Centralbl. f. Bakt. Bd. 33	0	Gram — zuweilen Polfärbung	0	n. 24 Std. Trübung, n. 10 Tagen Klärung	0	leidlich		starker gelbgrüner Belag
Südmersen, Centralblatt f. Bakt. Bd. 38	lebhaft	Gram —	0	Trübung, später Bodensatz	0			gelbrotes Wachstum
Bac. A								
Bac. B	lebhaft	Gram —		n. 24 Std. Trübung, später Bodensatz	+		Peptonisierung	gelblich-braunes Wachstum
Bac. C		Gram —		keine Trübung, später Bodensatz		schlecht	kein Wachstum	0
Bac. D	+	Gram —			0		Koagulation +	braungelbes Wachstum
Bac. E	0	Gram —		n. 24 Std. Trübung	0			geringes gelbliches Wachstum
Bac. F	0	Gram —			0		Koagulation +	schokoladenbrauner Rasen
Selter, Centralblatt f. Bakt. Bd. 41	0	Gram —		leichte Trübung	0			0
Unser Bakterium	0	Gram — Polfärbung, lückenh. Färbung	0	n. 24 Std. diffuse Trübung, später Bodensatz	0	Platte: 0 Strich: sehr kümmerlich, Stich: gering	gutes Wachstum, keine Koagulation	0

Erkrankungen der Kaninchen und Meerschweinchen¹⁾.

Bildung von			Sektionsbefund	Pathogenität für				
Säure	Gas	Indol		Kaninchen	Meerschweinchen	Mäuse	Tauben	Huhn
0	0		Rhinitis, Pleuritis, Pneumonie	intrapleural + intravenös + intraperiton. 0	intrapleural +	intra- peritoneal +		
0	0	0	Rhinitis purulenta		intrapleural + intratracheal +			
von Hühnercholera“				meist lokale Erkrankung; selten Septikämie		Septikämie		absolut refraktär
		0	Pneumonia u. Pleuritis purulenta	subkutan + intrapleural + intraperitoneal +		refraktär		
0		0	Rhinitis, Pleuritis fibr., akuter Miltumor	+	gering	sehr gering		
gering	0	0	Peritonitis fibr.- purulenta, Leberabscesse	intravenös +	intra- peritoneal +	ähnlich wie für Meerschw.		
0	0	0	Rhinitis, Pneumonie, Pleuritis, Peritonitis					
	+	0	wie Bac. A.	intratracheal +	intra- peritoneal 0			
		n. 10 Tg. +						
	+	+						
0	0	0						
	+	+						
0	0	0	Rhinitis purulenta, Pleuritis, Pneumonie	intraperitoneal = Septikämie	refraktär	ähnl. wie für Kaninchen		
0	0	vom 10. Tage ab +	Eiterungen, Pleuritis, Peritonitis	intraperitoneal + intrapleural + subkutan + (intravenös +)		intra- peritoneal +	refraktär	refraktär

In Milch findet trotz Vermehrung der Stäbchen eine Säurebildung und Gerinnung nicht statt.

In Bouillon bewirkt unser Bakterium nach 24 Stunden eine diffuse Trübung; nach 48 Stunden zeigen sich krümelige Flocken, welche zunächst in der Flüssigkeit flottieren, dann aber zu Boden fallen und hier vom 3.—4. Tage ab einen Bodensatz bilden. Dieser besteht aus einer schleimigen, fadenziehenden Masse, die am Rande fadenartige Ausläufer zeigt. Die überstehende Flüssigkeit wird nun wieder klar und nimmt mit der Zeit einen gelbbraunlichen Farbenton an. Ein Oberflächenhäutchen bildet sich nicht.

Auch auf kohlehydrathaltigen Nährböden — geprüft wurden Lackmusagarplatten mit je 1 Proz. Arabinose, Adonit, Dextrin, Dextrose, Dulcit, Erythrit, Galaktose, Isodulcit, Maltose, Mannit, Mannose, Raffinose und Saccharose — vermag unser Stäbchen keine Säure zu bilden.

Ebensowenig findet aus Traubenzucker Gasentwicklung statt; jedoch läßt sich in Bouillonkulturen, etwa vom 10. Tage ab, schwache Indolbildung nachweisen.

Zur Prüfung der Pathogenität versuchte ich zunächst Kaninchen zu infizieren.

Spritzt man Kaninchen 1—2 ccm einer Bakterienaufschwemmung, die durch Abspülen einer 24-stündigen Agarschräggkultur mit 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung gewonnen war, in die Bauchhöhle, so gehen die Tiere regelmäßig, meist unter stetiger Abnahme des Körpergewichts, zugrunde. Man findet dann eine fibrinös-eitrig Peritonitis. Die übrigen Organe zeigen nichts Krankhaftes. Ausstrichpräparat und Kultur aus dem Exsudat ergeben stets eine Reinkultur unseres Bakteriums. Auch läßt sich in fast allen derartigen Fällen das Stäbchen aus dem Herzblut züchten.

Während die Injektion von 0,5 ccm der Aufschwemmung in die Pleurahöhle ohne Wirkung blieb, ging ein anderes Kaninchen nach Einspritzung von 0,75 ccm nach 14 Tagen ein. Hierbei zeigte sich die Pleurahöhle von einer zähen, eitrig Masse erfüllt; auch war die Lunge teilweise eitrig zerfallen. In der Bauchhöhle fand sich leicht getrübbtes Exsudat mit einigen eitrig Fibrinflöckchen. Aus allen diesen erkrankten Teilen ließ sich unser Stäbchen in Reinkultur züchten.

Spritzt man Kaninchen Bakterienmaterial unter die Ohrhaut, so entwickelt sich daselbst nach 1—3 Tagen ein Absceß oder eine Phlegmone, verbunden mit starker Schwellung und Rötung des ganzen Ohres, so daß die Tiere dieses herabhängen lassen. Entweder bilden sich nach einigen Tagen die Eiterungen zurück, und das Ohr wird wieder aufrecht getragen, oder sie schreiten auf das angrenzende Zellgewebe bis in die Brust- und Bauchgegend weiter.

Bei den seinerzeit von Herrn Geheimrat B. Fischer ausgeführten Impfungen der Kaninchen am Ohr trat unter 8 Fällen 7mal der Tod nach 4—8 Tagen ein. Bei einem Tier bestand Peritonitis und in den fibrinös-eitrig Auflagerungen fand sich unser Bakterium, das auch bei 4 Tieren aus dem Herzblut zu züchten war.

Impft man Kaninchen unter die Bauchhaut, so entsteht nach 2—4 Tagen an der Impfstelle ein Absceß oder eine Phlegmone. Bei nicht rechtzeitiger Inzision gehen die Tiere nach einer bis mehreren Wochen zugrunde. Es fanden sich hier nie Veränderungen an inneren Organen.

Während Fischer nach intravenöser Injektion in 3 von 4 Fällen den Tod der Kaninchen eintreten sah, auch dabei einmal Peritonitis fand, blieb in meinen Versuchen die Injektion von 1—1,5 ccm der Aufschwemmung regelmäßig ohne Folgen.

Ein Kaninchen, dem 2 ccm Bakterienaufschwemmung in die Nasenlöcher gespritzt worden waren, nahm beständig an Gewicht ab, zeigte jedoch keinerlei Krankheitserscheinungen von seiten der Nase, wie dies von anderen Kaninchenkrankheiten beschrieben ist. Nach 4 Wochen ging das Tier ein und bei der Sektion zeigte sich eine, offenbar auf Aspiration der Bakterien zu beziehende, eitrig Bronchopneumonie, bei der man das Uebergreifen des Krankheitsprozesses von den größeren auf die kleineren Bronchien sehr schön sehen konnte; die Pleura zeigte keine Veränderungen.

Schließlich scheint der Erreger auch mit dem Futter aufgenommen, zu Erkrankung und Tod der Kaninchen führen zu können; wenigstens ging ein solches, das mit Bakterienaufschwemmung getränktes Brot zu fressen bekommen hatte, nach 12 Tagen ein. Es fand sich eine eitrig Pleuritis und Peritonitis, und in dem Exsudat eine Reinkultur unserer Stäbchen.

Impfungen in die Cornea und vordere Augenkammer führten zu keiner Erkrankung.

Bringt man Meerschweinchen Bakterienaufschwemmung oder eine Eiterflocke in die Bauchhöhle, so gehen die Tiere fast regelmäßig (in 19 von 21 Fällen) nach 1—8 Tagen ein, und zwar an einer fibrinös-eitrigen Peritonitis. Bei den zwei am Leben gebliebenen Tieren war nur $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{50}$ Oese der Kultur injiziert.

Wiederholt wurden auch hier die Bakterien aus dem Herzblut gezüchtet.

Die subkutane Injektion von Bakterienmaterial führte, ähnlich wie beim Kaninchen, zur Bildung von Abscessen und Phlegmonen, die an verschiedenen Körperstellen Metastasen machen können; doch führen diese Erkrankungen nur dann zum Tode, wenn sich an sie, was hier oft der Fall ist, eine Peritonitis anschließt (in 6 von 9 Fällen). Nach Inzision oder Durchbruch des Eiters erfolgt stets Heilung.

Brachte ich Meerschweinchen durch Herzstich Bakterien in die Blutbahn, so gingen sie meist nach 1—2 Tagen ein. Doch war es schwer, zu entscheiden, ob der Tod der Infektion, der Herzverletzung oder Embolie zuzuschreiben war. Nach Injektion kleiner Mengen ($\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{50}$ Oese) blieben die Tiere gesund.

Bei der Verfütterung bakterienhaltigen Materials an 3 Meerschweinchen ging eines nach 5 Tagen mit eitrig Pleuritis und Pericarditis zugrunde.

Einreibung von Eiter in die rasierte Haut sowie Impfung in Cornea und vordere Kammer verursachten auch hier keine Erkrankung.

Nach Abschluß dieser Untersuchungen fand ich bei einem spontan erkrankten und eingegangenen weiblichen Meerschweinchen ausgedehnte eitrig Peritonitis sowie fadenziehende Eitermassen im Uterus; an den übrigen Organen nichts Krankhaftes.

Aus dem Eiter des Peritoneums, des Uterus, aus Vagina, Lunge und Herz wurde ein mikroskopisch und kulturell von unserem Bakterium nicht zu unterscheidendes Kurzstäbchen isoliert. Es handelte sich in

diesem Falle offenbar um eine von den Genitalien ausgegangene Infektion.

Weiße und graue Mäuse gingen nach Einbringen von $\frac{1}{2}$ —1 Oese Agarkultur in die Bauchhöhle nach 4 Tagen (bezw. 24 Stunden) an fibrinös-eitriger Peritonitis ein. Aus Eiter und Herzblut wurde unser Stäbchen gezüchtet.

Durch subkutane Impfung konnte ich bei Mäusen keine Krankheitserscheinungen hervorrufen, auch nicht durch Fütterung mit keimhaltigem Material.

Tauben konnte ich weder durch subkutane noch intravenöse Impfung infizieren, obwohl ich mehrmals 2 ccm Bakterienemulsion einspritzte. Durch dieses Verhalten zur Taube unterscheidet sich unser Stäbchen unter anderem von dem Eberth-Mandryschen Bakterium, das bei Tauben eine Septikämie erzeugt.

Ein Kanarienvogel, dem $\frac{1}{2}$ Oese Kultur unter die Flügelhaut gebracht wurde (Geheimrat Fischer), ging nach 24 Stunden ein. Herzblutaussaat ergab eine Reinkultur unserer Stäbchen.

Zwei junge Katzen und ein junges Huhn blieben trotz Injektion größerer Bakterienmengen gesund (Geheimrat Fischer).

Es gelang nicht, Toxine irgendwelcher Art aus den Bakterienleibern zu gewinnen; selbst größere Mengen durch Chloroform und Hitze abgetöteter Bakterien sowie keimfreier Kulturfiltrate blieben bei Verimpfung auf Tiere ohne Wirkung.

Wie kommen nun die Spontaninfektionen bei Kaninchen zustande; gelangt das Bakterium von der Umgebung des Tieres in den Körper oder erfolgt die Uebertragung von Tier auf Tier (durch Ansteckung)?

Alle Versuche, den betreffenden Erreger in der Umgebung oder an der äußeren Oberfläche der Tiere sowie im Futter nachzuweisen, schlugen fehl; das war ja auch von vornherein unwahrscheinlich, da ja nach unseren Untersuchungen das Bakterium nur kurze Zeit Trockenheit und niedere Temperatur ertragen kann.

Dagegen fand ich im Mund- und Rachenschleim zweier Kaninchen ein morphologisch, kulturell sowie durch Tierversuch am Meerschweinchen von dem geschilderten nicht zu unterscheidendes Stäbchen.

Falls es sich bei den Tieren, bei denen der Erreger aus Mund- und Rachenschleim gezüchtet wurde, nicht etwa um Dauerausscheider bezw. Bacillenträger gehandelt hat, wird man annehmen dürfen, daß unsere Stäbchen, ähnlich wie Strepto- und Pneumokokken, im Munde des Gesunden sich für gewöhnlich als Saprophyten finden und daß sie erst, nachdem eine Schädigung das Tier getroffen hat, in den Körper einzudringen vermögen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Fischer für die Anregung und das Interesse an der Arbeit, Herrn Privatdozenten Dr. R. Müller für manchen guten Wink zu danken.

Literatur.

- 1) Beck, Der Bacillus der Brustseuche beim Kaninchen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 15. p. 93.)
- 2) Byloff, Eine pestähnliche Erkrankung der Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. Bd. 41/42.)

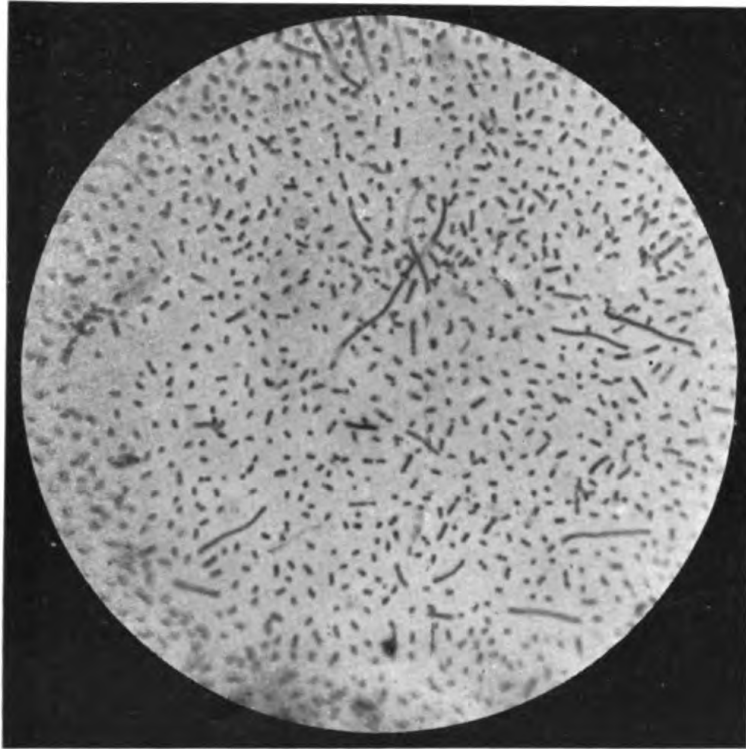


Fig. 1. Ausstrich einer 24-stündigen Agarreinkultur.

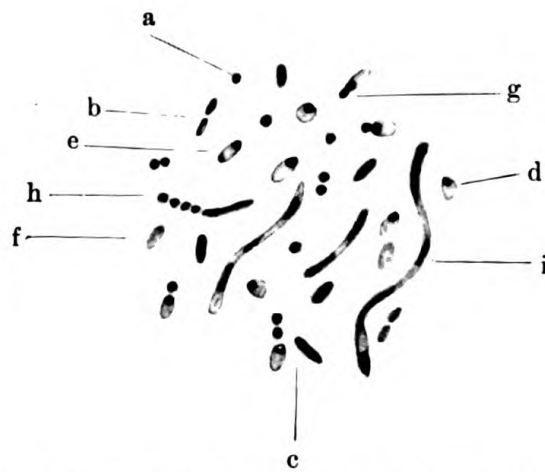


Fig. 2. Die einzelnen Formen (schematisch).

- 3) Eberth u. Mandry, Spontane Kaninchenseptikämie. (Fortschr. d. Med. Bd. 8. p. 14.)
 - 4) Kraus, R., Der Erreger einer influenzaartigen Kaninchenseuche. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24.)
 - 5) Schwer, Ueber einen neuen, Stallinfektion verursachenden Mikroorganismus. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903.)
 - 6) Selter, Ueber eine durch schweineseucheähnliche Bacillen hervorgerufene Lungen-erkrankung beim Kaninchen. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.)
 - 7) Südmersen, On an infectious pneumonia of rabbits and its treatment with anti-serum. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905.)
 - 8) Tartakowski, Die kontagiöse Pneumonie der Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 25. 1899.)
 - 9) Volk, Der Erreger einer Kaninchenseuche. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 31.)
- S. ferner die Literatur über Kaninchenseptikämie, Hühnercholera etc.

Nachdruck verboten.

Ein praktisches Verfahren für experimentelle Uebertragungen anaërober Keime.

[Aus dem Institut für Hygiene der Kgl. Universität Parma
(Leiter: Prof. E. Bertarelli).]

Von Dr. A. Tedeschi, Assistenten.

Mit 4 Textfiguren.

Das in den letzten Jahren, namentlich vom Standpunkte der Biochemie des Darmes aus, stets wachsendes Interesse gewinnende Studium der anaëroben Keime bietet immer mancherlei Schwierigkeiten dar, unter denen die komplizierte Technik der bisher in den Laboratorien angewandten Kulturmethode nicht die geringste ist, indem sie diese letzteren nicht vollkommen zweckentsprechend macht.

Die Methoden, welche die Luft durch träge Gase ersetzen (Pensosches Wasserstoffverfahren usw.), das Einführen der Kulturen in reduzierende Stoffe enthaltende Gefäße (Buchnersches Verfahren — Pyrogallussäure und Natrium- bzw. Kaliumoxydhydrat u. dergl.) liefern allerdings gute Resultate, erfordern aber eine ziemlich langwierige Vorbereitung und haben den Uebelstand, daß man hierzu flüssige bzw. feste Nährböden stets in äußerst dünnen Schichten verwenden muß.

Bekannt ist die wichtige Modifikation Tarozzis, bestehend in der Einführung reduzierender Stoffe, wobei als solche Stücke von Leber, Milz oder anderweitigen Organen benutzt werden. Tarozzi entnimmt — aseptisch — den Tieren (Kaninchen) Stücke dieser Organe, und bringt dieselben in sterile Bouillon, wo er dann die Kulturen aërobiotisch herstellt.

Unter den Uebelständen dieses Verfahrens ist zunächst der hervorzuheben, daß sich hierbei häufig Kulturen nur auf flüssigen Substraten erzielen lassen, und zweitens, daß solche Kulturen häufig trüb ausfallen und das Aussehen von Organemulsionen annehmen, was die Untersuchung zu einer schwierigen gestaltet und die Deutlichkeit der mikroskopischen Präparate in starkem Maße schädigt.

Von den vielen Modifikationen, die Tarozzis Methode erfahren hat, ist die von Bandini, der die nämlichen Substanzen (Leber, Milz),

aber gepulvert und sterilisiert, benutzte und dadurch eine leichtere Handhabung des Verfahrens ermöglichte — eine praktisch wichtige zu nennen.

Tarrozzi's Verfahren, Bandini's Modifikationen u. dergl. liefern trotz der obenerwähnten Uebelstände wohl zwar für Transplantationen ziemlich günstige Resultate, sind jedoch für Isolierungen ganz unbrauchbar.

Marino gibt für die Isolierung der Anaëroben ein Verfahren an, das ich für sehr praktisch halte, so daß ich dasselbe verwertet habe, um das in vorliegender kurzer Mitteilung Besprochene zu studieren. Marino benutzt als Kulturboden Blutserum, unter Zusatz von 0,50 Proz. Traubenzucker (wegen der reduzierenden Wirkung dieses letzteren).

Dazu gebraucht er große Reagensgläser, in welche 30—35 ccm Nährboden eingeführt werden; darauf wird sterilisiert.

Das Material wird dann im Wasserbad aufgelöst und hierauf in den Thermostaten auf 42° gebracht. Die Gläser werden ungefähr eine halbe Stunde lang bei dieser Temperatur gelassen; hierauf wird gesät, indem man das zu untersuchende infizierende Material vermittelt einer Oese oder einer Pipette einführt.

Sollen Isolierungen bewerkstelligt werden, so wird das Material so stark als nur möglich verdünnt und hierauf Uebertragungen aus dem ersten geimpften Reagensglas in ein zweites, aus diesem in ein drittes und mitunter auch in ein viertes vorgenommen.

Der Inhalt eines jeden einzelnen Glases wird sodann in den umgekehrten Deckel einer sterilen Petri-Schale gegossen. Das jetzt schon 42° — oder noch weniger — besitzende Material wird bei Berührung mit dem Glase sehr schnell fest. Sofort wird nun die freie Oberfläche des festgewordenen Serums mit der gleichfalls umgestürzten Petri-Schale zugedeckt. Dadurch wird die Materialschicht zwischen zwei Glasflächen schwach zusammengedrückt; besonders der mittlere Teil wird infolgedessen keinen Sauerstoff enthalten und für diesen letzteren auch sonst schwer zugänglich sein.

Dieses Verfahren ist ein sehr einfaches und zweckentsprechendes; nur haften an demselben manche, durch die Flächenunebenheiten der Petri-Schalen bedingte Uebelstände; solche Unebenheiten gestatten es nämlich, daß etwas Sauerstoff mit dem Serum in Berührung bleibt, wodurch die Entwicklung der Anaëroben gestört wird.

In einer Arbeit über die Anaëroben des Darmes weist Lotti auf dieses Verfahren hin, das er mit günstigem Erfolge angewandt hat.

Marinos Methode eignet sich für Isolierungen, kann aber auch für gewöhnliche experimentelle Uebertragungen benutzt werden, bei denen in der Regel Buchners Kulturen bzw. Tarozzi's Verfahren und dessen Modifikationen, mitunter auch Agarstichkulturen, mit einer dicken Vaselineöl- bzw. Agarschicht überlagert, verwendet werden.

Diese so einfache, bequeme Anordnung gibt jedoch häufig Anlaß zu Infizierungen der oberen Agarschicht.

Da ich nun Gelegenheit gehabt habe, eine Anzahl Anaëroben systematisch zu kultivieren, so habe ich die an all diesen Methoden haftenden Mängel kennen gelernt und mich dabei überzeugen können, daß gerade die allereinfachste, für Anaërobenübertragungen am besten geeignete Methode allgemein beiseite gelassen wird. Ihre Grundzüge finden sich zwar in allen Lehrbüchern angegeben, ihre Anwendung aber ist nur stets

eine nebensächliche gewesen und vielleicht nicht in hinreichendem Maße gewürdigt worden.

Wie bereits erwähnt, wurde ich zum Studium dieser Methode durch Marinos Verfahren, und zwar durch den ersten Teil desselben angeregt.

Marino pflegt zu den Impfungen für Isolierungen große Glasröhren mit viel Nährmaterial zu benutzen; ich dagegen bediene mich hierzu gewöhnlicher Reagensgläser mit ungefähr je 10—12 ccm Nährmaterial.

Als Kulturboden wurde gewöhnlicher Agar verwendet, ohne irgendwelchen Zusatz.

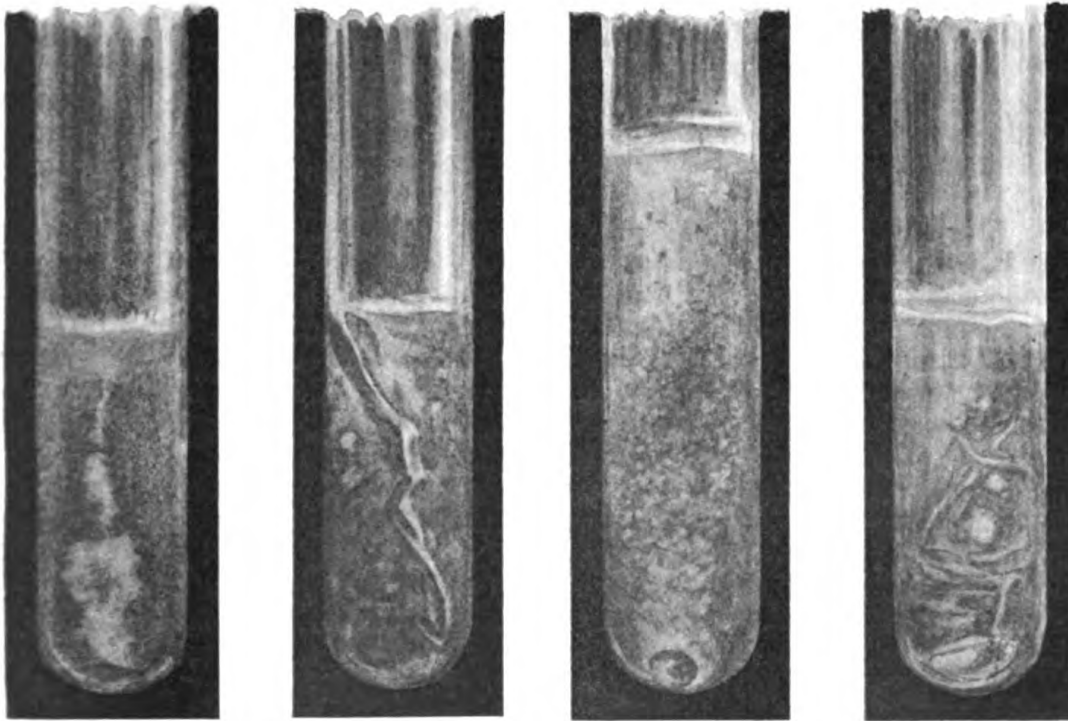


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1. Agarkultur von *B. botulinus*.

Fig. 2. Agarkultur von *B. Chauvaci*.

Fig. 3. Agarkultur von *B. maligni oedematis*.

Fig. 4. Agarkultur von *B. tetani*.

Ich habe den Agar in geschmolzenem Zustande durch eine halbe Stunde bei 42° gehalten und hierauf die Uebertragungen ausgeführt.

Zu diesem Zwecke habe ich mich einer großen Platinöse bedient, mit derselben das infizierende Material bis auf den Boden des Glases gebracht und wie bei einer gewöhnlichen Bouillonkultur umgerührt. Nach vollzogener Impfung wird der Agar rasch abgekühlt, derselbe wird so gleich fest und vertreibt hierbei jede Spur von Sauerstoff.

Auf diese Weise bekam ich ziemlich gute Kulturen, häufig aber zeigte das geimpfte Material das Bestreben, an die Oberfläche zu steigen, und ziemlich oft kam es in Berührung mit dem Sauerstoff, wodurch das Gedeihen des geimpften anaëroben Keimes vereitelt wurde.

Um nun die Impfung auf den Boden des Glases — d. i. auf die vom Sauerstoff am weitesten gelegene Stelle — zu lokalisieren, benutzte ich kleine, 2 mm dicke, gewöhnlich zu Untersuchungen von Antiseptiken verwendete Glasperlen.

Dieselben wurden zuerst — um ein Daranhaften von Luft zu verhüten — mit keimfreier Bouillon benetzt, hierauf mit dem zu übertragenden Keim infiziert und schließlich in Agar bei 42° gebracht. Die Glasperlen sinken vermöge ihrer Schwere zu Boden, wobei sie das Impfungsmaterial mitreißen.

Auch hier werden die Kulturen zu raschem Abkühlen und sodann in den Thermostaten gebracht. Nach Verlauf von 36 Stunden — oder noch länger — kommt es allmählich zur Bildung eines aus Kolonien bestehenden Hofes, der dann immer größer wird, bis er schließlich auch die darüberliegende Agarpartie einnimmt.

Ich habe das Verfahren bei den echten Anaëroben, wie bösartiges Oedem und Tetanus, sowie bei symptomatischem Milzbrand und Botulinus zur Anwendung gebracht und dabei vorzügliche Resultate erzielt (Fig. 1, 2, 3, 4).

Um Infizierungen, namentlich durch Schimmelpilze, vorzubeugen, wird es nötig, die Gläser möglichst schräg zu halten. Die kleinen Perlen lassen sich durch etwa halbstündiges Austrocknen bei 180° sehr leicht sterilisieren und mit Hilfe einer ziemlich starken anatomischen Pinzette recht gut handhaben. Mit diesem Verfahren gelingen die Serumimpfungen in vortrefflicher sicherer Weise und in reichlicher Menge, ohne daß man dieselben zu manipulieren und zu den Kulturen hinzuzusetzen braucht und dabei Gefahr läuft, sie zu infizieren.

Mit Rücksicht auf die von mir mit obenerwähnten Keimen erzielten Resultate habe ich es nicht für unzweckmäßig gehalten, auf ein Verfahren aufmerksam zu machen, das, wenn auch wenig bekannt und gewiß wenig beachtet, meiner Ueberzeugung nach wegen seiner Einfachheit und Sicherheit sich besser als jedes andere für gewöhnliche experimentelle Uebertragungen von anaëroben Keimen eignen dürfte.

Nachdruck verboten.

Nachweis des Soorpilzes in diphtherieverdächtigen Rachenabstrichen.

Besonderes Wachstum eines Soorstammes.

[Aus dem Hygienischen Institute in Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von Dr. Heidsieck,

früherem Assistenten am Untersuchungsamte für ansteckende Krankheiten in Kiel.

Mit 1 Tafel.

Bei der Untersuchung des diphtherieverdächtigen Materials im Untersuchungsamt des Hygienischen Institutes in Kiel wurden in einer Reihe von Fällen Sproßpilze gefunden, die man ihrem mikroskopischen Verhalten nach als Soorpilze ansprechen mußte, und die sich auch bei näherer Prüfung unzweifelhaft als solche erwiesen. Bei 300 Untersuchungen gelang es, diese Pilze in 13 Fällen zu isolieren; zwar kamen

sie noch häufiger vor, konnten aber wegen der sie in den Kulturen überwuchernden Bakterien nicht immer isoliert werden. Von dem Vorhandensein von Diphtheriebacillen schien ihr Vorkommen nicht abhängig zu sein, denn sie wurden sowohl mit diesen als auch ohne diese angetroffen. Sie fielen manchmal schon im direkten, nach Gram gefärbten Ausstrichpräparat durch ihre dunkelblaue Farbe, ihre Größe und ihre mannigfachen Formen auf. Neben einzelnen runden oder ovalen Zellen konnten oft ganze Sproßverbände und lange Fäden beobachtet werden. Aber nicht nur in den Rachenabstrichen kranker Personen, sondern auch bei Gesunden konnten diese Pilze in zwei Fällen nachgewiesen werden. In einem Falle, wo Verdacht auf Diphtherie bestand, ergab die Aussaat eine Reinkultur von Soor, andere Mikroorganismen konnten nicht gezüchtet werden. Vielleicht handelte es sich hier um einen Fall, wie er von Stooss und einem französischen Autor beschrieben ist, der in den Membranen einer Angina Soor in Reinkultur fand. Leider ist es unterlassen worden, in unserem Falle nähere Erkundigungen über den Patienten einzuziehen. Auch von anderen sind in den diphtherischen Belägen Sproßpilze beobachtet und als Soorerreger beschrieben, z. B. von Stöcklin; jedoch vermißt man in diesen Fällen den Nachweis, daß es sich bei diesen Sproßpilzen wirklich um Soor handelte. Da manche Saccharomyceten ein dem Soor ganz ähnliches Aussehen zeigen können, so erschien eine nähere Prüfung unerlässlich. Diese ergab, daß unsere aus den Anginen gezüchteten Sproßpilze in der Tat Soorerreger sind. Die isolierten 13 Stämme, die sich untereinander völlig gleich verhielten, wurden einerseits mit drei älteren Soorstämmen aus der Sammlung und zwei frisch von klinischen Soorfällen isolierten Stämmen, andererseits mit *Saccharomyces vini* und *ellipsoideus* verglichen.

In den Kulturen, die von den diphtherieverdächtigen Abstrichen auf Loeffler-Serum angelegt wurden, traten die Soorkolonien nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank als stecknadelkopfgroße kuppelförmige Hervorragungen von mattweißem Glanze hervor und konnten so schon von anderen Kolonien unterschieden werden. Fortgezüchtet wurden alle Stämme als Strichkultur auf Bierwürzgelatine, auf der sie bei Zimmertemperatur langsames Wachstum zeigten. Die Kulturen hatten ein weißes rahmartiges Aussehen. In den ersten 10 Tagen lag die Kultur dick dem Nährboden auf, dann sank sie ein, und bei beginnender Verflüssigung der Gelatine rutschte die Kultur auf den Boden des Röhrchens. Im Verlaufe von 3 Wochen war bei allen Stämmen die Gelatine vollständig verflüssigt. Der von Prof. Fischer 1894 beschriebene nicht verflüssigende Soorpilz wurde aus den Tonsillenbelägen nicht gezüchtet. In den Strichkulturen ließen sich Soor, *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* makroskopisch nicht unterscheiden, wohl aber, wenn man auf Bierwürzgelatine Plattenkulturen anlegte. Hier bildeten *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* körnige runde, geschlossene Kolonien, von denen die tieferen eine helle Randzone aufwiesen. Fadenförmige Ausläufer konnten nie wahrgenommen werden. Anders war das Verhalten von Soor, denn sämtliche von mir aus den Anginen gezüchteten sowie die zwei frisch aus klinischen Soorfällen isolierten und die drei älteren Stämme aus der Sammlung zeigten in diesen Kulturen ein unter sich völlig gleiches typisches Verhalten. Da das Wachstum von Soor in der Literatur, soweit sie mir zu Gebote stand, nicht eingehender beschrieben ist, so

ist es vielleicht angebracht, hier etwas näher darauf einzugehen. Die Kolonien in den Bierwürzegelatine-Schälchenkulturen waren bei schwacher Vergrößerung zunächst rund, scharf begrenzt und von bräunlicher Farbe. Nach einigen Tagen zeigten sie feine fadenförmige Ausläufer, die bald anfangen zu sprossen und so in bestimmten Abständen Häufchen von Sproßzellen zu bilden, die peripherwärts kleiner wurden und durch deren Mitte der Faden ging. Die Ausläufer gingen nicht immer in gerader radiärer Richtung von der Kolonie aus, sondern verliefen oft in einem nach der Kolonie hin offenen Bogen, umgaben diese zuweilen selbst wie ein Kranz. Es hatte den Anschein, als ob die der Kolonie abgewandte Seite des Fadens stärker gewachsen wäre und so die Biegung nach der Kolonie zu hervorgerufen wäre. Oft gingen die Fäden in der Richtung der Tangente ab und bildeten namentlich in älteren Kulturen seitliche Verzweigungen, an denen wieder Sproßzellhäufchen auftraten. Bei 7-tägigen Kulturen hatten diese Ausläufer oft schon eine beträchtliche Länge. Ihre Zahl war bei den einzelnen Kolonien derselben Kultur verschieden. Manche zeigten nur 3 oder 4 von diesen Gebilden, andere wiesen sie wieder sehr zahlreich auf. Einzelne Kolonien filamentierten schon sehr frühzeitig, andere erst nach Verlauf mehrerer Tage.

Eine gewisse Aehnlichkeit hatten diese mit Häufchen besetzten Fäden mit den Ausläufern von *Dematium pullulans*, von denen Prof. Fischer und Dr. Brebeck in ihrer Arbeit ein Photogramm bringen. Auch bei einem kahmhautbildenden Pilz, *Endoblastoderma liquefaciens* aus Meerwasser gezüchtet, sind ebenfalls von Fischer und Brebeck mycelähnliche Ausläufer beschrieben und abgebildet. Abgesehen davon, daß an diesen verzweigten Ausläufern die Häufchen fehlen, und die Kahmpilze schon durch ihre frühzeitige Hautbildung auf Bierwürze leicht von den Saccharomyceten zu unterscheiden sind, so dürfte es hier wohl nicht zu Verwechslungen kommen, und die eben beschriebenen typischen, mit Sproßzellhäufchen besetzten Ausläufer dürften nach den gemachten Erfahrungen wohl zweckmäßig zur Unterscheidung des Soors von *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* herangezogen werden.

In Bierwürze war das Wachstum aller Soorstämme bei Zimmer-temperatur schwach und die Gärung gering, während sie im Brüttschrank lebhafter war, jedoch nicht so stark wie bei der Bierhefe. Kahmhautbildung konnte bei keiner Temperatur beobachtet werden. Die Zellen zeigten in jüngeren Bierwürzekulturen runde und ovale Formen mit Sprossungen und vereinzelt Mycelfäden, in älteren Kulturen waren die Soorfäden zahlreich, von verschiedener Länge und Dicke. Alle Soorelemente erwiesen sich als grampositiv. Differenzierung des Zellinhaltes durch Färbung ließ sich erzielen, wenn man das über der Flamme fixierte Präparat 1 Minute lang mit wässriger Methylenblaulösung färbte und dann kurz mit Karbolfuchsin 1:5 nachfärbte. Es zeigte sich dann in dem rotgefärbten Zelleib an einem Ende ein blaues, körniges Körperchen, das ungefähr den vierten Teil der Zelle einnahm. Dieselben Gebilde ließen sich auch nach der Ljubinskyschen Körnchenfärbung¹⁾ für Diphtheriebacillen darstellen und zeigten dann eine dunkelbraune bis schwarze Farbe. In einzelnen Zellen waren zwei derartige Körper-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 38. p. 365.

chen zu sehen. Bei Zellen, die sich in Sprossung befanden, konnte man oft deutlich sehen, wie die dunkelgefärbte körnige Masse sich aus der Mutterzelle in die Tochterzelle fortsetzte. Ob es sich hier um Kerne handelt, wage ich nicht zu entscheiden.

Da sich so die 13 isolierten Stämme morphologisch als Soor erwiesen, wurde jetzt noch geprüft, ob sie auch im Tierkörper sich einerseits als mit Soor identisch, andererseits von *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* verschieden zeigten.

Daß beim Menschen Soor tiefer in die Gewebe eindringen kann, zeigte Heller; und Schmorl berichtet im Centralblatt für Bakteriologie über einen Fall von Soormetastase in der Niere. Die Angaben über die Pathogenität des Soors im Tierexperiment sind verschieden. Stooss beobachtete in allen Fällen, wo er Soor Tieren subkutan einimpfte, allgemeine Soormykose und Tod. Auch Prof. Fischer und Dr. Brebeck berichten, daß sie durch intravenöse Injektion des verflüssigenden Soorpilzes in zwei Fällen allgemeine Mykose und Tod hervorrufen konnten, während in einem dritten Fall, wo es sich um Vaginalsoor handelte, keine Wirkung eintrat. Stöcklin, der, wie anfangs berichtet, eine Anzahl von Soorstämmen aus Anginen isoliert hatte, konnte keinerlei Erkrankungen, weder allgemeine noch örtliche, beobachten. Im hiesigen Institut sind schon vor einer Reihe von Jahren von Herrn Geheimrat Fischer und dem damaligen Assistenten, Herrn Dr. Jochmann, Versuche in dieser Richtung angestellt, und da mir die Protokolle über diese Arbeiten freundlichst überlassen wurden, so kann ich hier die Resultate angeben. In vier Fällen wurden Mäuse subkutan geimpft. Drei Tiere, die $\frac{3}{10}$, $\frac{1}{10}$ und $\frac{3}{10}$ Oese erhalten hatten, starben, das letzte, das $\frac{1}{100}$ Oese erhalten hatte, blieb gesund. In drei Fällen wurden Mäuse intraperitoneal geimpft. Die Tiere erhielten $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{10}$ und $\frac{1}{10}$ Oese und starben alle. Bei den meisten eingegangenen Tieren ergab die Sektion eine allgemeine Soormykose, am häufigsten zeigten sich an den Nieren graue miliare Herde, die an Tuberkelknötchen erinnerten, aber auch im Darm und im Herzfleisch wurden diese Knötchen gefunden. Die Untersuchung der Niere im Schnitt gab bei Gram-Färbung zu erkennen, daß in den Randpartieen, und zwar da, wo die grauen Herdchen schon makroskopisch zu erkennen waren, sich ein dichtes Gewirr von Soorfäden angesiedelt hatte. Auch weiter von der Rinde weg fanden sich im Gewebe einzelne Fäden.

Anders verhielten sich nun zwei von mir frisch aus klinischem Soor gezüchtete, und genau wie diese alle 13 aus den Anginen isolierten Stämme, denn einerseits zeigten sie sich nicht so harmlos wie die Stöcklinschen, andererseits aber weniger pathogen als die früher hier im Institut geprüften Stämme.

Von den sämtlichen Versuchsstämmen erhielten Mäuse zunächst je 1 Oese in 1 ccm Kochsalzlösung unter die Rückenhaut. Nach 10 Tagen schienen die Tiere nicht weiter krank, nach Verlauf von 3 Wochen zeigte sich jedoch bei allen Tieren an der Injektionsstelle ein Ulcus, das Eiterkörperchen und Soorelemente enthielt. Die Ulcera verheilten dann jedoch glatt, und alle Tiere blieben gesund. Derselbe Versuch wurde mit größeren Soormengen (3 Oesen) wiederholt; der Erfolg war im wesentlichen derselbe, sowohl bei den aus klinischem Soor gezüchteten, als auch bei den von den Rachenabstrichen isolierten 13 Stämmen, nur traten die lokalen Erscheinungen früher auf. Nach Verlauf von 7 Tagen

zeigte sich die Haut über der Injektionsstelle verhärtet und trocken, die Haare fielen aus, und die Haut ließ sich an der Stelle leicht abziehen. Unter derselben fand sich ein Ulcus mit einer ziemlich großen Eiteransammlung. Im Ausstrichpräparat fanden sich zahlreiche polynukleäre Leukocyten und runde Soorzellen, von denen lange zapfenartige Gebilde ausgingen. Das Auskeimen dieser Zapfen mußte erst im Tierkörper stattgefunden haben, denn ähnliche Formen konnten in den zur Einspritzung verwandten Kulturen nie beobachtet werden. Aus dem Eiter wurde Soor in Reinkultur gezüchtet. Während so einerseits die aus den Anginen gezüchteten Sproßpilze ihre Identität mit den fünf aus klinischen Soorfällen isolierten Stämmen zeigten, ließen sie andererseits ihre Verschiedenheit von *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* erkennen, denn nach je drei zur Kontrolle vorgenommenen Impfversuchen unter die Haut trat nie eine örtliche Reaktion auf.

Da von den pathogenen Schimmelpilzen, z. B. *Mucor* und *Aspergillus*, bekannt ist, daß sie auf der Hornhaut eine Trübung hervorrufen können, so lag es nahe, auch in dieser Richtung unsere Stämme zu untersuchen und sie einmal mit Stämmen aus klinischem Soor, dann mit *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* in ihrem Verhalten zu vergleichen. In der Literatur finden sich auch über derartige Versuche Angaben. Fischer und Brebeck gelang es in 5 Fällen jedesmal, mit Soor eine Trübung der skarifizierten Cornea zu erzielen, während in 4 Versuchen mit *Monilia candida* Hansen und 1 Versuch mit *Endoblastoderma glucomyces*, aus Mageninhalt gezüchtet, keine Trübung eintrat. Unsere Versuche wurden in der Weise angestellt, daß in 2 Versuchen bei demselben Tiere zunächst eine Cornea skarifiziert und mit einem frisch aus einem klinischen Falle isolierten Soorstamm eingerieben, die andere nur skarifiziert wurde. Auf der eingeriebenen Cornea zeigte sich in beiden Fällen nach 24 Stunden starke Blennorrhöe und wolkige Trübung der Cornea, auf der anderen waren nur leichte Spuren der Behandlung zu sehen. Dann wurden zum Vergleich *Saccharomyces cerevisiae* und *ellipsoideus* hinzugezogen, und während nun 13 Kaninchen auf der einen Cornea mit je einem der isolierten Stämme geimpft wurden, wurde auf der anderen Bier- oder Weinhefe eingerieben. Nach 24 Stunden zeigte sich auch hier ein deutlicher Unterschied zwischen Soor und den beiden anderen *Saccharomyceten*. Während die mit unseren isolierten Stämmen behandelte Cornea regelmäßig starke Blennorrhöe und Trübung zeigte, und die letztere etwa 3 Wochen lang nachzuweisen war, trat auf der anderen Cornea nie eine Trübung auf, und nach 2 Tagen war von dem Eingriff nichts mehr zu sehen. Man könnte denken, daß Soor darum eine Trübung macht, weil er nur bei Körpertemperatur wächst, aber auch ein uns von Herrn Prof. Hansen in Kopenhagen in lebenswürdigster Weise überlassener Stamm von *Saccharomyces ellipsoideus* rief, obwohl er bei 37° recht lebhaft wuchs, keine Erkrankung der Cornea hervor.

Einimpfungen in die Hornhaut bei Hühnern und Tauben blieben in je 2 Fällen erfolglos, ebenso riefen Einreibungen von Soor in die rasierte Bauchhaut von jungen Kaninchen und Meerschweinchen keine Erkrankung hervor. Nach Einspritzungen in den Kropf bei 2 Hühnern und 2 Tauben wurden nach 3 Tagen die Tiere getötet. Im Kropf fanden sich keine Soorbeläge, der Schnabelschleim enthielt bei allen Tieren

Soor. Aus diesen Resultaten geht einerseits hervor, daß es sich bei den aus diphtherieverdächtigen Anginen gezüchteten Soorpilzen wirklich um echten Soor handelt. Nach den vorliegenden Erfahrungen dürfte es sich in zweifelhaften Fällen empfehlen, zur Unterscheidung des Soorpilzes von anderen Saccharomyceten das Verhalten der Kolonien in Bierwürzegeatine zu beachten und von der subkutanen Verimpfung auf Mäuse und der Einimpfung in die Kaninchencornea Gebrauch zu machen.

Während ich noch mit meinen Untersuchungen beschäftigt war, wurde mir von Herrn Geheimrat Fischer aus der Sammlung ein Soorstamm übergeben, bei dem schon vor einer Reihe von Jahren ein merkwürdiges Wachstum in Plattenkulturen auf saurer Gelatine beobachtet war, und mir der Auftrag erteilt, das Wachstum des Stammes näher zu prüfen. In Strichkulturen auf Bierwürzegeatine und Bierwürzeagar war anderen Soorstämmen gegenüber kein Unterschied bemerkbar, auch in Schälchenkulturen auf Bierwürzegeatine, Bierwürzeagar und gewöhnlichem Nähragar bot er kein von anderen Stämmen wesentlich abweichendes Bild. Dagegen entwickelte er in Schälchenkulturen auf saurer Gelatine bei 20° ein eigenartiges, bei keinem anderen Stamme beobachtetes Wachstum. In 4 Tage alten Kulturen zeigte das Original kleine körnige Kolonien mit fadenförmigen Ausläufern, die an ihrem Ende eine kugelförmige Verdickung wie ein Köpfchen trugen. Diese Bildungen waren in der ersten Verdünnung noch schöner zu sehen, wo von den runden feinkörnigen, grauen Kolonien radiär nach allen Seiten Fäden ausgingen, die an ihrem Ende, wie aus den beigefügten Photographen ersichtlich ist, diese Köpfchen trugen. Bei der Anfertigung des Präparates hat die gerade Richtung der Fäden etwas gelitten. Photograph 2 stellt den Rand derselben Kolonie bei stärkerer Vergrößerung dar.

Die Köpfchen, die schon bei Durchmusterung der Platten mit schwacher Vergrößerung zu erkennen waren, fanden sich zuerst nur an den Enden, nicht im Verlauf der Fäden. Nach 5 Tagen wiesen die Fäden teilweise kurze, seitliche Verzweigungen auf, die ebenfalls wieder am Ende ein Köpfchen trugen. Ebenso fanden sich bei älteren Kulturen im Verlauf der Fäden den „Köpfchen“ entsprechende Zellen, teilweise neben den Ausläufern liegend. Anders verhielten sich anfangs gleichalterige Kolonien in der zweiten Verdünnung. Hier waren alle Kolonien in zahlreiche radiäre Fäden aufgelöst, die wie Strahlen von einem Punkte ausgingen und weit zahlreicher waren als die Ausläufer der ersten Verdünnung. Köpfchen trugen diese Ausläufer noch nicht. Nach 5 Tagen, als die Kolonien bei schwacher Vergrößerung keine wesentliche Veränderung erkennen ließen, fanden sich aber schon im Ausstrichpräparat an kurzen seitlichen Verzweigungen der Strahlen dieselben Köpfchen wie in der ersten Verdünnung. Nach weiteren 24 Stunden waren diese Gebilde stark herangewachsen und jetzt auch bei schwacher Vergrößerung am Rande der Kolonien zu erkennen, die jetzt denen der ersten Verdünnung glichen.

Im hängenden Tropfen zeigten die Köpfchen deutlich eine doppelt konturierte Wand und feinkörnigen Inhalt. Die vorletzte Fadenzelle, an die sich das Köpfchen anschloß, war ebenfalls stark verdickt (Fig. 2) und zeigte ähnlichen Inhalt wie dieses, jedoch keine doppelt konturierte Wand.

Mit Hilfe der Ziehl-Neelsenschen Tuberkelbacillenfärbung gelang es sehr schön, die Köpfchen zu färben, nachdem die trockenen Ausstrichpräparate mehrmals durch die Flamme gezogen waren. Die Köpfchen zeigten sich säure- und alkoholfest und wiesen eine schöne rote Farbe auf, während das Mycel und die Sproßzellen blau gefärbt waren. Mit Giemsa-Lösung ließ sich keine Differenzierung der verschiedenen Zellelemente erzielen. Nach der Ljubinskyschen Körnchenfärbung ließen die Köpfchen besonders schön ihre doppelt konturierte Wand erkennen und zeigten im Innern an einigen Stellen ein bläulich gefärbtes Maschennetz. Im Ausstrichpräparat haben die mit Köpfchen versehenen Fäden die größte Aehnlichkeit mit der von Plaut im Handbuch von Kolle und Wassermann. Bd. 1. p. 581 gegebenen Abbildung 31. Plaut bezeichnet hier diese Gebilde als Soorkapseln oder Chlamydosporen.

Wie aus der Abhandlung von Plaut ersichtlich ist, hat derselbe gerade bei einem aus dem Hygienischen Institut zu Kiel bezogenen Soor seine Chlamydosporen beobachtet. Man wird daher daran denken müssen, daß es möglicherweise der hier beschriebene Stamm ist, von dem Plaut damals eine Kultur erhalten hat. Die an unserem Stamme hervorgetretenen Köpfchen für Chlamydosporen zu halten, müssen wir Bedenken tragen, weil nur auf saurer Gelatine diese Bildung beobachtet wurde, und weil auf frischem Nährboden trotz wiederholter Versuche ein Auskeimen der Köpfchen nie beobachtet werden konnte. Dagegen liegt es nahe, nach den oben gemachten Mitteilungen die Köpfchen als Degenerationserscheinung aufzufassen.

Nicht unerwähnt sei, daß bei der Durchprüfung von Bier- und Weinhefe und von *Torula*-Arten sich eine Weinhefe und eine weiße *Torula* fanden, die bei zweimaliger Aussaat auf saure Gelatine genau dieselben Köpfchen zeigten, wie unser Soorstamm.

Herrn Geheimrat Prof. Dr. Fischer sowie Herrn Privatdozent Dr. Müller spreche ich für ihre freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank aus.

Literatur.

- 1) Fischer, Bernhard und Brebeck, Karl, Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der *Monilia candida* Hansen und des Soorerregers. Jena 1894.
- 2) Plaut, H. C., Der Soorpilz. (Kolle-Wassermanns Handbuch. Bd. 1.)
- 3) Stöcklin, Recherches cliniques et expérimentales sur le rôle des levures trouvées dans les Angines suspectes de diphthérie. (Arch. de méd. expérim. 1898. janv.)
- 4) Stooss, Zur Aetiologie und Pathologie der Anginen, der Stomatitis aphtosa und des Soors. (Ann. suisses d. scienc. méd. 1895.)

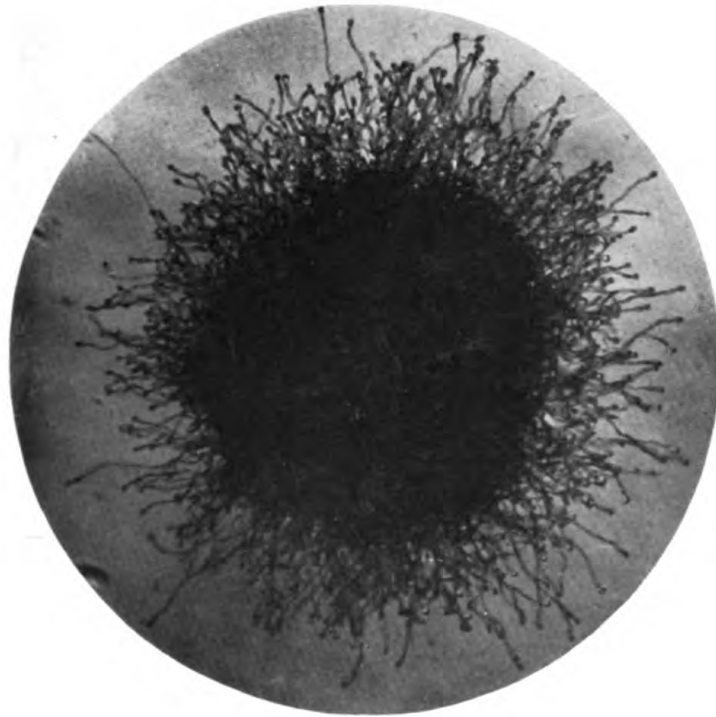


Fig. 1.



Fig. 2.

Nachdruck verboten.

Ueber Endocarditis bei Pneumobacillenseptikämie.

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser Franz Josef-Spitals in Wien
(Vorstand: Prof. Dr. H. Albrecht).]

Von Dr. **Oskar Weltmann**, Prosektursadjunkten.

Die Stellung des *Bacillus pneumoniae* Friedländer in der Pathologie geht aus einer stattlichen Reihe von Arbeiten hervor. Ursprünglich für den gewöhnlichen Erreger der Lungenentzündung gehalten, konnte der *Pneumobacillus* später nur bei gewissen selteneren Formen der Lobulärpneumonie nachgewiesen werden. Dagegen wurde für ihn ein immer größerer pathogenetischer Wirkungskreis in Anspruch genommen. Er wurde in die Aetiologie der Pleuritis, Pericarditis, Peritonitis, Phlegmone, Osteomyelitis, gewisser Erkrankungen der Bauchorgane, der Pericholecystitis, des Leberabscesses, abdominaler Tumoren eingeführt, als saprophytischer und pathogener Parasit der Mundhöhle, des Nasenrachentraktes der oberen Luftwege ausnahmsweise als Erreger der Otitis media gefunden; er wurde ferner bei Erkrankungen des Urogenitaltraktes nachgewiesen und endlich auch als Erzeuger von Allgemeininfektionen erkannt. Daß der Friedländersche *Bacillus* auch in der Aetiologie der Endocarditis eine Rolle spielt, ist wohl nicht ganz unbekannt. Die exakte Kasuistik schrumpft aber bei kritischer Betrachtung auf einen einzigen, von Sachs publizierten Fall zusammen.

1889 berichtet Weichselbaum über eine Septikämie und Endocarditis, die durch einen Kapselbacillus hervorgerufen, aus einer Rhinitis und Otitis media hervorgegangen war; er unterscheidet aber diesen Kapselbacillus von dem *Pneumobacillus* auf Grund seines etwas abweichenden morphologischen und kulturellen Verhaltens, und nennt ihn *Bacillus endocarditidis capsulatus*. Etienne erwähnt in seiner zusammenfassenden Arbeit über die Rolle des Friedländerschen *Bacillus* in der Pathologie 2 Fälle von Endocarditis, und zwar den oben angeführten Fall Weichselbaums und einen unveröffentlichten aus der Beobachtung Netters. 1895 erschien in der Prager medizinischen Wochenschrift eine Arbeit Chiaris über eine durch einen Kapselbacillus hervorgerufene ascendierende Nephritis mit konsekutiver Septikämie, Meningitis und Endocarditis. Dieser Kapselbacillus unterschied sich aber vom Friedländerschen *Bacillus* dadurch, daß er „seltener kokkenförmig erschien, daß er auf Blutserum zarter wuchs, Bouillon weniger stark trübte, für Kaninchen bei geeignetem (intra-venösem) Infektionsmodus schwer pathogen war, und Mäuse bei subkutaner Impfung tötete. Unzweifelhaft standen der Kapselbacillus Weichselbaums, besonders aber der Chiaris dem *Pneumobacillus* sehr nahe. Die Artsonderheit des Chiarischen *Bacillus* beruht, da die Pathogenität für Kaninchen und die subkutane Infektionsmöglichkeit für Mäuse jetzt auch dem echten Friedländerschen *Bacillus* zuerkannt werden, nur mehr auf geringen Wachstumsdivergenzen, und Chiaris Stamm ist mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit nur als Varietät eines Friedländer-Stammes anzusehen. Es erübrigt nun noch des von Sachs publizierten Falles zu gedenken, welcher die einzige

8*

sichere Antezedenz meines Falles darstellt. Es handelte sich um einen 66-jährigen Mann, bei dessen Obduktion im wesentlichen folgender Befund erhoben wurde: Stenose des linken venösen Ostiums und Insuffizienz der Mitralklappen (nach abgelaufener Endocarditis) nebst akuter Endocarditis. Thromben im linken Herzohr. Fibrinös eitrige Leptomeningitis der Basis und der Konvexität des Gehirns und des Rückenmarks. Multiple Abscesse in den Nieren. Prostataabscesse. Die bakteriologische Untersuchung der akuten Prozesse ergab den Pneumobacillus in Reinkultur. Der Ausgangspunkt der Infektion konnte mit Sicherheit in den Urogenitaltraktus verlegt werden, und zwar waren es die Prostataabscesse, durch deren Durchbruch in die Venen die Bakterien in den Kreislauf geschwemmt, die Endocarditis, Meningitis und die Nierenabscesse herbeigeführt hatten.

Ueber einen ähnlichen Fall, allerdings mit anderer Infektionspforte, kann ich nunmehr berichten. Es handelt sich um ein 20-jähr. Mädchen, das auf der ersten medizinischen Abteilung unseres Spitäles starb. Der Krankengeschichte, die mir gütigst überlassen wurde, ist folgendes zu entnehmen.

22. Nov. Anamnese: Patient vor 8 Tagen mit Kopfschmerzen, Erbrechen und Magenbeschwerden erkrankt. Seit 3 Tagen besteht Fieber. Früher angeblich immer gesund gewesen. Herzbeschwerden sind nicht vorausgegangen.

Status praesens: Groß, kräftig gebaut, gut genährt, blaß. Puls 84, von niedriger Spannung. Temperatur 37,5. Oedeme der Beine. Halsdrüsen nicht vergrößert. Herzdämpfung nicht vergrößert. Spitzenstoß einwärts der Papillarlinie, abgeschwächt. Systolisches Frémissement. An der Spitze lautes, blasendes, systolisches, kurzes, sägendes, diastolisches Geräusch. Zweiter Pulmonalton nicht verstärkt. Ueber der Aorta langes systolisches, kürzeres diastolisches Geräusch. Zweiter Aortenton nicht verstärkt. Kontinuierliches Rauschen in den Jugularvenen. Kein markanter Anschlag im Jugulum.

Lungenschall hell bis zu den normalen Grenzen. Rauhes Vesicularatmen.

Abdomen weich, schlaff, nicht druckempfindlich. Milz knapp unter dem Rippenbogen tastbar. Leber bis zum Rippenbogen reichend.

Harnbefund: Alb. + Esbach 4 Prom., Sacch. 0, Aceton 0.

Sediment: Zahlreiche Leukocyten, vereinzelte Nierenepithelien, sehr reichliche, mit Leukocyten besetzte hyaline und granulirte Zylinder.

25. Okt. Temperatur 38,8. Herzbefund unverändert.

27. Okt. Herzdämpfung reicht bis zur 3. Rippe, nach rechts bis zum rechten Sternalrand. Spitzenstoß 1 Querfinger außerhalb der Mamillarlinie. Ueber der Spitze langgezogenes, systolisches, kürzeres, diastolisches Geräusch. Ueber der Aorta langes, sägendes, systolisches, kürzeres diastolisches Geräusch.

29. Okt. Puls 116. Spannung stark herabgesetzt. Harnmenge vermindert.

30. Okt. Verschlimmerung des Allgemeinbefindens. Herzbefund unverändert. Starkes Oedem der unteren Extremitäten. Puls Spannung tief unter der Norm.

1. Nov. Exitus letalis.

Das Fieber zeigte einen unregelmäßigen remittierenden Charakter. Die Temperaturanstiege von Frösten begleitet.

Die klinische Diagnose lautet: Endocarditis, offenes Foramen ovale (?), Nephritis.

Sektionsbefund. 2. Nov. Mittelgroße weibliche Leiche von kräftigem Knochenbau. Muskulatur und Fettpolster gut entwickelt. Hautkolorit graugelb, sichtbare Schleimhäute livid. Spärliche Totenflecke an den abhängigen Körperpartieen. Oedeme an den unteren Extremitäten. Ziemlich reichliche Menge gelber, klarer Flüssigkeit in Brust und Bauchhöhle.

Lungen nirgend angewachsen. Pleura von verstreuten, rotbraunen, ca. linsengroßen Flecken durchsetzt, im übrigen durchsichtig und spiegelnd. Beide Lungen fühlen sich lufthaltig an. Im rechten Oberlappen ein etwa guldengroßer, in den übrigen Lungenpartieen etwa 10—12 kreuzergroße, die Oberfläche vorwölbende, derbere, bläulich durchschimmernde

Herde. Diese Lungenteile sind luftleer. Von ihrer Schnittfläche, die gekörnt erscheint, läßt sich ein grauroter Saft abstreifen. Die übrigen Parteen sind an der Schnittfläche glatt und lassen ziemlich reichliche schaumige Flüssigkeit abstreifen. Hypostase in beiden Unterlappen.

Herzbeutel mit reichlicher klagelber Flüssigkeit erfüllt. Das Herz ist in toto vergrößert, besonders linkerseits, sehr schlaff, von wenig Fettgewebe bewachsen und von Cruormassen und Fibringerinnseln erfüllt. Der linke Ventrikel ist erweitert, Muskulatur, insbesondere die Papillarmuskeln hypertrophisch; unter dem zarten Ventrikelendokard etwas getigert. Mitralklappe zart und schlußfähig. Die mittlere Aortenklappe ist von reichlichen, hellgelben, polypösen Exkreszenzen bedeckt, die fast Bohnengröße erreichen, zum Teil verkalkt, zum Teil weich und zerfallend sind. Die Klappe selbst ist aneurysmatisch ausgebuchtet und an verschiedenen unregelmäßigen Stellen zerstört. Aus dem Sinus Valsalvae gelangt man mit der Sonde ohne weiteres durch die Pars membranacea septi hindurch in den rechten Vorhof. In diesem findet sich etwa 1 cm über dem Schließungsrande der Tricuspidalis eine ungefähr linsengroße, von hellgelben wulstigen Rändern begrenzte, fast kreisrunde Perforationsöffnung. In der Umgebung derselben sind einzelne größere frische Blutungen und zerstreute warzige Exkreszenzen sichtbar; solche finden sich auch an der dem Septum zugekehrten Fläche der Tricuspidalis. Die beiden übrigen Aortenklappen sind frei. Aorta zart, entsprechend weit. Rechter Ventrikel etwas erweitert. Zwischen den Trabekeln, namentlich an der Spitze eine größere Anzahl globulöser Vegetationen der gewöhnlichen Form.

Schilddrüsen nicht vergrößert. Von der Schnittfläche Kolloid abstreifbar.

An beiden Tonsillen je ein länglich ovales Geschwür von 1½ cm Länge mit schmierig belegtem Grunde. Aus den Krypten entleert sich auf Druck reichlich Eiter.

Milz leicht vergrößert. Kapsel glatt und glänzend. Konsistenz herabgesetzt. Pulpa dunkelgraurot. Follikel etwas vergrößert.

Leber vergrößert, Konsistenz etwas erhöht; nicht ganz deutliche Muskatnußzeichnung. An der Leberpforte eine bohngroße, verkäste Drüse.

Nieren vergrößert, von weicher Konsistenz. Kapsel leicht abziehbar. Schnittfläche sehr feucht. Rinde verbreitert, Zeichnung verwischt, rötlich-gelb, von hellgelben und roten Streifen durchsetzt. Mark dunkelgraurot.

Nebennieren weisen eine Hyperämie der Marksubstanz auf.

Blasenschleimhaut blaß-gelblich von ziemlich reichlichem gelbbraunen Sediment bedeckt.

Im Magen- und Darmtrakt nichts Besonderes. Die nur stellenweise leicht fleckig injizierte Schleimhaut mit reichlichem Schleim bedeckt. Uterus mit den Adnexen und teilweise mit den Darmschlingen durch ziemlich derbe Bindegewebsmembranen verwachsen. Uteruskörper etwas verdickt, sein Endometrium etwa 2 mm dick; Cervixschleimhaut gerötet, reichlich mit Schleim bedeckt. Desgleichen sind die Muttermundslippen gerötet.

Tuben etwas verdickt, nur sehr spärliches graues Sekret enthaltend, mit den Ovarien ausgedehnt verwachsen? Ovarien sehr derb, Vaginal-

schleimhaut geschwollen, trüb, graurot, mit schmierigem Schleim bedeckt, ziemlich stark gefaltet und gerunzelt.

Die Lokalisation der Endocarditis an der Aortenklappe bei einem jugendlichen Individuum, die gleichzeitig bestehenden entzündlichen Veränderungen des Genitales ließen zunächst den Verdacht auf einen gonorrhoeischen Prozeß aufkommen. Es wurden sofort Abstriche von den Klappeneffloreszenzen, vom Tubeninhalte, Vaginalsekret, von den Tonsillen und den hepatisierten Lungenherden angefertigt und nach Gram gefärbt. Im ersten Präparate (Effloreszenzabstrich) fanden sich reichlich gramnegative, häufig zu zweit gelagerte kokkenförmige Bacillen. Auf den übrigen Präparaten waren ähnliche, doch meistens plumpere, gramnegative ovaläre Stäbchen sichtbar, die teilweise eine Kapsel erkennen ließen. Auf Grund dieses überraschenden Befundes wurde die Sektion kranial vervollständigt und dabei folgender Befund erhoben: Das Gehirn weist außer mäßiger Hyperämie und leichtem Oedem nichts Besonderes auf.

Die Schleimhaut des weichen Gaumens, des Pharynx und Larynx ist deutlich geschwollen, livid, von reichlichem kleberig-schleimigen Exsudat bedeckt, insbesondere in der Umgebung beider Tuben. Die Schleimhaut der Nasenhöhle ist ebenfalls verdickt und leicht gerötet. Etwa dem hinteren Ende der linken unteren Muschel entsprechend, ein ca. haselnußgroßer Polyp mit höckeriger Oberfläche von zähem, fadenziehenden schleimigen Sekret bedeckt. Nebenhöhlen und Mittelohr ohne Besonderheiten.

Es wurden nunmehr auch vom Pharynxschleim und Nasensekrete Aufstriche gefärbt, und auch hier wurde der gleiche Bacillus gefunden wie früher. Dann wurde das Blut, eine zerriebene Klappeneffloreszenz, Tubeninhalte, Vaginalsekret Pharynx- und Nasenschleim, ferner Tonsillensekret, Lungen- und Milzsaft auf Serumagarplatten gestrichen. Schon nach 18 Stunden war auf allen Platten ein überaus reiches Wachstum schleimiger Kolonien sichtbar, die dem makroskopischen Aussehen nach mit größter Wahrscheinlichkeit den Pneumobacillus agnoszieren ließen. Die Deckglaspräparate nach Gram gefärbt, ergaben eine Reinkultur kurzer, gramnegativer Stäbchen mit abgerundeten Enden und einer dicken Kapsel.

Aus dem Vaginalsekret waren außerdem noch grampositive Diplokokken und nicht näher bestimmte ebenfalls grampositive lange Stäbchen, aus dem Pharynxsekret neben dem Kapselbacillus noch spärliche Kolonien von *Staphylococcus albus* aufgegangen.

Der gefundene Kapselbacillus zeigte im hängenden Tropfen keine Beweglichkeit und verhielt sich den üblichen Kulturkriterien gegenüber folgendermaßen:

Kolonien auf Agar durchscheinend, erhaben, konfluierend und stark schleimig. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Kolonien rund, glattrandig, im Zentrum rehbraun, gegen die Peripherie hin durchscheinend und gekörnt. Bouillon deutlich getrübt, nach 48 Stunden an der Oberfläche ein dem Glase anhaftender weißer, zähschleimiger Ring. Keine Indolbildung. Agarstich: Reichliche perlschnurartige weißgelbe Kolonien. An der Oberfläche milchweißer, glänzender, leicht erhabener runder Rasen.

Gelatine: Nach 8 Tagen typischer, porzellanähnlicher Nagelkopf.

In Traubenzuckeragar mäßige Gasentwicklung.

Auf schieferm Agar floß ein beträchtlicher Teil der schleimigen Kultur in die Kuppe der Röhre herab.

Auf Kartoffel gelblich-weißer, dicker Rasen mit gewellten Rändern. Gasblasen.

Milch wurde nicht koaguliert.

Die Kapseln waren nach den üblichen Methoden (Anilinwasser-Gentianaviolett — 1-proz. Essigsäure, erwärmtes Karbolfuchsin — 1-proz. Essigsäure oder erwärmtes Karbolfuchsin, Differenzieren in Essigsäure, Nachfärbung mit 1-proz. wässrigem Methylenblau) darstellbar.

Sehr schöne Bilder erzielte ich durch die Burrische Tuschemethode und Nachfärben des Bakteriums. Ausgehend von der Tatsache, daß sich die Bakterien im Tuschepräparate durch Verdrängung der Tuscheteilchen als weiße Gebilde darstellen lassen und die Mitteilung von Gins über die Nachfärbbarkeit von Tuschepräparaten benutzend, wollte ich durch die Differenz der Effekte die Kapseln zur Anschauung bringen. Ich verrieb also einen Tropfen bacillenhaltigen Materiales mit verdünnter Tusche, ließ das Präparat trocknen, färbte es dann mit erwärmtem Karbolfuchsin und ließ es nach kurzem Abspritzen mit Wasser an der Luft trocknen. Die Prozedur ist überaus einfach und die Bilder sind sehr deutlich. Die Bacillen selbst erscheinen leuchtend rot gefärbt; sie sind von einem breiten, weißen Hof umgeben, dessen äußerer ovaler Kontur sich scharf von dem graubraunen Hintergrund abhebt. In meinem Falle lagen die Bacillen teils einzeln in der Kapsel, teils waren sie zu zweit und auch zu dritt von einer gemeinsamen Hülle eingeschlossen.

Der Bacillus erwies sich für weiße Mäuse und Meerschweinchen pathogen. Die Mäuse gingen nach subkutaner Impfung mit einer Normalöse 48 Stunden alter Agarkulturen im Verlaufe von 1—2 Tagen septisch ein. Aus der Infektionsstelle, aus dem Blute und der Milz ließ sich der Pneumobacillus in Reinkultur darstellen. Die Meerschweinchen überlebten die intraperitoneale Injektion von 1 ccm 48-stündiger Kultur etwa 1 Woche lang und gingen an einer fibrinös-eiterigen Peritonitis ein, aus der sich der Friedländersche Bacillus reinzüchten ließ. Es wurden weiter 2 Kaninchen infiziert. Dem einen wurde 1,5 ccm 48-stündiger Bouillonkultur in eine Ohrvene injiziert. Es blieb am Leben. Dem anderen wurde dieselbe Menge einer Emulsion von Kartoffelkultur in Bouillon intravenös einverleibt. Dieses ging nach 18 Stunden ein und wies eine Milzschwellung, beginnende Lobulärpneumonien und Lebernekrosen auf. Bei der histologischen Untersuchung erwiesen sich auch die Nieren als schwer geschädigt, indem stellenweise die Epithelien der gewundenen Harnkanälchen nekrotisch waren.

Nach seinem morphologischen, tinktoriellen, kulturellen und tierpathogenen Verhalten konnte also der gefundene Kapselbacillus mit Sicherheit als Pneumobacillus angesprochen werden.

Histologische Untersuchung.

Aortenklappe mit endocarditischer Effloreszenz: Der Klappenansatz an der Aorta ist beträchtlich verdickt und repräsentiert sich als fibröses, durch Vermehrung der Spindelzellen verdichtetes Bindegewebe, das stellenweise Gefäßneubildung erkennen läßt. Dieses Gewebe geht ohne scharfe Grenzen in eine teils homogen erscheinende, teils lamellös geschichtete, teils netzförmig strukturierte (letztere Anteile färben sich nach Weigert blau) Masse über, die in unregelmäßig begrenzten Räumen zahlreiche Haufen polynukleärer, zum Teil verfetteter und zerfallener Leukocyten enthält. Außerdem finden sich in diesem hyalin degenerierten Fibrin und Bindegewebe grobschollige, im Hämalaun-Eosinpräparat dunkelviolettfarbene Einschlüsse (Kalk). In den Gewebs-

spalten, namentlich in einer unter dem Klappensaum gelegenen Zone, sind hellblau gefärbte Schleimpartieen und dichte Haufen ovalärer kokkenförmiger Bacillen sichtbar. Diese erscheinen nach Hämalaun-Eosinfärbung graublau, nach Gram entfärbt und sind am deutlichsten durch Loefflersches Methylenblau darstellbar.

Globulöse Vegetationen: Sie bestehen aus weißen und spärlicheren roten Blutkörperchen, die in einer bei schwacher Vergrößerung homogen, unter der Immersion fein gekörnt aussehenden Grundsubstanz liegen. Diese Blutplättchenkonglutination ist von dunkler gefärbten, guirlandenförmig gewellten Fibrinbändern durchzogen, die auch die dichtfaserige Umrandung darstellen. Bacillen sind nicht sichtbar.

Lungen: Die makroskopisch sichtbaren Verdichtungsherde repräsentieren sich als konfluierende Lobulärpneumonien. Die Alveolen sind mit weißen und roten Blutkörperchen, mit teilweise fettig degenerierten polygonalen Epithelien erfüllt. Dazwischen liegen Alveolen, die vollkommen frei sind, und solche, die eine körnige Gerinnungsmasse, spärliche Leukocyten und Blutpigment enthalten. In den infiltrierten Partieen sind kleine bläuliche Bacillenhaufen nachweisbar.

Milz: Die Pulpa ist von weißen Blutelementen, mono- und poly-nukleären Formen, und weit spärlicheren roten Blutkörperchen und Blutpigmentschollen durchsetzt. Trabekel und Kapsel sind etwas verbreitert. Die Follikel vergrößert, unscharf begrenzt. Die Endothelien der Gefäße, namentlich der Venen, sind stark gequollen. In der Pulpa und in den intermediären Lakunen sind reichlich die blaugrauen Stäbchen sichtbar.

Leber: Die Zentren der Leberläppchen zeigen stellenweise Hyperämie, mäßige Fettinfiltration der Leberzellen neben hochgradiger fettiger Degeneration derselben. Vielfach ist der Kern nicht mehr färbbar und die Leberzellen erscheinen in rötlich-violette Schollen umgewandelt. Die äußerste Peripherie der Leberläppchen wird durch ganz gut färbbare Leberzellen gebildet.

Nieren: Die Epithelien der Harnkanälchen, besonders der Tubuli contorti sind gegen das Lumen stark vorgequollen und enthalten reichlich Fetttröpfchen. Die Lichtung ist mit Gerinnungsmassen erfüllt. Die Glomeruli sind zellreicher, ihr Kapsel-epithel ist gelockert. Im Kapselraume liegen schollige Gerinnungsmassen. Das interstitielle Gewebe ist fleckweise mit Rundzellen infiltriert. Es besteht mäßige Hyperämie. Vereinzelt Kapillarembolien mit Friedländerschen Bacillen.

Harnblase: Die Schleimhaut weist außer etwas vermehrter Epithelabstoßung keinerlei entzündliche Veränderung auf.

Vagina: Das Epithel ist stark aufgelockert. Dichte subepitheliale Rundzelleninfiltration. Kapillaren erweitert. Bacillen nicht sichtbar.

Ovarien: Die Tunica albuginea ist mäßig verdickt, das Stroma sehr reichlich, aus kleinen Spindelzellen bestehend. An den Follikeln nichts Besonderes. Es sind frischere und ältere Corpora lutea vorhanden. Stellenweise sind kleine Blutaustritte ins Gewebe sichtbar. In einigen Kapillaren sind randständige Bacillen nachzuweisen.

Uterus: Cervix: Das Epithel zeigt keine Veränderung. Im Cervixlumen sind spärliche schleimige Detritusmassen zu sehen, die Leukocyten und Epithelzellen einschließen. Das Stroma ist kaum verdickt. Die Drüsen nach der Tiefe ausgezogen, zum Teil stärker gewunden.

Corpus: Das Epithel ist teilweise abgestoßen. Das Stroma erscheint verdickt; das Drüsenepithel ist gelockert, die Drüsen selbst sind an Zahl

vermehrt. Im Stroma liegen spärliche Blutpigmentschollen. Das intermuskuläre Bindegewebe besonders um die Gefäße herum ist beträchtlich vermehrt. Akut entzündliche Veränderungen sind nicht vorhanden. Bacillen nicht nachweisbar.

Tube: Die Schleimhautfaltung ist sehr stark entwickelt. Die einzelnen Falten sind miteinander verwachsen; die Gefäße stark erweitert und mit Blut erfüllt, weisen hie und da Bacillen auf. Das Bindegewebe der Tubenwände erscheint um ein Geringes vermehrt und enthält sehr spärliche Züge von einkernigen Rundzellen. Keine Zeichen einer frischen Entzündung.

Tonsillen: Das Epithel ist nur in den Randpartien erhalten. Gegen die Mitte der Tonsille zu, dem makroskopischen Geschwür entsprechend, ist das Epithel teils abgestoßen, teils auf schmale, zerklüftete Reste reduziert. Diese epithelentblößten Stellen sind von einer aus zerfallenen Epithelien und polynukleären Leukocyten bestehenden Detritusmasse bedeckt, in der sich die graublauen Bacillen in mäßiger Anzahl finden. Die Lakunen sind mit Epithelzellen, mit teilweise verbackenen Leukocyten und Bakterien erfüllt. Ihre Epithelbekleidung wird von Zügen einkerniger Leukocyten durchbrochen. Die Kapillaren sind etwas erweitert.

Tonsilla pharyngea: Das geschichtete Flimmerepithel ist größtenteils zerstört. Die erhaltenen Reste erscheinen wie zerzaust und sind von einem Bacillenrasen bedeckt. Die Kapillaren sind stark dilatiert. Allenthalben liegen in den Spalten des adenoiden Gewebes dichte Haufen graublauer Stäbchen, die teilweise zu 2—3-gliedrigeren Fäden angeordnet sind. Die von zylindrischem Flimmerepithel ausgekleideten Spalträume sind mit abgestoßenen Epithelien, Leukocyten und Bacillen erfüllt. Auch in den Blut- und Lymphgefäßkapillaren liegen reichlich die schleimigen Stäbchen. Die Durchsetzung des Gewebes mit Bacillen ist in den oberflächlichen Partien am dichtesten und verliert sich allmählich gegen die Submucosa. Die Schleimdrüsen weisen vermehrte Becherzellenbildung auf, ihr Lumen ist mit einer fädig geronnenen Masse verlegt.

Hintere Rachenwand: Das Epithel ist stellenweise von einem aus abgestoßenen Zellen, Leukocyten und Bakterien bestehenden Detritus bedeckt. Streckenweit liegt ein förmlicher Bacillenrasen der Gewebsdecke auf. In den zur Oberfläche parallelen Epithelspalten liegen Züge bis zu dritt und viert schmalseitlich verbundener Bacillen in reichlicher Menge. An einzelnen Stellen ist die Kontinuität des Epithels durchbrochen und man sieht hier, wie ein Bakterienhaufen in die subepithelialen Regionen vordringt. Im Bindegewebe der Mucosa und Submucosa und in den adenoiden Gewebseinschlüssen liegen dicht gedrängt die bläulichen Bacillen. Auch das Bindegewebe zwischen den Muskelbündeln ist von Bacillen durchsetzt. An vielen Stellen ist das Eindringen der Bakterien aus dem Gewebe in die Kapillaren sichtbar.

Nasenpolyp: Er besteht aus einem ödematös gequollenen Bindegewebe, das einen mächtigen Plexus stark erweiterter Venen und zahlreiche Schleimdrüsen enthält. Das mehrreihige Flimmerepithel ist steckenweise in Abstoßung begriffen und von einem aus Leukocyten, Epithelien und Bacillen bestehenden Sekret bedeckt. Das Stratum proprium wird von zahlreichen Leukocyten durchsetzt. Die Drüsen sind stark gewunden

und weisen vermehrte Becherzellenbildung auf. In den oberflächlichen Kapillaren liegen Friedländersche Bacillen in mäßiger Dichte.

Die Bacillen zeigen auf allen Schnitten eine morphologische und tinktorielle Uebereinstimmung. Bei Hämaun-Eosinfärbung erschienen sie blaugrau, häufig in hellblauer Schleimsubstanz. Nach Gram entfärbten sie sich. Sehr deutlich waren sie mit Methylenblau, besonders dem Loefflerschen, darstellbar.

Aus den obigen Befunden geht also mit Sicherheit hervor, daß es sich im vorliegenden Falle um eine Allgemeininfektion mit dem *Bac. pneumoniae* handelt, in deren Verlauf der genannte Bacillus die Spuren einer alten Entzündung auffrischend, zu einer polypös-ulcerösen Endocarditis mit Klappenaneurysma und Perforation des Septum membranaeum geführt hat. Für den abgelaufenen Prozeß zeugen die verkalkten Stellen der affizierten Klappe. Die ursprüngliche Vermutung für die gonorrhoeische Natur des Prozesses läßt sich im Sinne einer pathologischen Antezedenz als eine ins Gewebe geschriebene Anamnese aufrecht erhalten. Der chronische Entzündungskomplex am Genitale und an der Aortenklappe weist doch mit großer Wahrscheinlichkeit auf Gonokokkenwirksamkeit hin. Interessant ist, daß auch in dem von Sachs beschriebenen Falle die Endocarditis einer alten Klappenentzündung aufgepfropft erscheint. Da der Chiarische Fall, der dem unserigen zumindest sehr nahe steht, ähnliche Verhältnisse aufweist, so hat es den Anschein, als ob der Friedländersche Bacillus nur imstande wäre, Endocarditisrekrudeszenzen hervorzurufen. Dies steht auch mit der enormen Seltenheit der Friedländer-Endocarditis im Einklange, die uns sonst bei dem relativ viel häufigeren Vorkommen von Allgemeininfektionen durch denselben wunder nehmen müßte.

Die Eingangspforte der Infektion war in meinem Falle mit Sicherheit festzustellen. Ueberhaupt kamen nur das Genitale und die Mund- und Nasenhöhle in Betracht. Das Genitale war chronisch entzündlich verändert, zeigte aber keinerlei Spuren einer frischen Entzündung. Dagegen fand sich im Nasen-Rachentrakt eine frische katarrhalische Entzündung. Ferner war das Gewebe hier am dichtesten von Bacillen durchsetzt, die ovalären Stäbchen waren einzig hier zu kürzeren fadenförmigen Verbänden angeordnet, endlich war an vielen Stellen direkt der Uebertritt der Bakterien aus dem Gewebe in die Kapillaren histologisch nachzuweisen, so daß wir mit bestem Wissen den Ausgangspunkt der Infektion hierher verlegen können. Daß der Pneumobacillus im Cavum pharyngo-nasale saprophytisch vorkommt, ist eine bekannte Tatsache. Netter hat an einem großen Untersuchungsmateriale in 4–5 Proz. der Fälle Friedländersche Bacillen in der Mund- und Rachenhöhle gefunden. Hasslauer hat bei der Untersuchung von 111 gesunden Nasenhälften 13mal das Vorhandensein von Pneumobacillen nachweisen können. Ob der Friedländersche Bacillus hier primär pathogen werden kann, oder ob es auch hier der Vorarbeit eines anderen Bakteriums bedarf, ist nicht entschieden. In unserem Falle legt der kulturelle Nachweis von *Staphylococcus albus* aus dem Pharynxsekret bei dem sonst einheitlichen bakteriologischen Befunde des gesamten Untersuchungsmateriales die Vermutung nahe, daß auch hier der *Pneumobacillus* — *sit venia verbo* — in die Fußtapfen eines anderen Bakteriums getreten sei.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prosektor Prof. Albrecht für die Anregung zu dieser Arbeit und die liebenswürdige Unterstützung bei ihrer Fertigstellung meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Literatur.

- Sachs, Zeitschr. f. Heilk. 1902.
Weichselbaum, Intern. klin. Rundschau. 1888.
— —, Wien. med. Jahrb. 1886.
— —, Ziegler's Beitr. Bd. 4.
— —, Monatsschr. f. Ohrenheilk. 1888. No. 8.
Landsteiner, Wien. klin. Wochenschr. 1897.
Clairmont, Wien. klin. Wochenschr. 1899.
Halban, Wien. klin. Wochenschr. 1896.
Kreibich, Wien. klin. Wochenschr. 1896.
Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorganismen. Bd. 3. Abel.
Hasslauer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33.
Lubarsch-Ostertag, Bd. 10. 1906.
Netter, Traité de méd. de Charcot-Bouchard. 1. 4.
— —, Soc. méd. des hôp. 1890. — Compt. rend. de la soc. de biol. 1887.
Chiari, Prag. med. Wochenschr. 1895.
Kockel, Fortschr. d. Med. 1891.
Zaufal, Verein dtsh. Aerzte. Prag. 1888.
Dmochowsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1899.
Thost, Dtsche med. Wochenschr. 1886.
Rovsing, Die Blasenentzündungen. Berlin 1890.
Friedländer, Die Mikrokokken der Pneumonie. (Fortschr. d. Med. 1883.)
Wilde, Ueber den Bacillus Friedländer und verwandte Bakterien. [Inaug.-Diss.] Bonn 1896.
Stook, Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 19.
Nicolai, Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1894.
Montt Gaavedro, Centralbl. f. Bakt. Bd. 20. 1896.
Bordoni Uffreduzzi, Zeitschr. f. Hyg. 1888.
Etienne, Arch. génér. d. méd. et d'anat. pathol. Vol. 3. 1895.
Proesler, Münch. med. Wochenschr. 1901.
Schlagenhauser, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1907.
Paltauf, Wien. klin. Wochenschr. 1897.
Schenk, Beitr. z. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. 2. 1899.
Kokawa, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1905.
Gins, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. Heft 5.

Nachdruck verboten.

Note on the intestinal bacteriological flora of normal individuals in the tropics.

By Prof. **Aldo Castellani, M. D.**,
Director of the Clinic of Tropical Medicine, Colombo (Ceylon).

The investigation has been carried out on healthy adult natives Singhalese and Tamils, and two Europeans who had been for more than six months in the Island. The diet of Tamils and Singhalese of the lower classes — to which the natives examined belonged — is mainly composed of vegetables (rice, plantains, jack-fruit, pumpkins, beans, brinjal) with occasionally fish, and very rarely owing the religious principles, mutton or beef. The diet of Europeans and better class natives is the usual vegetable-meat diet.

Table I.
Nines. Sinhalese boy. Age 18 years. Diet: Rice vegetables, fish, mutton. Stool plated on 16. II. 1909.
Nine colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcite	Saccha-rose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	AG	0	AC	G	non-liquefied, 23 days do.	Coli like growth. More delicate do.	non-liquefied do.	GT	GT	0	0	0
2	"	"	DG	"	"	0	DC	"	liquefied, 18 days	"	liquefied, 18 days	GTP	"	0	0	0
3	"	"	AG	"	"	AG	AC	"	non-liquefied, 23 days do.	"	non-liquefied do.	GT	"	0	0	0
4	"	"	"	"	"	0	D	"	"	"	"	"	"	0	0	0
5	"	"	DG	"	"	0	DC	"	"	"	"	"	"	0	0	0
7	"	"	AG	"	"	AG	AC	"	"	"	"	GTP	"	0	0	0
8	"	"	DG	"	"	0	AC	"	"	"	"	"	"	0	0	0
9	"	"	AG	"	"	0	AC	"	"	"	"	"	"	0	0	0
10	"	"	"	"	"	0	AC	"	"	"	"	"	"	0	0	0

Abbreviations used in the tables: A = Acid, G = Gas, C = Clot, D = Decolourised, GT = General turbidity, P = Pellicle. 0 = Negative result viz: neither acid nor gas in sugar media, neither acid nor clot in milk, non-motile or non-production of indole as the case may be. + = Positive result (Production of indole or motility of Bacillus as the case may be).

Table II.
Tamil Coolie. Age 30 years. Diet: Rice and vegetables. Stool plated on 2. III. 1909.
Ten colonies in taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcite	Saccha-rose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AC	G	non-liquefied, 26 days do.	thin whitish growth do.	non-liquefied do.	GT	GT	f	0	0
2	"	"	"	"	"	"	DC	"	"	"	"	"	"	f	0	0
3	"	"	"	"	"	DG	AC	"	"	"	"	"	"	f	0	0
4	"	"	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0
5	"	"	"	"	"	DG	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0
6	"	"	"	"	"	AG	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0
7	"	"	"	"	"	DG ¹⁾	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0
8	"	"	"	"	"	AG	DC	"	"	"	"	"	"	"	0	0
9	"	"	"	"	"	DG	AC	"	"	"	"	"	"	"	0	0
10	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0

1) = Tiny bubble. f = feeble

Table III.
Vallen. Tamil Coolie. Age 45 year. Diet: Rice and curry. Stool plated on 15. III. 1906.
Ten colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcitol	Saccharose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	AG	AG	DC	G	non-liquefied do.	Thin semi-transp. growth Whitish coli-like	non-liquefied do.	G ^{Tsl.} P	GT	+	0	0
2	"	"	AG	"	"	DG	0	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	0
3	"	"	"	"	"	AG	DC	"	"	Thin semi-transparent do.	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	0
4	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	f	0	0
5	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	f	0	0
6	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	f	0	0
7	"	"	"	"	"	DG	AC	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	f	0	0
8	"	"	"	"	"	AG	DC	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	f	0	0
9	"	"	"	"	"	AG	AC	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	f	0	0
10	"	"	DG	DG	DG	DG	"	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	0

sl. = slight pellicle. f = feeble. ++ = very marked.

Table IV.
European. Resident in Colombo 7 months. Age 30 years. Diet: General. Stool plated on 29. III. 1909.
Nine colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcitol	Saccharose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
8	AG	AG	AG	AG	DG	Dsl.G	A	G	non-liquefied do.	thin coli-like do.	non-liquefied do.	G ^{Tsl.} P	GT	+	0	+
5	"	"	"	"	AG	C	AC	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	+
9	"	"	"	"	"	Dsl.G	A	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	+
6	"	"	"	"	0	Dsl.G	AC	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	+
1	"	"	"	"	AG	0	"	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	+
6	"	"	"	"	"	Dsl.G	"	"	"	thicker coli-like do.	"	"	"	+	0	+
7	"	"	"	"	"	Dsl.G	"	"	"	"	"	"	"	+	0	+
3	"	"	"	"	"	Dsl.G	"	"	"	"	"	G ^{Tsl.} P	"	+	0	+

sl. = slight gas.

Table V. Kadiravelu. Tamil Coolie. Attendant at clinic. Age 45 years. Diet: Rice and curry, vegetables. Stool plated on 16. IV. 1909. Ten colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcite	Saccha-rose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone Water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AC	G	non-liquefied do.	thin whitish (waxy) do.	non-liquefied do.	GTP	GT	+	0	f
2	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
3	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
4	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
5	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
6	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
7	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
11	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
14	"	"	"	"	"	"	A	"	"	thin whitish do.	"	GTsl.P	"	+	0	f
9	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0

Table VI. Muttama. Tamil Estate Coolie. Age 14 years. Diet: Rice, curry, vegetables. Stool plated on 7. V. 1909. Twelve colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcite	Saccha-rose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone Water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	AG	AG	A ¹	G	non-liquefied do.	thick whitish growth	non-liquefied do.	GTpt GTsl.P	GTP GT	+	0	f
2	"	"	"	"	"	"	AC	"	"	Colt-like do.	"	"	"	+	0	f
3	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
4	"	"	"	"	"	"	"	"	"	thick whitish growth do.	"	GTpt GT	GTP GT	+	0	f
5	"	"	"	"	"	"	A ¹	"	liquef. after, 23 days do.	"	sl. liquef., 23 days do.	"	"	+	0	f
6	"	"	"	"	"	"	AC	"	"	"	"	GTpt	GTP	+	0	f
7	"	"	"	"	"	"	A	"	non-liquefied do.	"	non-liquefied do.	"	"	+	0	f
8	"	"	"	"	"	"	A ¹	"	"	"	"	GT	GTP	+	0	f
9	"	"	"	"	"	"	A ³	"	sl. liquefied, 23 days non-liquefied	"	sl. liquef., 23 days non-liquefied	GTsl.P	"	+	0	f
10	"	"	"	"	"	"	A	"	liquefied, 23 days	"	sl. liquefied	GT	"	+	0	f
11	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	f
12	"	"	"	"	"	"	AC	"	"	"	"	"	"	+	0	f

t = thick pellicle.

1) Decolourised after 48 hrs. Quite white.

2) Very slight pellicle after 5 days.

3) Only very slightly acid.

Table VII. Wellan. Tamil Coolie. Age 30 years. Diet: Fish, rice, vegetables. Stool plated on 29. V. 1909. Ten colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcitol	Saccharose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	0	0	AC	G	non-liquefied	whitish coli like	non-liquefied do.	GTsl.P	GT	f	0	+
2	"	"	"	"	0	DG	DC ¹⁾	"	very slow liquefied	do.	"	GTP	"	f	0	+
3	"	"	"	"	AG	0	AC	"	non-liquefied	"	"	GT	"	f	0	+
4	"	"	"	"	0	A ²⁾	A	"	do.	"	"	"	"	f	0	+
5	"	"	"	"	AG	0	AC	"	"	"	"	"	"	f	0	+
8	A	A	A	0	0	A	AC ¹⁾	0	"	very thin growth	growth?	clear	"	f	0	0
9	AG	AG	AG	AG	0	DG	AC	G	"	whitish coli like	non liquefied do.	GT	GT	f	0	+
10	"	"	"	"	0	DG	"	"	"	whitish growth	"	GTsl.P	"	f	0	0
11	"	"	"	"	AG	AG	"	"	"	do.	"	GTP	"	f	0	+
12	"	"	"	"	"	"	"	"	liquef. slight 38 days	thick white growth	sl. liquefied	GTP	"	f	0	+

No. 8 A streptococcus

Table VIII. Mariamma. Tamil. Female attendant at clinic. Age 35 years. Diet: Rice, fish, curry, vegetables, little meat. Stool plated on 29. V. 1909. Ten colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcitol	Saccharose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	0	0	AC	G	non-liquefied	whitish coli-like	non-liquefied do.	GTPsl.	GT	+	0	0
2	"	"	"	"	0	0	AS ³⁾	"	do.	whitish coli-like (thin)	"	"	"	+	0	0
3	"	"	"	"	0	0	" ³⁾	"	"	whitish coli-like	"	"	"	+	0	0
4	"	"	"	"	0	0	" ³⁾	"	"	do.	"	GT	"	+	0	0
5	"	"	"	"	AG	AG	AC	"	"	"	"	"	"	+	0	0
6	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0
7	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0
9	"	"	"	"	0	0	"	"	very slowly liquefied	very slow liquef. do.	"	GTsl.P	"	f	0	+
10	"	"	"	"	0	0	"	"	do.	thick white moist	non-liquefied	"	"	+	0	+
11	"	"	"	"	0	"	"	"	non-liquefied	"	sl. = slight.	"	"	+	0	+

1) Clot after 13 days. 2) Ac. after 7 days. 3) Complete separation. Practically all clear whey.

Table IX.
Arumogam. Tamil Coolie. Age 36 years. Diet: Vegetables, fish, rice and curry. Stool plated on 31. V. 1909.
Ten colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcite	Saccha-rose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AC	G	non-liquefied do.	whitish coli-like do.	non-liquefied do.	GT	GT	+	0	0
2	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0
3	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0
4	"	"	"	"	"	"	"	"	"	whitish (rather thick)	"	"	"	+	0	0
5	"	"	"	"	"	0	"	"	"	whitish coli-like do.	"	"	"	+	0	0
6	"	"	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0
7	"	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0
8	"	"	"	AG	"	AG	"	"	"	whitish coli-like (thick)	"	"	"	+	0	0
9	"	"	"	"	"	"	"	"	"	whitish coli-like	"	"	"	+	0	0
10	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	0

Table X.
Singho Appu. Sinhalese. Age 45 years. Cook at clinic. Diet: Rice, curry, vegetables, meat. Stool plated on 31. V. 1909.
Twelve colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcite	Saccha-rose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	0	AG	AC	G	very slowly liquefied	thin whitish growth do.	non-liquefied do.	GT	GT	+	0	+
2	"	"	"	"	0	0	"	"	non-liquefied do.	"	"	GTP	GTP	+	0	+
3	"	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	GTP	GTP	+	0	+
4	"	"	"	"	0	AG	"	"	"	"	"	GTP	GTP	+	0	+
5	"	"	"	"	0	0	"	"	"	"	"	GTP	GTP	+	0	+
6	"	"	"	"	0	0	"	"	"	whitish (rather dry)	"	GTP	GTP	+	0	+
7	"	"	"	AG	"	AG	"	"	"	thin whitish growth do.	"	GTP	GTP	+	0	+
8	"	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	"	"	+	0	+
9	"	"	"	"	0	"	"	"	"	"	"	GTP	GTP	+	0	+
10	"	"	"	"	0	0	"	"	"	"	"	"	"	+	0	+
11	"	"	"	"	0	0	"	"	"	"	"	"	"	+	0	+
12	"	"	"	"	0	0	"	"	"	"	"	"	"	+	0	+

Table XI.
European. Resident in Colombo 8 months. Diet: General. Stool plated neutral 22. VI. 1909.
Twelve colonies taken for investigation.

No.	Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcitol	Saccharose	Litmus milk	Glucose agar	Gelatine	Agar	Serum	Broth	Peptone water	Indole	Gram	Motility
1	AG	AG	AG	AG	DG	AG	AC	G	non-liquefied do.	whitish moist do.	non-liquefied do.	GTP ¹⁾	GT	+	0	0
2	"	"	"	"	"	DG	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
3	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
4	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
5	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
6	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
7	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
9	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
10	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
11	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0
12	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GTP ¹⁾	"	+	0	0

1) = Pellicle formed after 5 days.
2) = Tiny bubble of gas 9 days.

Technique. The stools were collected in large sterile Petri dishes and plated almost immediately using ordinary agar. The plates were incubated at 35—37 centigrades for 48 hours, after which a certain number of colonies (9 or 10 for each individual) taken at random were further investigated, using various sugar media, etc.

The investigation has been limited practically to aerobic germs of the family bacteriaceae.

The details of the investigation are collected in the above 11 tables.

From the above tables it will be seen that the total number of colonies investigated was 114. This is not a large number but the time and labour involved in studying completely a single colony is such that the investigation could not be made larger.

The classification of intestinal bacteria is difficult owing to the various descriptions given of Coli and Coli-like bacilli: I follow Mac Conkey in his definitions of *B. coli communis* (Escherich); *B. neapolitanus*; *B. acidilactici*; *B. lactis aërogenes*; *B. cloacae*. In addition to the germs belonging to these groups, microorganisms were found belonging to various other groups.

The results of the whole investigation may be collected in the following table (Table XII).

Table XII.

Intestinal bacteria isolated	No. identified out of 114 colonies investigated	Cultural characters													
		Maltose	Glucose	Lactose	Mannite	Dulcitate	Saccharose	Litmus milk	Glucose agar	Liquefac. of gelatine	Liquefac. of serum	Motility	Indole	Gram	Voges-Proskauer's reaction
1. B. acidilactici (Hüppe)	9	AG	AG	AG	AG	0	0	AC	G	0	0	0	0	0	0
2. B. Grünhali (Cast.)	6	"	"	"	"	0	0	"	"	0	0	0	0	0	0
3. B. lactis aërogenes (Escherich)	4	"	"	"	"	0	AG	"	"	0	0	0	0	0	+
4. B. coli communis (Escherich)	6	"	"	"	"	AG	0	"	"	0	0	0	0	0	0
5. B. coli immobilis (Durham)	7	"	"	"	"	"	0	"	"	0	0	0	0	0	0
6. B. neapolitanus (Emmerich)	36	"	"	"	"	"	AG	"	"	0	0	0	± ⁴⁾	0	0
7. B. pseudo-coli (Cast.)	222	"	"	"	"	"	"	"	"	0	0	0	0	0	0
8. B. cloacae (Jordan)	4	"	"	"	"	0	"	"	"	0	0	0	0	0	+
9. B. entericus (Cast.)	3	"	"	"	"	AG	0	"	"	0	0	0	0	0	0
10. B. parventericus (Cast.)	7	"	"	"	"	"	AG	A	"	0	0	0	0	0	0
11. B. enteritidis (Gärtner)	1	"	"	"	"	0	A ²⁾	A	"	0	0	0	0	0	0
12. Undetermined	1	"	"	"	"	0	AG	AC	G	0	0	0	0	0	0
"	1	"	"	"	"	0	"	"	"	0	0	0	0	0	0
"	2	"	"	"	"	0	"	"	"	0	0	0	0	0	0
"	3	"	"	"	"	0	"	"	"	0	0	0	0	0	0
"	2	"	"	"	"	0	"	"	"	0	0	0	0	0	0
Streptococcus	1	"	"	"	"	0	"	"	"	0	0	0	0	0	0

A = acid, G = gas, C = clot.
 + = indicates production of indole, or motility of bacillus, or liquefaction of gelatine or serum, as the case may be.
 0 = negative result viz.
 Neither acid nor clot in milk.
 Neither acid nor gas in sugar media.
 No production of indole, non-motile.
 Non-liquefaction of gelatine or serum as the case may be.
 ± = sometimes negative, sometimes positive.

- 1) Tiny bubble gas after 9 days.
- 2) Acid after 7 days.
- 3) Liquefaction started 23 days.
- 4) Only 2 out of 36 gave indole 0.

Conclusion.

In 11 normal individuals — 9 of whom were natives — living in Ceylon, the typical *B. coli communis* (Escherich) was found to be extremely rare. The majority of the germs were represented by *B. neapolitanus*, *B. pseudocoli*, *B. acidi lactici* and *B. par-entericus*.

I wish to express my indebtedness to Mr. E. Burgess for much help given during this investigation.

Nachdruck verboten.

Studien über die Endolysine.

II. Ueber die Schutzwirkung in den Tierkörper injizierter Leukocyten und Leukocytenextrakte gegen Milzbrandinfektion.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der medizinischen Staatsanstalt in Stockholm.]

Von Prof. Dr. Alfred Pettersson.

Die Entdeckung der passiven Immunisierung bzw. Immunität durch Héricourt und Richet, sowie ihre weitere Ausarbeitung durch v. Behring und Pfeiffer führten zu einer genauen Untersuchung der schützenden Serumbestandteile durch das Einführen fremden Serums in den Körper des Versuchstieres. Diese Methodik hatte den Vorteil, daß die eigenen Schutzkräfte des Tieres mehr oder weniger vollständig ausgeschaltet werden konnten, da gewöhnlich mit größeren Multipla der tödlichen Dosen gearbeitet wurde. Es leuchtet sofort ein, daß dadurch viele Fragen in bezug auf die Immunität gelöst werden konnten, die bei Versuchen mit Infektions- oder Giftdosen, die die tödlichen nicht erreichen, nur schwer zu einer Entscheidung zu bringen gewesen wären.

Die Leukocyten aber hat man bis vor kurzer Zeit in bezug auf das Hervorrufen einer passiven Immunität einer Untersuchung nicht unterzogen. Ihre Wirkung wurde meistens in der Weise studiert, daß man das Verhalten der eigenen Zellen des infizierten Tieres beobachtete und aus den wahrgenommenen Vorgängen auf ihre Leistungen zu schließen suchte.

Schon vor 5 Jahren machte ich die Beobachtung, daß in den Tierkörper injizierte, fremde Leukocyten eine Schutzwirkung entfalten können (1). Eine Milzbrandinfektion beim Meerschweinchen wurde bei gleichzeitiger Injektion von Hundeleukocyten an derselben Stelle entweder aufgehoben, oder auch gingen die Leukocytentiere später ein als die Kontrolltiere. Etwas später konnte ich zeigen, daß die Injektion der Leukocyten sogar in der Blutbahn beim Kaninchen eine subkutane Milzbrandinfektion beeinflusste (2). Ferner gelang mir der Nachweis, daß das Einführen von Leukocyten, auch von artfremden Tieren, in die Bauchhöhle des Meerschweinchens eine sofortige Erhöhung der Widerstandsfähigkeit der Tiere, also eine passive Immunität, gegen Typhus-

9*

bacillen, die Metschnikoffschen Vibrionen und Choleravibrionen hervorrief (3). In bezug auf *Vibrio Metschnikowii* konnte ich auch feststellen, daß die Leukocyten aktiv immunisierter Tiere stärkere Schutzwirkung entfalten als die der normalen. Dies ist unlängst von Salimbeni (4) bestätigt worden.

Heilwirkung von injizierten Leukocyten konnte auch Opie (5) wahrnehmen. Er infizierte Hunde intrapleural mit Tuberkelbacillen von humanem Typus und spritzte danach gewöhnlich wiederholt Hundeleukocyten in die infizierte Brusthöhle ein. Er erreichte dadurch eine deutliche Verlangsamung der Infektion mit bestimmter Neigung zum Ausheilen.

In einer früheren Arbeit (6) habe ich einige physikalische Eigenschaften und die Konstitution der Endolysine untersucht. Die folgenden Versuche haben den Zweck, die Beeinflussung der Milzbrandinfektion durch injizierte Leukocyten bzw. Leukocytenextrakte näher zu studieren. Sie sind hauptsächlich mit Kaninchen angestellt worden. Da dieses Tier eine recht ungleiche Empfänglichkeit gegen Milzbrandinfektion zeigt, sogar gegen Infektionen mit verschiedenen Kulturen vom selben Stamme, so habe ich für jedes Versuchstier auch ein Kontrolltier angezogen. Alle eingegangenen Tiere wurden seziert und der Milzbrand durch mikroskopische Untersuchung festgestellt. Die zur Infektion verwendeten Kulturen waren stets aus der Milz eines eben verendeten Kaninchens angelegt worden. Gewöhnlich wurde zu dem zur Kultur zu benutzenden Agar bei 65° inaktiviertes Kaninchenserum zugesetzt, und außerdem wurde die Agaroberfläche immer mit einer recht dicken Schicht zerquetschter Milzpulpa belegt. Wenn möglich, wurden höchstens 18 Stunden alte Kulturen benutzt. Die Infektionsdosis wurde im allgemeinen nicht kleiner als $\frac{1}{5000}$ Oese genommen. Dies ist freilich nicht die Dosis minima letalis der virulenten Milzbrandkultur für Kaninchen, aber unterhalb dieser Menge kommt es jedenfalls vor, daß die Tiere nicht regelmäßig eingehen.

Die Leukocyten wurden in gewöhnlicher Weise durch zweimalige Injektion von Aleuronatbrei bzw. Stärke- und Weizenmehlkleister in die Bauchhöhle gewonnen. Um die größte Ausbeute von roten Blutkörperchen freier Leukocyten zu erhalten, empfiehlt es sich, bei Katzen und Meerschweinchen nur Stärke- und Weizenmehlkleister zu injizieren. Beim Kaninchen dagegen setzt man mit Vorteil Aleuronat zu. Eine

Tabelle I.

Kaninchen mit normalen Kaninchenleukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	1,0 g	1440 g	lebt	1540 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{2500}$ "	1,8 "	1460 "	"	1470 "	† " 3 "
$\frac{1}{1200}$ "	2,5 "	1400 "	"	1400 "	† " 3 "
$\frac{1}{840}$ "	2,2 "	1360 "	"	1490 "	† " 3 "
$\frac{1}{320}$ "	2,2 "	1450 "	"	1460 "	† " 2 "
$\frac{1}{250}$ "	2,0 "	1450 "	"	1520 "	† " 3 "
$\frac{1}{180}$ "	2,0 "	1330 "	"	1330 "	† " 2 "
$\frac{1}{120}$ "	2,5 "	1570 "	"	1570 "	† " 2 "
$\frac{1}{80}$ "	3,0 "	1640 "	"	1640 "	† " 2 "
$\frac{1}{60}$ "	2,5 "	1600 "	"	1900 "	† " 2 "

Tabelle II.
Kaninchen mit normalen Katzenleukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	3,0 g	1930 g	lebt	2200 g	† nach 4 Tagen
$\frac{1}{2500}$ "	3,0 "	1810 "	"	2060 "	† " 3 "
$\frac{1}{1200}$ "	3,0 "	2110 "	† nach 4 Tagen	2200 "	lebt "
$\frac{1}{1200}$ "	3,0 "	2280 "	lebt	2400 "	† nach 4 Tagen
$\frac{1}{640}$ "	3,0 "	1570 "	"	1720 "	† " 2 "
$\frac{1}{320}$ "	3,0 "	1510 "	"	1550 "	† " 3 "
$\frac{1}{160}$ "	3,0 "	1420 "	"	1450 "	† " 2 "
$\frac{1}{100}$ "	3,0 "	1900 "	† nach 2 Tagen	1990 "	† " 3 "
$\frac{1}{100}$ "	3,0 "	2250 "	† " 2 "	2180 "	† " 2 "
$\frac{1}{80}$ "	3,0 "	1600 "	† " 7 "	1670 "	† " 2 "
$\frac{1}{40}$ "	3,0 "	1900 "	† " 3 "	1800 "	† " 2 "
$\frac{1}{20}$ "	3,0 "	1860 "	† " 4 "	2160 "	† " 3 "

Tabelle III.
Kaninchen mit normalen Hundeleukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{40}$ Oese	4,0 g	1700 g	lebt	1670 g	† nach 2 Tagen

Tabelle IV.
Kaninchen mit normalen Meerschweinchenleukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	2,0 g	1200 g	lebt	1320 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{2500}$ "	2,0 "	1310 "	"	1400 "	† " 2 "
$\frac{1}{1200}$ "	2,8 "	1450 "	"	1350 "	† " 2 "
$\frac{1}{640}$ "	3,0 "	1400 "	† nach 2 Tagen	1440 "	† " 2 "
$\frac{1}{320}$ "	2,0 "	1200 "	† " 3 "	1210 "	† " 3 "
$\frac{1}{160}$ "	3,0 "	1170 "	lebt	1150 "	† " 2 "
$\frac{1}{160}$ "	2,3 "	1400 "	† nach 4 Tagen	1430 "	† " 2 "
$\frac{1}{120}$ "	3,0 "	1450 "	† " 3 "	1270 "	† " 4 "
$\frac{1}{80}$ "	2,8 "	1500 "	† " 2 "	1500 "	† " 1 "
$\frac{1}{80}$ "	3,0 "	1240 "	† " 3 "	1400 "	† " 2 "

kleine Menge bakterienfreier Bouillon einer Tuberkelbacillenkultur erhöht beim Kaninchen auch die Zufuhr der Leukocyten. Um gute Resultate bei den Versuchen zu bekommen, müssen nur vom Blut möglichst freie Leukocyten verwendet werden. Ist das Exsudat blutig, so kann man besonders bei der Katze die roten Blutkörperchen durch Sedimentieren in einem hohen Gefäß zum größten Teil entfernen. Die Bacillen wurden vor der Injektion mit der bis 37° C erwärmten Leukocytenaufschwemmung genau gemischt. Das Leukocytenextrakt wurde in gewöhnlicher Weise durch mehrmaliges Einfrieren der Leukocyten mit Kochsalzlösung hergestellt (s. Tabelle I—VIII).

Tabelle V.
Kaninchen mit normalen Kaninchenleukocyten und Milzbrandbacillen intrapleurale injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	1,4 g	1290 g	lebt	1330 g	† nach 2 Tagen
$\frac{1}{2500}$ "	2,0 "	1240 "	"	1250 "	† " 1 Tage
$\frac{1}{1200}$ "	2,0 "	1170 "	"	1220 "	† " 1 "
$\frac{1}{640}$ "	2,0 "	1590 "	† nach 2 Tagen	2170 "	† " 2 Tagen
$\frac{1}{640}$ "	2,5 "	1370 "	lebt	1470 "	† " 3 "
$\frac{1}{320}$ "	2,0 "	1200 "	"	1270 "	† " 1 Tage
$\frac{1}{240}$ "	2,0 "	1310 "	† nach 1 Tage	1320 "	† " 1 "
$\frac{1}{240}$ "	2,5 "	1870 "	lebt	1950 "	† " 1 "
$\frac{1}{160}$ "	2,5 "	1150 "	"	1160 "	† " 2 Tagen
$\frac{1}{120}$ "	2,0 "	1800 "	† nach 5 Tagen	1560 "	† " 2 "
$\frac{1}{80}$ "	2,5 "	1800 "	† " 3 "	1840 "	† " 2 "

Tabelle VI.
Kaninchen mit normalen Kaninchenleukocyten und Milzbrandbacillen intraperitoneal injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	2,0 g	1480 g	lebt	1690 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{2500}$ "	2,0 "	1700 "	"	1520 "	† " 2 "
$\frac{1}{1200}$ "	1,8 "	1510 "	"	1700 "	† " 2 "
$\frac{1}{640}$ "	2,0 "	1560 "	"	1620 "	† " 1 Tage
$\frac{1}{320}$ "	2,0 "	1690 "	"	1540 "	† " 2 Tagen
$\frac{1}{160}$ "	2,0 "	1750 "	† nach 4 Tagen	1630 "	† " 1 Tage
$\frac{1}{120}$ "	3,0 "	2040 "	lebt	2040 "	† " 3 Tagen
$\frac{1}{80}$ "	3,0 "	1250 "	"	1400 "	† " 1 Tage

Tabelle VII.
Kaninchen mit normalen Katzenleukocyten und Milzbrandbacillen intraperitoneal injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{1200}$ Oese	3,0 g	1450 g	† nach 3 Tagen	1520 g	† nach 2 Tagen
$\frac{1}{640}$ "	2,0 "	1200 "	† " 3 "	1260 "	† " 1 Tage
$\frac{1}{320}$ "	3,0 "	2380 "	lebt	1570 "	† " 1 "
$\frac{1}{240}$ "	3,0 "	1650 "	† nach 1 Tage	1740 "	† " 1 "
$\frac{1}{160}$ "	3,0 "	910 "	† " 2 Tagen	930 "	† " 2 Tagen
$\frac{1}{120}$ "	3,0 "	1780 "	† " 1 Tage	1780 "	† " 1 Tage
$\frac{1}{80}$ "	3,0 "	930 "	† " 2 Tagen	1040 "	† " 2 Tagen

Gruber und Futaki (7) sowie Preisz (8) sehen in der Kapsel des Milzbrandbacillus einen Schutz desselben gegen die keimtötenden Kräfte des Tierkörpers. Sobald die Kapsel ausgebildet worden ist, würde die Vermehrung im Tierkörper gesichert und die Infektion unvermeidbar sein. Nun ließ mein Milzbrandstamm in bezug auf Virulenz nichts zu wünschen übrig, doch war es immerhin möglich, daß die

Tabelle VIII.
Kaninchen mit normalen Kaninchenleukocyten und Milzbrandbacillen intravenös injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	1,5 g	1720 g	† nach 2 Tagen	1450 g	† nach 2 Tagen
$\frac{1}{3500}$ "	1,5 "	2050 "	† " 3 "	1610 "	† " 2 "
$\frac{1}{1700}$ "	1,5 "	2100 "	† " 3 "	1750 "	† " 2 "
$\frac{1}{640}$ "	1,2 "	2100 "	† " 5 "	2100 "	† " 2 "
$\frac{1}{370}$ "	1,4 "	1640 "	† " 2 "	1840 "	† " 2 "
$\frac{1}{180}$ "	1,4 "	1570 "	† " 2 "	1810 "	† " 2 "

tierischen Bacillen gegen die Wirkung der Leukocyten noch widerstandskräftiger waren als die Kulturbacillen. Ich stellte deshalb eine Versuchsreihe an, in der statt Agarkultur eine kleine Menge Milzpulpa eines eben verendeten Milzbrandkaninchens als Infektionsmaterial benutzt wurde.

Tabelle IX.
Kaninchen mit Milzpulpa von Milzbrandkaninchen und normalen Kaninchenleukocyten subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{50}$ Tropfen	2,0 g	1250 g	lebt	1250 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{40}$ "	2,5 "	1610 "	"	1620 "	† " 2 "
$\frac{1}{30}$ "	2,0 "	1500 "	"	1650 "	† " 2 "
$\frac{1}{20}$ "	2,0 "	1550 "	"	1590 "	† " 3 "
$\frac{1}{10}$ "	2,5 "	1200 "	"	1270 "	† " 3 "
$\frac{1}{10}$ "	2,5 "	1400 "	† nach 3 Tagen	1460 "	† " 2 "
$\frac{1}{5}$ "	2,0 "	1360 "	† " 2 "	1390 "	† " 2 "
$\frac{2}{5}$ "	2,0 "	1300 "	† " 2 "	1430 "	† " 1 Tage
1 "	3,0 "	1400 "	† " 2 "	1470 "	† " 2 Tagen

Es ist bemerkenswert, daß die Schutzwirkung der Leukocyten auch nicht gegen die tierischen Bacillen versagt. Ob diese gegen die Leukocyten widerstandsfähiger seien als die Kulturbacillen, läßt sich aus diesen Versuchen leider nicht bestimmt entscheiden, da es kaum möglich ist, die Menge Bacillen eines Tropfens der Milzpulpa zu bestimmen. Einen Anhaltspunkt für eine solche Annahme geben die Versuche meines Erachtens nicht. Im Reagensgläschen erwiesen sich in den Versuchen von Fiscoeder (9) die tierischen Kapselbacillen gegen Serumwirkung keineswegs widerstandsfähiger als kapsellose Kulturbacillen. In der Wirkung des Leukocytenextraktes im Reagensgläschen auf die beiden Arten Bacillen habe ich auch keinen bestimmten Unterschied gefunden. Es ist nicht wahrscheinlich, daß die Steigerung der Virulenz des Milzbrandbacillus auf eine Erhöhung seiner Resistenz gegen die keimfeindlichen Stoffe der Leukocyten ankommt. Wenn die Leukocyten nur in genügend enge Berührung mit den Bacillen kommen, so kann die keimfeindliche Wirkung der ersteren zu Erscheinung kommen. Wie ich früher hervorgehoben habe, ist auch der vollständige Mangel an Hyperleukocytose des Kaninchens bei der Milzbrandinfektion sicher ein beachtens-

wertes Moment bei dem Versuche zur Erklärung der Milzbrandempfindlichkeit des genannten Tieres.

Es geht aus den mitgeteilten Versuchen sofort hervor, daß die Leukocyten eine deutliche Schutzwirkung entfalten. Es ist ebenfalls klar, daß beim Kaninchen die Kaninchenleukocyten den größten Schutzeffekt hervorbringen. Die Katzenleukocyten wirken eigentlich nur subkutan eingeführt und die Meerschweinchenleukocyten sind noch weniger effektiv. Nun ist dieses Ergebnis sicher nicht zu verallgemeinern, denn solchenfalls würde daraus hervorgehen, daß die keimtötende Wirkung der Leukocyten in keiner Beziehung steht zur Widerstandsfähigkeit der Tiere, da die Katze ohne Zweifel gegen Milzbrandinfektion unempfindlicher ist als das Kaninchen. Es müßte deshalb untersucht werden, ob die Schutzwirkung von dem benutzten Versuchstiere beeinflusst wird, was von vornherein sehr wahrscheinlich war. Deswegen wurden auch beim Meerschweinchen Versuche mit Kaninchen- und Meerschweinchenleukocyten angestellt.

Tabelle X.

Meerschweinchen mit normalen Meerschweinchenleukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{1280}$ Oese	2,0 g	400 g	lebt	400 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{640}$ "	2,0 "	500 "	" "	500 "	† " 3 "
$\frac{1}{320}$ "	2,0 "	450 "	† nach 3 Tagen	450 "	† " 3 "
$\frac{1}{240}$ "	2,0 "	460 "	† " 3 "	460 "	† " 2 "
$\frac{1}{240}$ "	2,0 "	420 "	† " 3 "	450 "	† " 2 "
$\frac{1}{180}$ "	1,5 "	420 "	† " 3 "	420 "	† " 2 "

Tabelle XI.

Meerschweinchen mit normalen Kaninchenleukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{1280}$ Oese	1,5 g	420 g	lebt	420 g	† nach 2 Tagen
$\frac{1}{640}$ "	2,0 "	430 "	" "	440 "	† " 2 "
$\frac{1}{320}$ "	2,0 "	430 "	† nach 5 Tagen	430 "	† " 2 "
$\frac{1}{820}$ "	2,5 "	490 "	lebt	500 "	† " 2 "
$\frac{1}{340}$ "	1,5 "	440 "	" "	440 "	† " 2 "
$\frac{1}{180}$ "	1,5 "	390 "	† nach 3 Tagen	410 "	† " 2 "
$\frac{1}{120}$ "	2,5 "	340 "	lebt	340 "	† " 1 Tage

Die Kaninchenleukocyten wirken schwächer und unsicherer beim Meerschweinchen als beim Kaninchen. Die Meerschweinchenleukocyten entfalten dagegen ein wenig größere Schutzwirkung beim Meerschweinchen. Offenbar wirken die Leukocyten am besten bei artgleichen Tieren. Die Katzenleukocyten, die im Reagensgläschen eine stärkere Bakterizidie vom Milzbrandbacillus hervorrufen als die Kaninchenleukocyten, wirkten beim Kaninchen nur subkutan eingeführt, und obwohl ihre Menge größer war als die des Kaninchens, waren sie nicht imstande, gegen gleich hohe Infektionsdosen Schutz zu verleihen wie diese. Auf den Unterschied in der Schutzwirkung der Leukocyten bei artgleichen und artfremden Tieren komme ich später zurück.

Bei den mit Leukocyten und Milzbrandbacillen subkutan injizierten Kaninchen traten bisweilen, nicht immer, größere oder kleinere Knötchen mit käsigem Inhalt an der Injektionsstelle auf. Sie blieben sehr lange bestehen, ohne resorbiert zu werden. Oedematöse Schwellungen oder Hautnekrosen wurden beim Kaninchen nicht beobachtet. Bei den Meerschweinchen kamen, auch wenn sie die Infektion überstanden, Oedeme an der Injektionsstelle vor. Oefters entstanden Nekrotisierungen der Haut. Die Oedeme waren größer und die Nekrosen traten öfter bei den mit Meerschweinchenleukocyten als bei den mit Kaninchenleukocyten behandelten Tieren auf.

Wenn große Ansammlungen von Leukocyten im Tierkörper entstehen, so gehen die Eiterkörperchen bekanntlich allmählich zum Teil zugrunde. Dadurch werden keimtötende Stoffe frei und gehen in die umgebende Flüssigkeit über. In dieser gelingt es, sie bisweilen nachzuweisen. So beobachtete z. B. Bordet (10), daß die Flüssigkeit leukocytenreicher Exsudate im Reagensgläschen keimtötend auf Streptokokken wirkte, während das Blutserum desselben Tieres unwirksam war. Es ist deshalb von großem Interesse zu wissen, ob diese Stoffe auch im Tierkörper bakterizid wirken. Deshalb wurden nun statt der Leukocyten die mittels der Gefriermethode aus ihnen gewonnenen Extrakte zusammen mit den Milzbrandbacillen Kaninchen injiziert.

Tabelle XII.

Kaninchen mit Milzbrandbacillen und Extrakt von normalen Kaninchenleukocyten subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Menge der zum Extrakt verwendeten Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{5000}$ Oese	2,0 g	1120 g	lebt	1320 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{2500}$ "	1,5 "	1330 "	† nach 3 Tagen	1400 "	† " 2 "
$\frac{1}{1250}$ "	2,0 "	1420 "	lebt	1440 "	† " 3 "
$\frac{1}{1280}$ "	2,5 "	700 "	† nach 3 Tagen	750 "	† " 2 "
$\frac{1}{640}$ "	2,5 "	1350 "	† " 5 "	1480 "	† " 4 "
$\frac{1}{320}$ "	2,5 "	1140 "	lebt	1140 "	† " 3 "
$\frac{1}{160}$ "	3,0 "	1650 "	"	1650 "	† " 2 "
$\frac{1}{120}$ "	3,0 "	1050 "	† nach 4 Tagen	1230 "	† " 3 "
$\frac{1}{80}$ "	4,0 "	1550 "	† " 2 "	1550 "	† " 2 "

Tabelle XIII.

Kaninchen mit Milzbrandbacillen und Extrakt von normalen Katzenleukocyten subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Versuchstiere			Kontrolltiere	
	Extrakt von wieviel Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{630}$ Oese	3,0 g	2200 g	† nach 4 Tagen	1920 g	† nach 2 Tagen
$\frac{1}{320}$ "	3,0 "	2510 "	† " 1 Tage	2610 "	† " 3 "
$\frac{1}{160}$ "	3,0 "	1700 "	† " 2 Tagen	1610 "	† " 4 "
$\frac{1}{100}$ "	3,0 "	2650 "	† " 2 "	2920 "	† " 3 "
$\frac{1}{80}$ "	3,0 "	1900 "	† " 1 Tage	2130 "	† " 4 "

Aus den Tabellen geht hervor, daß das Extrakt der Kaninchenleukocyten tatsächlich Schutzwirkung entfaltet. Sie ist aber schwächer und unregelmäßiger als die der lebenden Leukocyten. Das Extrakt der Katzenleukocyten versagt dagegen beim Kaninchen gegen die hier gegebenen Dosen vollständig. Versuche mit intraperitonealer Einführung des Extraktes der Katzenleukocyten beim Kaninchen fielen in bezug auf Heilwirkung auch völlig negativ aus. Eher war eine Beschleunigung als eine Verlangsamung des Infektionsverlaufes dadurch zu bemerken.

Allein dürften die Endolysine unter natürlichen Umständen wohl selten in bemerkenswerter Menge im Tierkörper auftreten. Zusammen mit Leukocyten kommen sie wahrscheinlich in allen nicht ganz frischen Eiteranhäufungen vor. Es ist deshalb von Interesse zu wissen, ob sie auch imstande sein würden, die Schutzwirkung der Leukocyten zu unterstützen. Um dies zu untersuchen, wurden lebende Kaninchenleukocyten und Extrakt von solchen oder auch sowohl Extrakte als Leukocytenreste mit Milzbrandbacillen gemischt und unmittelbar darauf Kaninchen subkutan injiziert. Die Kontrolltiere erhielten die gleiche Menge Leukocyten und Milzbrandbacillen.

Tabelle XIV.

Kaninchen mit Kaninchenleukocyten, Leukocytenextrakt und Milzbrandbacillen subkutan injiziert.

Infektionsdosis	Menge der lebenden Leukocyten	Versuchstiere			Kontrolltiere	
		Menge der extrahierten Leukocyten	Gewicht	Ausgang	Gewicht	Ausgang
$\frac{1}{50}$ Oese	1,5 g	1,0 g	1440 g	lebt	1440 g	† nach 3 Tagen
$\frac{1}{40}$ "	1,0 "	1,0 "	1370 "		1430 "	† " 3 "
$\frac{1}{30}$ "	1,0 "	2,0 "	1900 "	† nach 3 Tagen	2000 "	† " 3 "

Die keimtötende Wirkung der Leukocyten hört mit ihrem Zerfalle nicht auf, sondern die Zerfallsprodukte unterstützen durch ihre keimfeindlichen Eigenschaften die Arbeit der noch lebenden Zellen zur Vernichtung der Milzbrandbacillen.

Wenn wir die wiedergegebenen Versuche überblicken, so ergibt sich aus ihnen, daß die in den Tierkörper eingeführten Leukocyten unzweifelhaft eine Schutzwirkung gegen Milzbrandinfektion entfaltet haben. Auch nicht die Meerschweinchenleukocyten stellen sich als wirkungslos dar. Dies steht in guter Uebereinstimmung damit, daß sie, wie Tsuda (11) unlängst nachgewiesen hat, auch im Reagensgläschen auf Milzbrandbacillen bakterizid wirken. Immerhin war ihre Wirkung der der Kaninchenleukocyten deutlich unterlegen. Dies stimmt mit der Resistenz der beiden Tiere gegen Milzbrand sehr gut überein. Die Katzenleukocyten waren in diesen Versuchen den Kaninchenleukocyten bedeutend unterlegen. Da ihre Wirkung aber nur bei einem artfremden Tiere untersucht wurde, kann kein richtiger Vergleich mit der der letzteren gemacht werden. Es dürfte keinem Zweifel unterliegen, daß die Katzenleukocyten bei der Katze den Kaninchenleukocyten in bezug auf Schutzwirkung gegen Milzbrand weit übertreffen würden.

Die Injektionsweise beeinflusst in hohem Grade die Heilwirkung der Leukocyten. Das beste Ergebnis wird bei subkutaner, das schlechteste bei intravenöser Einführung erhalten.

Wenn es als festgestellt angesehen werden darf, daß die injizierten Leukocyten Schutzwirkung gegen Milzbrandinfektion entfalten, so bleibt noch zu untersuchen, wie diese zustande kommt. Für die Annahme einer Vernichtung der Milzbrandbacillen durch die Gewebssäfte liegen meines Erachtens keine Anhaltspunkte vor. Freilich könnte man an eine von den Leukocyten hervorgerufene Exsudation bakterizider Flüssigkeit denken. Die Versuche sprechen aber gegen eine solche Deutung. Es ist wohl nicht zu verneinen, daß die Exsudation im allgemeinen stärker ist und schneller eintritt in der Bauchhöhle als in der Subcutis. Trotzdem war die Schutzwirkung besonders der Katzenleukocyten größer in dem Unterhautzellgewebe als in der Peritonealhöhle. Man würde dann zuerst gern an eine gesteigerte Phagocytose denken. Nun erleiden aber, wie u. a. Gruber hervorgehoben hat, hochvirulente Milzbrandbacillen beim Kaninchen keine ordentliche Phagocytose. In der letzten Zeit ist auch behauptet worden, daß die Leukocyten auf Milzbrandbacillen wirkende bakterizide Stoffe sezernieren. Die Bacillen würden dann außerhalb der Leukocyten durch diese Stoffe vernichtet werden. Schneider (12) will nämlich eine Methode, diese Sekretion nachzuweisen, gefunden haben. Durch Digestion der Leukocyten bei etwa 39° C mit 5-proz. Verdünnung vom Serum — gleichgültig ob homo- oder heterologen, ob Normal- oder Immunserum — bekommt er eine bakterizid wirkende Flüssigkeit. Diese Eigenschaft verdankt sie besonderen, mit den Serumalexinen nicht identischen Substanzen, die er „Leukine“ nennt. Als besondere Eigenschaften dieser Substanzen werden ihre große Hitzebeständigkeit und ihre Unlöslichkeit in Aether hervorgehoben. In beiden Hinsichten stimmen sie mit den Endolysinen überein. Diese Stoffe haben aber offenbar noch eine Eigenschaft gemeinsam. Von Kling ist in meinem Laboratorium der Nachweis erbracht worden, daß das Röntgenlicht die Endolysine unwirksam macht, während die Serumbakteriolysine davon nicht beeinflusst werden. Schneider hebt nun hervor, daß es ihm nicht gelungen ist, durch Röntgenbehandlung der Leukocyten bakterizide Stoffe aus ihnen zu bekommen. Da die polynukleären Leukocyten durch die Röntgenbehandlung geschädigt werden, müßten die Leukine in die Flüssigkeit übergehen; jedenfalls müßten sie im Extrakte vorkommen. Weder nach Röntgenbehandlung der Leukocyten noch nach Beleuchtung des Extraktes war eine Bakterizidie desselben zu bemerken. Daraus dürfte man zu dem Schlusse berechtigt sein, daß auch die „Leukine“ vom Röntgenlicht geschädigt werden. Direkte Versuche wurden selbstverständlich auch angestellt. Diese mißglückten aber, weil es mir bis jetzt nicht möglich war, auf meinen Milzbrandstamm wirksame Digeste von Kaninchenleukocyten zu bekommen. Weitere Versuche werden aber demnächst angestellt.

Bei einer solchen Uebereinstimmung stellen sich die Fragen von selbst auf: Ob die beiden Stoffe identisch und ob die „Leukine“ wirklich Sekrete sind. Von Schneider wird besonders betont, daß die 5-proz. Serumverdünnung als Reizmittel zum Hervorrufen der Sekretion der Leukocyten dient. Es ist aber zu bemerken, daß Schneider auch beim Behandeln der Leukocyten mit Kochsalzlösung ein wirksames Digest erhalten hat. Im allgemeinen gab aber die Digestion mit Serum-

verdünnung besseres Resultat. Damit ist aber nicht bewiesen, daß dies auf einen Reiz des Serums auf die Leukocyten ankommt. Freilich soll, nach Schneider, ein Aktivieren der inaktiven Serumverdünnung mit dem Leukocytendigeste nicht gelingen, demzufolge er die „Leukine“ für eigenartige Substanzen hält. Ich konnte aber vor einiger Zeit nachweisen, daß ein Reaktivieren des inaktiven Leukocytenextrakts mit nativen solchem öfters gelingt, woraus zu folgern ist, daß die Endolysine komplex sind. Werbitzky (13) hat dagegen keinen Effekt vom Zusatz frischer Leukocyten zu inaktivierten Leukocyten gefunden. Kling aber konnte in einer noch nicht veröffentlichten Untersuchung feststellen, daß nicht nur das inaktive Leukocytenextrakt, sondern auch das inaktivierte Serum durch das Leukocytenextrakt reaktiviert werden kann. Weil (14) gelang in sehr schöner Weise die Ergänzung von Meerschweinchen- und Rinder- sera mit Extrakt von Meerschweinchenleukocyten. Unlängst ist weiter von Tsuda (11) gefunden worden, daß die keimtötende Wirkung der Meerschweinchenleukocyten auf Milzbrandbacillen durch Zusatz von Meerschweinchenserum erhöht wird. In bezug auf die Kaninchenleukocyten habe ich selbst solche Ergänzungsversuche gemacht, von welchen ich ein paar wiedergebe.

Tabelle XV.

Kaninchenserum und 2,2 ccm Extrakt mit Kochsalzbouillon (4 : 1) von 2,0 g normalen Kaninchenleukocyten. Die Röhren wurden mit Kochsalzbouillon zu 1,0 ccm angefüllt. Einsaat: *B. anthracis*.

Inhalt der Röhren	Keimzahl sofort	Nach 3 Std.	Nach 7 Std.
1,0 ccm Kaninchenserum (= KS) erhitzt $\frac{1}{2}$ St. + 65°	68	148	4960
1,0 „ Kochsalzbouillon	70	194	1844
1,0 „ Leukocytenextrakt	71	2	0
0,8 „ inaktiviertes KS + 0,2 ccm Leukocytenextrakt	65	59	25
0,4 „ „ + 0,2 „ „		81	88
0,2 „ „ + 0,2 „ „		87	736
0,8 „ „ + 0,1 „ „		306	3370
0,4 „ „ + 0,1 „ „		284	4388
0,2 „ „ + 0,1 „ „		290	5914
0,8 „ Kochsalzbouillon + 0,2 „ „		270	4134

Tabelle XVI.

Kaninchenserum und 1,8 ccm Extrakt mit Kochsalzbouillon (4 : 1) von 1,7 g normalen Kaninchenleukocyten. Die Röhren wurden mit Kochsalzbouillon zu je 1,0 ccm angefüllt. Einsaat: *B. anthracis*.

Inhalt der Röhren	Keimzahl sofort	Nach 3 Std.	Nach 7 Std.
1,0 ccm Kaninchenserum (= KS) erhitzt $\frac{1}{2}$ St. + 65°	73	171	6115
1,0 „ Kochsalzbouillon	88	—	7441
1,0 „ Leukocytenextrakt	92	21	7
0,8 „ inaktiviertes KS + 0,2 ccm Leukocytenextrakt	75	53	24
0,4 „ „ + 0,2 „ „		71	208
0,8 „ „ + 0,1 „ „		461	> 5000
0,4 „ „ + 0,1 „ „		384	> 5000
0,8 „ Kochsalzbouillon + 0,2 „ „		412	Vermechrg.

Es ist nicht zu leugnen, daß der Zusatz von inaktiviertem Kaninchenserum zum Leukocytenextrakt seine keimtötende Wirkung bedeutend erhöht. Es ist folglich keineswegs ausgeschlossen, daß beim Digerieren

der Leukocyten mit verdünntem Serum die Ueberlegenheit des Digestes über den mit Kochsalzlösung erhaltenen auf ein Reaktivieren des Serumimmunkörpers mit Endolysinen aus abgestorbenen Zellen ankommen kann. Bei meinen Versuchen, die freilich bis jetzt hauptsächlich mit Milzbrandbacillen angestellt wurden, gab die Schneidersche Methode recht unregelmäßige Resultate und meistens war kein deutlicher Unterschied zu finden zwischen dem Digest der Leukocyten mit 5-proz. Serumverdünnung und dem mit Kochsalzbouillon, zu dem nachher 5 Proz. Serum zugesetzt worden war. Nur auf *Staphylococcus aureus* war, wie Lindahl in einer bald erscheinenden Arbeit zeigen wird, durch Digestion der Leukocyten mit verdünntem Serum oder Kammerwasser eine deutliche bakterizide Wirkung regelmäßig zu erhalten. Eine Erhöhung der Wirkung der Meerschweinchenleukocyten auf die Staphylokokken durch Zusatz von Serum hat auch Toyosumi (15) gefunden. Doch glaubt er nicht an eine Komplettierung des Serums.

Die Menge der keimtötenden Substanz, die mittels der Schneiderschen Methode gewonnen wird, widerspricht sonst nicht der Annahme, daß sie aus zerstörten Leukocyten stammen kann. Die Wirkung des Digestes war nämlich in allen meinen recht zahlreichen Versuchen im Vergleich mit dem des Extraktes der Leukocyten sehr gering. Als Beispiel gebe ich folgenden Versuch wieder.

Tabelle XVII.

1,0 g Kaninchenleukocyten wurde $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 39° C mit 2 ccm Kochsalzbouillon (4 : 1) digeriert. Die abzentrifugierten Leukocyten wurden wiederum mit 2 ccm einer 5-proz. Katzenserumverdünnung in gleicher Weise digeriert. Von den Leukocyten wurden schließlich mit Kochsalzbouillon 2 ccm Extrakt hergestellt. Einsaat: *B. anthracis*.

Inhalt der Röhren	Keimzahl sofort	Nach 3 Std.	Nach 7 Std.	Nach 21 Std.
1 ccm Kochsalzbouillon		187	2289	> 5000
1 „ Leukocytendigest mit Kochsalzbouillon		228	6105	> 5000
1 „ desgl. + 0,05 ccm inakt. Katzenserum		102	1971	> 5000
1 „ Leukocytendigest mit 5-proz. Katzenser.		276	356	> 5000
1 „ desgl.		208	ca. 2000	> 5000
1 „ Leukocytenextrakt	90—123	6	0	0
1 „ desgl.		7	1	0
1 „ inaktiviertes Katzenserum		280	> 5000	

Der Umstand, daß wiederholte Behandlung der Leukocyten mit 5-proz. Serum wirksame Digeste gibt, braucht also nicht zu beweisen, daß eine Sekretion stattfindet. Durch wiederholtes Extrahieren kann man auch mehrere wirksame Extrakte bekommen. Dies hat auch Tsuda (11) in bezug auf Hühnerleukocyten hervorgehoben.

Um zu beweisen, daß die Leukine wirklich Sekrete sind, hat Schneider Versuche gemacht, die Leukocyten in solche Zustände zu versetzen, die ihre sekretorische Tätigkeit aufheben würden, und die unter solchen Umständen erhaltenen Digeste auf ihre keimtötende Wirkung untersucht. Die Leukocyten wurden teils durch Kohlensäure in Asphyxie, teils mit Chloroform in Narkose gebracht. Bei dem letzteren Behandeln wurde ein wirksameres, bei dem ersteren dagegen ein schwächeres Digest als unter gewöhnlichen Umständen erhalten. Das Ergebnis der CO₂-Versuche betrachtet er als eine Stütze seiner Annahme, daß die bakteriziden Substanzen der Digeste Sekrete sind. Wird Kohlensäure durch

das Extrakt der Leukocyten geleitet, so entsteht ein deutlicher Niederschlag in der vorher klaren Flüssigkeit. Werden nun lösliche Substanzen im Extrakt durch die Kohlensäure ausgefällt, so ist es nicht undenkbar, daß die Kohlensäure die Oberfläche der abgestorbenen oder absterbenden Zellen durch Niederschlagsbildung derartig verändern kann, daß das Uebertreten der Endolysine in die Flüssigkeit erschwert wird. Ohne Einfluß auf die Leukocyten scheint die Kohlensäurebehandlung jedenfalls nicht zu sein. Schneider bemerkt selbst, daß sie danach wie geschrumpft aussahen.

Bei der Immunität gegen Cholera und Typhus kann die von Schneider angenommene Sekretion höchstens eine ganz untergeordnete Rolle spielen, da die Immunität auf ganz andere Substanzen ankommt. Auch in bezug auf andere Infektionserreger sprechen mehrere Beobachtungen gegen die allgemeine Bedeutung einer solchen Sekretion bakterizider Stoffe für die Abwehr der Infektion im Tierkörper. „Es ist übrigens nicht ganz leicht, aus der Arbeit Schneiders ein klares Urteil darüber zu bekommen, wie er sich den feineren Mechanismus der bakteriellen Resistenz und Immunität und die Beziehungen der Leukocyten zu diesen und dem Alexin bei den verschiedenen Tierspecies und den Mikroorganismen denkt.“ Bekanntlich wurde von Denys die Beobachtung gemacht, daß das defibrierte Blut von mit Milzbrand infizierten Hunden auf Milzbrandbacillen keimtötende Wirkung entfaltet, während das Blut normaler Hunde höchstens schwach entwicklungshemmend wirkt. Das Serum, sowohl unverdünnt als verdünnt, ist in beiden Fällen vollständig unwirksam. Des weiteren hat Hektoen (16) nachgewiesen, daß die Vernichtung von Milzbrandbacillen durch die Mischung von Serum und Leukocyten vom Hunde nach dem Erhitzen der letzteren bei 45° C aufhört, was unbedingt darauf hindeutet, daß die Vernichtung der Milzbrandbacillen in diesem Falle auf eine Lebenstätigkeit der Leukocyten ankommt. Da diese, wie aus dem vorigen hervorgeht, keine sekretorische sein kann, so muß man zunächst an Phagocytose denken.

Die Erscheinungen nach der Injektion von fremdartigen Leukocyten in den Tierkörper sprechen auch nicht für eine Bakterizidie durch keimtötende Sekrete im Sinne Schneiders. Aus der Schneiderschen Arbeit ist nicht zu entnehmen, daß ein Unterschied in bezug auf keimtötende Wirkung bestand zwischen dem Digeste der Leukocyten mit fremdartigem und solchem mit arteigenem Serum. Die Schutzwirkung fremdartiger Leukocyten im Tierkörper ist dagegen sicher geringer als die der arteigenen. Nun ist auch die Schutzwirkung des injizierten Leukocytenextraktes bedeutend geringer als die der lebenden Leukocyten. Dies stimmt auch nicht mit der Annahme einer Sekretion gut überein. Freilich enthält das Extrakt nicht die ganze Menge der keimtötenden Substanzen der Leukocyten, ein Teil bleibt immer in ihren Trümmern zurück, es ist aber dem Digeste Schneiders in ihrer Wirkung auf Anthraxbacillen so überlegen, daß unter Annahme einer Sekretion ein Unterschied nicht erwartet werden könnte.

Nach Injektion von Streptokokken zusammen mit Immunserum in die Bauchhöhle beim Kaninchen fand Bordet (10), daß eine bedeutende Anhäufung von Leukocyten entstand, ohne daß es anfänglich zu Phagocytose kam. Die Streptokokken gingen aber nicht extracellulär zugrunde, sondern vermehrten sich im Gegenteil. Nach einiger Zeit setzte sodann intensive Phagocytose ein und die Infektion wurde angehalten. In

älteren Anhäufungen von Leukocyten kommen freilich, wie Bordet nachgewiesen hat, bakterizide Stoffe in der Flüssigkeit vor. Diese entstammen offenbar gestorbenen Leukocyten. Bei Injektion von Streptokokken in eine normale Bauchhöhle ist aber trotz reichlicher Zufuhr von Leukocyten von einer Streptokokkenvernichtung nichts zu sehen, ehe die Kokken von den Leukocyten aufgenommen worden sind. Entweder geben also frische Leukocyten keine bakteriziden, auf Streptokokken wirkenden Stoffe ab, oder auch sind diese im Tierkörper unwirksam.

Ich halte die Annahme von Schneider, daß die lebenden unbeschädigten Leukocyten hitzebeständige, bakterizide Stoffe abscheiden, die von Aether nicht zerstört werden, insofern sie auf Milzbrandbacillen wirken würden, als nicht bewiesen. Die obigen Untersuchungen haben mir im Gegenteil weitere Stütze für meine früher dargestellte Ansicht gegeben, daß die Leukocyten keimtötende Stoffe enthalten, die Endolysine, die von den unbeschädigten Zellen nicht abgegeben werden¹⁾.

Wenn auch keine Sekretion bakterizider Stoffe stattfindet, scheint die Heilwirkung der injizierten Leukocyten jedoch an eine Lebenstätigkeit der Zellen gebunden zu sein. Was die Hunde- und Katzenleukocyten betrifft, so sind sie zur wirklichen Phagocytose der Milzbrandbacillen im Tierkörper befähigt. Ob alle Milzbrandbacillen von Leukocyten wirklich aufgenommen werden, ist natürlich schwer zu entscheiden. In bezug auf die Kaninchen- und Meerschweinchenleukocyten kann aber diese Lebenstätigkeit keine Phagocytose im gewöhnlichen Sinne sein. Virulente Milzbrandbacillen, geschweige denn tierische solche werden bekanntlich beim Kaninchen im allgemeinen nicht phagocytiert, sondern, wie Gruber es nennt, von den Leukocyten nur umklammert. Wahrscheinlich ist dies als eine der echten Phagocytose vergleichbare, auf die Vitalität der Leukocyten ankommende Erscheinung, eine sozusagen unvollständige Phagocytose zu betrachten. Wie dem auch sein mag, ist auch das Umklammern den Milzbrandbacillen sehr unheilvoll, wenn es in genügend großem Maßstabe stattfindet. Vielleicht wird dadurch verständlich, daß immer eine verhältnismäßig große Menge Leukocyten nötig ist, um die Schutzwirkung hervorzurufen. Beim Meerschweinchen schützen ein paar Gramm Kaninchenleukocyten sicher gegen 5 Oesen virulente Typhusbacillen. Bei Milzbrandinfektion vermag die gleiche Menge nur gegen einen kleinen

1) Ich kann bei dieser Gelegenheit nicht unterlassen, hervorzuheben, wie äußerst ungenau Schneider von meinen Arbeiten Kenntnis genommen hat. Wenn ich z. B. die Unlöslichkeit der Endolysine in Alkohol bezw. Alkohol-Aether nachgewiesen habe, so wird das bei Schneider zu Löslichkeit in diesen Mitteln. In Uebereinstimmung damit scheint er zu glauben, daß ich die Endolysine zu den Lipoiden rechnen will, was natürlicherweise vollkommen ausgeschlossen ist. Von den von mir hervorgehobenen Unterscheidungsmerkmalen zwischen den Endolysinen und den Serumbakteriolysinen hat Schneider die langsame Wirkungsweise der ersteren, die besonders dem Milzbrandbacillus gegenüber deutlich hervortritt, zu erwähnen unterlassen. Diese Eigenschaft scheidet doch sofort die auf den genannten Bacillus wirkenden Stoffe der Leukocyten von den analogen Substanzen des Serums. Trotz diesem und obwohl Schneider keine anderen Unterscheidungsmerkmale zwischen den Leukinen und den Serumbakteriolysinen gefunden hat als die, welche die Endolysine von den letzteren scheidet, ist er von der Eigenartigkeit der „Leukine“ fest überzeugt, während er die Verschiedenheit der Endolysine von den Serumstoffen für nicht genügend festgestellt hält. Wo Schneider schließlich gefunden hat, daß ich bestrebt gewesen bin, mit meinen Befunden und Anschauungen den Theorien von Bail gerecht zu werden, ist mir unverständlich. Aus meinen Arbeiten ist nichts Derartiges zu entnehmen.

Bruchteil einer Oese Schutz zu gewähren. Wird dagegen die große Virulenz des Milzbrandbacillus berücksichtigt, so fällt freilich der Vergleich zwischen der Schutzwirkung der Leukocyten gegen Milzbrandbacillen und der gegen Typhusbacillen nicht so schlecht aus. Die kleinste tödliche Dosis für Meerschweinchen von hochvirulenten Milzbrandbacillen wird in Millionstel Teilen einer Oese gerechnet. Wenn 2 g gegen $\frac{1}{250}$ Oese schützen, so entspricht das einer Schutzwirkung gegen die mehrtausendfache tödliche Dosis. Gegen Typhusbacillen schützt die gleiche Menge Leukocyten nicht gegen die hundertfache tödliche Dosis.

Daß die Leukocyten die stärkste Wirkung bei subkutaner Injektion haben, erklärt sich ungezwungen dadurch, daß sie dort mit den Milzbrandbacillen, in einem kleinen Raume eingeschlossen, in engste Berührung kommen. Bei intravenöser Einführung kann eine solche Berührung zwischen Bacillen und Leukocyten nicht vorkommen und deshalb bleibt die Heilwirkung der letzteren aus.

Wie die obigen Versuche zeigen, unterstützt das Leukocytenextrakt die Schutzwirkung der Leukocyten. Da es von vornherein denkbar war, daß das Extrakt die Phagocytose unterstütze, stellte ich mehrere Versuche sowohl im Reagensgläschen als im Tierkörper an, um zu sehen, ob das Leukocytenextrakt phagocytosebefördernd wirkt. Ich habe mich in keinem Falle von einer solchen Wirkung überzeugen können. Die Leukocytendigeste Schneiders wirkten auch nicht opsonisch. Auch in dieser Hinsicht stimmen die Endolysine mit den „Leukinen“ überein. Indirekterweise kann dagegen das Extrakt die Phagocytose natürlicherweise unterstützen. Die Bacillen erleiden durch seine Einwirkung Schädigungen und solche geschädigte Zellen verfallen den Phagocyten stets leichter als Beute.

Das Ueberstehen der Infektion durch Injektion von Leukocyten verleiht dem Tiere keine nennenswerte Resistenz gegen nachfolgende Infektionsversuche. Tiere, welche z. B. Injektionen von $\frac{1}{240}$ — $\frac{1}{160}$ Oese Milzbrandbacillen + Leukocyten überlebt hatten, gingen 2—3 Wochen später nach Injektion von $\frac{1}{2000}$ — $\frac{1}{1200}$ Oese ziemlich regelmäßig ein.

Die vorstehenden Untersuchungen haben folgende Resultate gegeben:

Gewaschene, frische Exsudatleukocyten sind, in den Tierkörper injiziert, imstande, eine bedeutende Schutzwirkung gegen Milzbrandinfektion zu entfalten.

Die Schutzwirkung findet sowohl gegen Kultur- als auch gegen „tierische“ Bacillen statt.

Der größte Schutzeffekt wird bei enger Berührung der Leukocyten mit den Bacillen erreicht.

Die stärkste Heilwirkung einer bestimmten Art Leukocyten wird beim artheigenen Tiere erhalten.

Auch die Leukocytenextrakte wirken schützend, aber schwächer und unsicherer als die zu ihrer Herstellung verwendete Menge Leukocyten. Zusammen mit Leukocyten injiziert, erhöht das Leukocytenextrakt ihre Schutzwirkung.

Das Leukocytenextrakt begünstigt nicht die Phagocytose der Milzbrandbacillen.

Die Vernichtung der Milzbrandbacillen dürfte nicht durch sezernierte bakterizide Stoffe stattfinden, sondern wird durch Phagocytose oder Umklammern der Bacillen von den Leukocyten hervorgerufen.

Literatur.

- 1) Pettersson, Alfred, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 36.
- 2) — —, ibid. Bd. 45.
- 3) — —, ibid. Bd. 40, 42 u. 50.
- 4) Salimbeni, A., Ann. Past. 1909.
- 5) Opie, Eugene L., The Journ. of experim. med. Vol. 10. 1908.
- 6) Pettersson, Alfred, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46.
- 7) Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907; Dtsche med. Wochenschr. 1907.
- 8) Preisz, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49.
- 9) Fiscoeder, F., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51.
- 10) Bordet, J., Ann. Past. 1897.
- 11) Tsuda, K., Arch. f. Hyg. Bd. 71.
- 12) Schneider, R., Arch. f. Hyg. Bd. 70.
- 13) Werbitzky, F. W., Arch. f. Hyg. Bd. 70.
- 14) Weil, E., Arch. f. Hyg. Bd. 70.
- 15) Toyosumi, H., Arch. f. Hyg. Bd. 71.
- 16) Hektoen, L., Transact. of the Chicago Pathol. Soc. Vol. 8.

Nachdruck verboten.

Immunisierungsversuche gegen Syphilis beim Kaninchen.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der
Kgl. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli).]

Von Dr. **Mario Truffi**, Dozenten.

Der von Metschnikoff und Roux gelieferte, ausschlaggebende Beweis für die Möglichkeit, die Syphilis auf Tiere erfolgreich zu übertragen, hat den experimentellen Untersuchungen über die Immunisierung gegen das syphilitische Virus das Feld eröffnet, Untersuchungen, die wohl schwerlich hätten angestellt werden können, solange das Versuchsmaterial ausschließlich vom Menschen zu beziehen war.

Die einzigen in dieser Richtung früher angestellten Versuche sind, soweit mir bekannt, diejenigen von Neisser, der sich vergebens bemüht hat, eine passive Immunität des gesunden Organismus durch subkutane Einspritzungen des Blutserums von Syphilitikern zu erzielen, ferner die von Casagrandi und De Luca, die mit Filtraten von spezifischen Affekten (Syphilom, Plaques muqueuses, tertiäre Manifestationen) Versuche über Immunisierung des Menschen angestellt haben, und zu dem Schlusse gelangt sind, daß solche Filtrate eine Immunität von sehr kurzer Dauer (ungefähr 20 Tage) gegen die syphilitische Infektion zu gewähren vermögen.

Metschnikoff und Roux hatten gehofft, eine Abschwächung des Virus durch dessen Uebertragung auf niedere Affen zu erzielen, und durch Inokulation eines solchen abgeschwächten Virus aktive Immunität hervorzurufen. Sie haben denn auch tatsächlich die Wahrnehmung gemacht, daß bei einigen Affenarten (*Macacus rhesus*) das in Serien eingeführte syphilitische Gift tiefgreifende Veränderungen erleidet, so daß es für eine

andere Affenart derselben Gattung (javanischer *Macacus*) abgeschwächt und für den Schimpanzen, das für Syphilis am allermeisten empfindliche Tier, unschädlich wird. Zur Bestätigung dieser Erfahrung wird von den erwähnten Autoren ein Fall von experimenteller und ein zweiter von vermutlich zufälliger Inokulation beim Menschen angeführt, wo das mehrere Generationen durch den Affenorganismus passierte Virus sonst nichts als leichte, schnell vorübergehende, keine allgemeinen Manifestationen nach sich ziehende Lokalläsionen hervorgerufen hat.

Die Möglichkeit einer Abschwächung des syphilitischen Keims beim Uebergang durch niedere Organismen wird auch von Finger und Landsteiner zugegeben, während Neisser, der zahlreiche einschlägige Versuche angestellt hat, noch eine zurückhaltende Stellung einnimmt.

Ebenso haben Metschnikoff und Roux zu ermitteln versucht, ob die Inokulation von durch Filter geschickten oder der Einwirkung der Hitze (1 Stunde bei 51 °) ausgesetztem syphilitischen Virus imstande sei, dem Schimpanzen eine Immunität zu verleihen. Die Versuche fielen jedoch vollständig negativ aus, analog denen von Finger und Landsteiner (Einführung von frischem oder durch Hitze abgetötetem menschlichen Virus, subkutan oder intramuskulär bei *Cynocephalus*). Neisser hat feststellen können, daß das unter die Haut, in die Venen, ins Peritoneum eingeführte syphilitische Virus keine Immunität gegen spätere kutane Inokulationen verleiht. Aehnliche Untersuchungen wurden von Bertarelli angestellt, in der Absicht, Kaninchen gegen die syphilitische Infektion der Hornhaut zu immunisieren.

Zu seinen Versuchen verwendete Bertarelli an Spirochäten reiche, in einem Mörser zerquetschte Kaninchenhornhäute, die er seinen Tieren wiederholt einspritzte (19mal im Laufe von 2 Monaten). Das Ergebnis dieser Versuche wird von Bertarelli selbst folgendermaßen kurz angegeben: „Mit der erwähnten Methode wird höchstens das Eintreten der Keratitis verzögert, doch halte ich dafür, es sei keine so große Aussicht vorhanden, auf diesem Wege zu einer wirklichen Immunisierung zu gelangen.“

Neisser hat den Versuch gemacht, die Immunität gegen den syphilitischen Keim dadurch zu erzielen, daß er Affen Extrakte von Organen syphilitischer Affen in physiologischer Kochsalzlösung injizierte. Unter sechs so behandelten Tieren zeigten sich fünf für die subkutane Inokulation des syphilitischen Giftes empfänglich, bei einem einzigen, einem *Cynocephalus babuinus*, fiel die Probe negativ aus.

Auf der Möglichkeit, durch subkutane Injektion von abgetötetem syphilitischen Material die Bildung von Antikörpern herbeizuführen, beruht auch das Verfahren der sogenannten ätiologischen Therapie der Syphilis, womit es Kraus und Spitzer angeblich gelungen ist, in zahlreichen Fällen den Verlauf der Infektion aufzuhalten. Hierbei ist jedoch zu bemerken, daß die optimistischen Angaben dieser beiden Autoren nicht bei anderen Untersuchern (Brandweiner, Kreibich, Krenn) vollen Anklang gefunden haben.

Eine antiluetische Therapie mit Filtraten von syphilitischen Auszügen wurde von Casagrandi und De Luca versucht, jedoch mit negativem Erfolge.

An Tieren wurden von Neisser Versuche über passive Immunisierung mit menschlichem Serum bzw. von syphilitisierten Affen angestellt; es ergab sich, daß das Blutserum, gleichgültig in welcher Menge,

keinerlei Immunität zu bedingen vermag. Metschnikoff und Roux hatten gleichfalls das Fehlen des Immunisierungsunvermögens bei Syphilitikerserum bemerkt. Dagegen haben sie die Wahrnehmung gemacht, daß in vitro das Blutserum eines Syphilitikers schädigend auf das Virus einwirken kann. Dafür scheinen auch die Versuche Hoffmanns und Prowazeks zu sprechen, welche Autoren gefunden haben, daß im Blutserum von Syphilitikern die Bewegungen der Spirochäten schneller gehemmt werden, als im Serum gesunder Individuen. Es darf aber dabei nicht übersehen werden, daß die Resultate Hoffmanns und Prowazeks von Landsteiner und Much in Frage gestellt wurden, und daß es Neisser nicht möglich gewesen ist, die unmittelbar schädliche Einwirkung des Serums von Syphilitikern oder desjenigen von Tieren mit natürlicher Immunität bzw. von solchen, die subkutan und endovenös mit syphilitischem Material inokuliert wurden, auf das syphilitische Virus zur Anschauung zu bringen.

Wenn auch die Ergebnisse der an Affen angestellten Versuche analoge Untersuchungen am Kaninchen nicht gerade versprechend erscheinen ließen, so habe ich doch nicht unterlassen wollen, auch an diesem Tiere, welches, wie neuere Untersuchungen erwiesen haben, gleichfalls für das syphilitische Virus empfänglich ist, einige Immunisierungsversuche zu unternehmen.

Diese Versuche beziehen sich sowohl auf die passive Immunität mittels Blutserum von seit längerer Zeit syphilitisch infizierten, zurzeit anscheinend geheilten Kaninchen, als auch auf das Zustandekommen einer aktiven Immunität durch subkutane Einführung einer Aufschwemmung von heredosyphilitischer Leber. Dazu wurde eine an Spirochäten sehr reiche Leber eines menschlichen Fötus in einem Mörser zerkleinert, durchsiebt und in dünner Schicht auf Glasplatten im Brutschrank bei 37° getrocknet; das so gewonnene Pulver wurde mit 0,85-proz. NaCl-Lösung im Verhältnis 1:20 aufgenommen.

Die eigentliche Impfung wurde bei dem Kaninchen stets am Scrotum, mitunter auch in der Supraciliargegend, und zwar in Hauttaschen vorgenommen; hierzu wurde Passagevirus (7. Passage) verwendet, wobei darauf geachtet wurde, für jede Serie das nämliche Virus zu benutzen. Die Diagnose der spezifischen Läsionen wurde stets durch die mikroskopische Untersuchung kontrolliert.

Versuche behufs Erzielung einer passiven Immunität.

Männliche Kaninchen, ca. je 2 kg schwer.

No. 1. (Kontrolle.) 20. Juli. Inokuliert am rechten Scrotum und in der rechten Supraciliargegend mit Virus von 7. Passage (Syphilom der Supraorbitalgegend).

5. Aug. Kleiner Knoten am Scrotum. Spirochätenbefund positiv.

3. Sept. Dickes Syphilom am linken Scrotum. Nichts in der Supraorbitalgegend.

23. Nov. Das Kaninchen geht zugrunde; es weist ein enorm großes, mit der Vaginalis verwachsenes Syphilom auf.

No. 2. (Kontrolle.) 20. Juli. Inokuliert wie No. 1.

10. Aug. Kleine Knoten an den Impfstellen des Scrotums.

9. Sept. Dickes Syphilom. Positiver Spirochätenbefund.

13. Nov. Das Syphilom ist geheilt.

No. 3. 19. Juli. Endoperitoneale Einführung von 3,5 ccm Kaninchenimmuns-
serum¹⁾.

20. Juli. Inokulation wie bei No. 1; beiderseits am Scrotum.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 52. p. 561. Das Serum stammt von Kaninchen No. 1, welches am 6. April mit negativem Erfolge reinokuliert worden war.

5. Okt. Die früher auffälligen Manifestationen sind nun seit einigen Tagen verschwunden.
2. Aug. Kleiner sklerotischer Knoten am linken Scrotum, Spirochätenbefund positiv.
5. Aug. Dgl. rechts. Beiderseits Inguinaladenitis.
- No. 4. 19. Juli. Endoperitoneale Injektion von Serum (1 ccm) desselben Kaninchens wie bei No. 3.
20. Juli. Inokulation wie bei No. 3.
19. Aug. Seit einigen Tagen sind kleine Sklerosen am unteren Pol beider Scrotalsäcke aufgetreten. Zahlreiche Spirochäten.
13. Nov. Sonst nichts wahrnehmbar als ein kleiner narbiger Knoten am linken Scrotalsack, wo ein recht deutlich ausgesprochenes Syphilom vorhanden war.
27. Nov. In der linken Scrotalhöhle findet sich ein anscheinend mit dem Nebenhoden verwachsener, in keinerlei Zusammenhang mit der Scrotalwand stehender harter, bohnen großer Knoten.
- No. 5. 19. Juli. Injektion wie bei No. 3 (4 ccm).
20. Juli. Inokulation wie bei No. 3.
19. Aug. Zur Wahrnehmung ist nur eine schnell vorübergehende bilaterale Läsion gelangt; doch positiver Spirochätenbefund. Geschwollene Inguinaldrüse links.
17. Nov. Seit einigen Tagen gewahrt man eine Anschwellung am unteren Pole des rechten Nebenhodens. Dieselbe hat allmählich an Volumen zugenommen, bis sie schließlich die gegenwärtige Größe einer großen Haselnuß erreicht hat. Während sie anfangs ganz frei lag, zeigt sie jetzt das Bestreben, am unteren Pol des Hodensackes zu adhären; sie ist hart und sieht höckerig aus.
- Angeschnitten hat sie das Aussehen eines in seinem zentralen Teile geschmolzenen Gumma. In der peripheren Zone gelingt es, mit dem Paraboloid viele *Spirochaetae pallidae* aufzufinden. In Präparaten, nach Volpino und Bertarelli sieht man in der Randzone massenhaft Spirochäten; im Zentralteile nur wenig tiefgreifend veränderte Spirochäten.
- No. 6. 8. Juni. Intraperitoneale Einspritzung von 6 ccm desselben Kaninchenimmunserums.
9. Juni. Inokulation mit Virus der 7. Passage, am Skrotum beiderseits.
26. Aug. Offenes Syphilom rechts.

Versuche behufs Erzielung aktiver Immunität.

Männliche Kaninchen, ca. je 1 kg im Gewicht.

- No. 1. (Kontrolle.) 9. Okt. Inokuliert mit Material vom Kaninchen 2 der vorhergehenden Serie, am Skrotum beiderseits.
21. Okt. Seit einigen Tagen machen sich beiderseits kleine Knoten mit Spirochäten bemerkbar. Inguinaladenitis.
30. Nov. Die Sklerosen sind allmählich dicker geworden. Je eine auf beiden Seiten von der Größe einer starken Linse.
- No. 2. 7. Okt. Subkutane Einspritzung von 2 ccm einer Aufschwemmung von menschlicher heredo-syphilitischer Leber.
8. Okt. Zweite Einspritzung von 1 ccm wie oben.
9. Okt. Inokulation wie bei No. 1.
21. Okt. Sklerotisches Knötchen am rechten Scrotum. Spirochätenbefund positiv.
31. Okt. Linsengroße Sklerosen beiderseits. Adenitis.
30. Nov. Voluminöse Syphilome (je eins auf beiden Seiten) von der Größe eines Zweicentimesstückes.
- No. 3. 7. Okt. Wie No. 2.
8. Okt. Zweite Einspritzung von 2 ccm.
9. Okt. Inokulation wie bei No. 1.
30. Nov. Der Verlauf ist wie bei Kaninchen No. 2 gewesen. Adenitis anfangs minder ausgesprochen. Es sind jetzt zwei große Syphilome vorhanden.
- No. 4. Injektionen und Inokulationen wie bei No. 3.
30. Nov. Große Syphilome beiderseits.
- No. 5. 7. Okt. Injektion wie bei No. 2.
8. Okt. Id. 2 ccm.
12. Okt. Id. 2 ccm.
13. Okt. 11 Uhr vorm. id. 2 ccm.
13. Okt. 6 Uhr abends Inokulation wie bei No. 1.
27. Okt. Das positive Resultat der Inokulation bereits wahrnehmbar.
12. Nov. Beiderseits Syphilome von der Größe eines Eincentimesstückes. Inguinaladenitis.

30. Nov. Enorm große Syphilome am Scrotum.
 No. 6 u. 7. Injiziert und inokuliert wie No. 5. Verlauf identisch.
 30. Nov. Bilaterale Syphilome von der Größe einer Haselnuß; ausgesprochene Inguinaladenitis.
 No. 8. 7., 8., 12., 13. Okt. injiziert wie No. 5.
 21. u. 22. Okt. Aermalige Injektionen von 2 resp. 3 ccm.
 12. Nov. Inokulation wie bei No. 1.
 23. Nov. Schon deutlich sichtbares positives Resultat.
 30. Nov. Die sklerotischen Läsionen haben die Größe einer Kicher erreicht. Bilaterale Adenitis.
 No. 9. Injiziert und inokuliert wie No. 8.
 30. Nov. Charakteristische bilaterale Läsionen, nur etwas weniger ausgesprochen als bei No. 8.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen ist demnach ein negatives gewesen. Weder die Injektion von Blutserum immuner Kaninchen, noch jene von beträchtlichen Mengen von heredo-syphilitischer Leber hat irgendwelche Immunität der so behandelten Tiere zur Folge gehabt. Denn ich glaube kaum, es lasse sich bei den Kaninchen 3, 4, 5 der ersten Serie die verhältnismäßig gutartige Natur der Läsionen an den inokulierten Stellen mit Sicherheit auf die Einführung von Serum zurückführen.

Der weitere Verlauf der Krankheit hat vielmehr — wenigstens bei einigen dieser Kaninchen — die Möglichkeit von weit ab vom Infektionsherde zustande kommenden schweren Veränderungen dargetan. Um aber dem Einwand zu begegnen, es sei der negative Erfolg meiner Versuche etwa der zu geringen Quantität des eingeführten Immunisierungsmaterials zuzuschreiben, wird es angebracht sein, weitere Versuche anzustellen, und hierbei größere Mengen dieses letzteren anzuwenden.

Bei der mit menschlicher erblich-syphilitischer Leber behandelten Kaninchenserie sind die Lokalerscheinungen mit einer viel größeren Intensität aufgetreten als bei den Kontrollkaninchen, was zu der Annahme veranlassen könnte, es sei die Einführung derartiger Produkte imstande, einen anaphylaktischen Zustand zu bedingen. Allein die Zahl meiner Versuche ist eine zu geringe gewesen, und andererseits ist die lokale Reaktion der verschiedenen Kaninchen der Einwirkung des Virus gegenüber eine so verschiedene, daß es wohl verfrüht wäre, daraus Schlüsse ziehen zu wollen.

Aus obigen Untersuchungen ergibt sich also, daß analog dem bezüglich der Affen Nachgewiesenen, die subkutane Einführung von Kaninchenimmunserum, bezw. von menschlichem, an abgetötetem, spirochätenreichem Material nicht die Macht besitzt, den Organismus des Kaninchens gegen die subkutane syphilitische Infektion zu schützen.

Literatur.

- Neisser, Was wissen wir von einer Serumtherapie bei Syphilis? (Arch. f. Dermatolog. Bd. 44.)
 Metschnikoff u. Roux, Etudes expérimentales sur la syphilis. 2^e et 3^e mémoire. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Vol. 18. 1904.)
 Neisser, Die experimentelle Syphilisforschung. (Verhandl. d. Dtsch. Dermatolog. Gesellschaft. Bern 1906.)
 Finger u. Landsteiner, Untersuchungen über Syphilis an Affen. (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. Bd. 114. 1905.)
 — —, *ibid.* Bd. 115. 1906.

- Bertarelli, Intorno alle immunizzazione del coniglio verso la sifilide corneale. (Rivista d'igiene e Sanità pubblica. 1907. No. 20.)
 Kraus, R., Zur Ätiologie, Pathologie und experimentellen Therapie der Syphilis. (Wien. klin. Wochenschr. 1905.)
 Spitzer, Zur ätiologischen Therapie der Syphilis. (Wien. klin. Wochenschr. 1905 u. 1906.)
 Hoffmann, Dermatol. Zeitschr. Bd. 13. 1906. p. 565.
 Landsteiner u. Much, Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 45.
 Casagrandi e De Luca, Tentativi de profilassi e terapia antisifilitica coi filtrati amicrobici di manifestazioni sifilitiche etc. (Annali die Igiene speriment. 1906. Fasc. 1.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Agglutinationsmechanismus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau
(Direktor Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Professor Dr. **Robert Scheller**, Abteilungsleiter.

Die Entdeckung der Präzipitine durch R. Kraus veranlaßte bekanntlich Paltauf, mit diesen neuentdeckten Tatsachen den Mechanismus der Agglutination in Verbindung zu bringen. Nach Paltauf geschieht die Agglutination derart, daß das Entstehen der spezifischen Präzipitate primär erfolgt, während die eigentliche Zusammenballung (Agglutination) der Bakterien sich als sekundärer Vorgang charakterisiert.

Gestützt wird die Paltauf'sche Theorie durch bald darauf von Nicolle, sowie Kraus und Seng veröffentlichte Tatsachen.

Nicolle fand, daß heterologe Bakterien (Typhusbacillen) von einem Immunserum (Coli-Serum) agglutiniert werden, wenn ein für das Serum homologes Bakterienfiltrat (Coli-Bakterienfiltrat) zugesetzt wird. Des weiteren konnte Nicolle auch Agglutination von fein suspendierter anorganischer Substanz (Talk) erhalten, wenn er diese in ein Gemisch von Immunserum und homologem Bakterienfiltrat brachte. Auf Grund dieser Versuche kommt Nicolle zu einem der Paltauf'schen Theorie nahverwandten Standpunkt. Auch er sieht in der Agglutination einen sekundären mechanischen Vorgang als Folge der primär erfolgenden spezifischen Präzipitation. Nur läßt Nicolle diese Präzipitation nicht nur im freien Serum, sondern auch in den Hüllsubstanzen der Bakterien vor sich gehen und dadurch eine Verklebung der verschiedenen Bakterien untereinander zustande kommen.

Kraus und Seng kommen unter Bestätigung und Erweiterung der Nicolleschen Angaben zu einer ähnlichen Ansicht.

Eine große Zahl anderer Theorien, wie jener von Gruber, der ein Quellen und Klebrigwerden der Bakterienhüllen als das eigentliche Charakteristikum der Agglutination hinstellt, Löwit, Eisenberg und Volk, Bordet, Duclaux u. a. sei nur erwähnt.

Da auch jetzt noch die Diskussion über den Mechanismus der Agglutination nicht als beendet betrachtet werden kann, so dürfte die Mitteilung von diesbezüglichen Versuchen, die ich angestellt habe, von einigem Interesse sein.

Wird, wie der Versuch I zeigt, eine karbolisierte Aufschwemmung von Typhusbacillen in physiologischer Kochsalzlösung mit einer sicher agglutinierenden Dosis von Typhusimmunserum heftig geschüttelt, so

können wir ein Ausbleiben, resp. Verschwinden der Agglutination beobachten, des weiteren sehen, daß auch späterhin entweder keine oder höchstens nur eine geringere Agglutination eintritt.

Versuch I.

Eine karbolisierte Typhusbacillen-Kochsalzaufschwemmung wird mit einem agglutinierenden Typhusimmunserum (Titer 1:25000) so vermischt, daß die Bacillen in einer Serumverdünnung 1:200 suspendiert sind. Diese Mischung wird geteilt. Die eine Hälfte bereits ein wenig agglutiniert, wird in den Schüttelapparat gestellt, die andere Hälfte neben dem Schüttelapparat in Ruhe belassen. Das Resultat ist folgendes:

- 1) Kontrolle ungeschüttelt agglutiniert bereits nach 2 Minuten vollständig.
- 2) Die durch $\frac{1}{2}$ Stunde heftigst geschüttelte Portion ist nach Beendigung des Schüttelns gleichmäßig trüb, auch bei weiterer Beobachtung tritt keine Agglutination auf.

Dieses Resultat, das überdies mit Beobachtungen, die ich bereits früher an zufällig geschüttelten bereits agglutinierten Proben hier und da anstellen konnte, übereinstimmt, ist um so auffälliger, als es in scheinbarem Widerspruch mit den Angaben Dineurs steht, welcher durch Schütteln eine Beschleunigung der Agglutination erzielen konnte.

Da Versuch I mit karbolisierten Typhuskulturen angestellt ist, so könnte immerhin für meine eben mitgeteilten Resultate eine Schädigung der Bakterien durch das Karbol oder die Gegenwart des Karbols an und für sich verantwortlich gemacht werden.

Es werden daher zu Versuch II frische 18-stündige Typhusbacillenagarkulturen ohne Karbolzusatz angewandt; bei sonst gleicher Versuchsanordnung werden die gleichen Resultate, wie in Versuch I erzielt.

Versuch II.

Frische 18-stündige Typhusbacillenagarkulturen werden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und analog dem Versuche I mit derselben Serumverdünnung desselben Serums gemischt; die weitere Versuchsanordnung gestaltet sich wie in Versuch I. Das Resultat ist folgendes:

- 1) Kontrolle ungeschüttelt agglutiniert bereits nach 1 Minute vollständig.
- 2) Die durch $\frac{1}{2}$ Stunde heftigst geschüttelte Portion ist nach Beendigung des Schüttelns gleichmäßig trüb, auch späterhin keine Agglutination.

Da also der Karbolzusatz für den Ausfall des Versuches belanglos ist, so fragt es sich, wie denn der Widerspruch meiner Resultate mit den Angaben Dineurs zu erklären ist.

A priori muß man daran denken daß vielleicht die Intensität des Schüttelns bestimmend für das Versuchsergebnis ist.

Tatsächlich kann man sich davon überzeugen, daß selbst ein einigermaßen kräftiges Schütteln die Agglutination nicht nur nicht vereitelt, sondern vielleicht fördert, während bei sehr heftigem Schütteln, je stärker es erfolgt, um so besser ein Ausbleiben resp. Verschwinden der Agglutination erzielt wird.

Von dieser Erfahrung ausgehend, habe ich für meine Versuche stets sehr starke Erschütterungen angewandt.

Worauf beruht nun das von mir beschriebene Phänomen des Agglutinationsschwundes bei starkem Schütteln? Sind es die Bacillen, die vielleicht durch das heftige Schütteln ihre Agglutinabilität verlieren? Ist es das Serum, dessen Agglutinine vielleicht zerstört worden sind? Oder hat sich sonst etwas in den Beziehungen des Serums zu den Bacillen geändert?

Zunächst zeigt Versuch III, daß zu derartigen Schüttelgemischen von Bacillen und Serum erneuert agglutinierendes Serum zugesetzt werden kann ohne daß Agglutination eintritt; des weiteren sehen wir,

daß durch Zusatz von Typhusbacillen vollständige Agglutination der Schüttelprobe eintritt.

Versuch III.

A. die geschüttelte Karbolbacillen-Serumaufschwemmung aus Versuch I wird in Portionen geteilt:

- | | |
|---|-----------------------------|
| 1) Schüttelprobe allein | keine Agglutination. |
| 2) Schüttelprobe + agglutinierendes Serum | keine Agglutination. |
| 3) Schüttelprobe + Typhusbacillen | vollständige Agglutination. |

B. die geschüttelte Aufschwemmung frischer Typhusbacillen + Serum aus Versuch II wird in Portionen geteilt:

- | | |
|---|-----------------------------|
| 1) Schüttelprobe allein | keine Agglutination. |
| 2) Schüttelprobe + agglutinierendes Serum | keine Agglutination. |
| 3) Schüttelprobe + Typhusbacillen | vollständige Agglutination. |

Der Umstand, daß Zusatz von Serum zu den Schüttelproben in Versuch III keine Agglutination hervorruft, ist vorläufig in keiner Hinsicht beweisend, während die Tatsache der Auslösung eines Agglutinationsprozesses durch Zusatz frischer Typhusbacillen den Beweis dafür erbringt, daß in dem Serum des Schüttelgemisches wirksame Agglutinine erhalten geblieben sind; durch diese sind frisch zugesetzte Bacillen agglutiniert worden, und es ist dann vielleicht — nach Analogie mit den Nicolle'schen Ergebnissen — sekundär eine Agglutination der ganzen Schüttelprobe eingetreten.

Es lag nun nahe, experimentell zu untersuchen, wie die Agglutinationskraft des Serums allein einerseits, und andererseits die Agglutinabilität der Bacillen allein durch starkes Schütteln beeinflußt wird. Versuch IV gibt über die diesbezüglichen Resultate näheren Aufschluß.

Versuch IV.

Es werden durch 2 Stunden, gleichzeitig unter denselben Bedingungen, geschüttelt:

- 1) Aufschwemmung von Typhusbacillen allein;
- 2) dieselbe Typhusbacillen-Aufschwemmung + Immuns Serum (Verdünnung 1:500);
- 3) Immuns Serum 1:500 allein.

Neben dem Schüttelapparat werden als Kontrollen dieselben Proben wie 1), 2), 3) durch 2 Stunden ungeschüttelt unter sonst gleichen Bedingungen belassen:

- 1a) Aufschwemmung von Typhusbacillen allein;
- 2a) dieselbe Typhusbacillen-Aufschwemmung + Immuns Serum (1:500);
- 3a) Immuns Serum (1:500).

Ergebnisse des Versuches:

- I. Typhusimmuns Serum-Gemisch geschüttelt (Probe 2) keine Agglutination.
Typhusimmuns Serum-Gemisch Kontrolle (Probe 2a) vollständige Agglut.
- II. Typhusbacillen allein geschüttelt (Probe 1) werden von ISer. 1:25 000 agglut.
Typhusbacillen Kontrolle (Probe 1a) werden von ISer. 1:25 000 agglutiniert.
- III. Geschüttelte Immuns Serum-Lösung (Probe 3) agglutiniert TyBac. 1:25 000.
Kontroll-Immuns Serum-Lösung (Probe 3a) agglutiniert TyBac. 1:25 000.
- IV. Schüttelbacillen (Probe 1) werden von Schüttel Serum (Probe 2) 1:25 000 agglut.
- V. Zusatz von Typhusimmuns Serum zu Typhusbacillens Serum-Schüttelgemisch (Probe 2) bewirkt keine Agglutination.
Zusatz von frischen Typhusbacillen zu Gemisch 2) bewirkt sofortige Agglut.
Zusatz von geschüttelten Typhusbacillen zu Gemisch 2) bewirkt sofortige Agglutination.

Versuch V.

Agglutinierendes Typhusimmuns Serum (Verdünnung 1:200) wird versetzt:

- a) mit ungeschüttelter Typhusbacillen-Aufschwemmung;
- b) mit derselben Menge geschüttelter Typhusbacillen-Aufschwemmung.

Nach 1 Stunde Stehen wird zentrifugiert:

- Ursprüngliches Serum agglutiniert 1:25 000.
- Zentrifugiertes Serum aus Versuch a) agglutiniert 1:6400.
- Zentrifugiertes Serum aus Versuch b) agglutiniert 1:6400.

Also gleiche Absorption durch geschüttelte und ungeschüttelte Bacillen!

Wir ersehen aus den Resultaten des Versuches IV, daß zwar in dem Gemische von Bacillen und Serum durch starkes Schütteln die Agglutinabilität verschwindet, ja sogar eine bereits vollendete Agglutination dauernd aufgehoben wird; daß aber die einzelnen Komponenten, Bacillen und Serum, für sich allein geschüttelt, in ihrer Agglutinabilität bzw. Agglutinationskraft nicht verändert werden. Erwähnen möchte ich, daß in manchen Fällen nach längerem Stehen in den Schüttelproben Agglutination wieder auftritt, die freilich stets nur unvollständig bleibt.

Des weiteren binden, wie Versuch V ergibt, geschüttelte Bacillen ebensoviel Agglutinin wie ungeschüttelte Bacillen; hierdurch wird uns die Möglichkeit genommen, Aenderungen im Rezeptorenapparat als Ursache für das geschilderte Desagglutinationsphänomen verantwortlich zu machen.

Worin besteht denn nun die durch das Schütteln bedingte Störung im Mechanismus der Agglutination, wenn wir annehmen müssen, daß im wesentlichen die einzelnen Komponenten in ihrem Verhältnis zur Agglutination ungeschädigt sind, und daß andererseits auch die der Agglutination zugrunde liegende chemische Reaktion eintritt?

Am besten können wir wohl die Vorgänge erklären, wenn wir mit Paltauf und Nicolle die Präzipitation als das Primäre auffassen. Wenn wir annehmen, daß die Präzipitate in statu nascendi die Agglutination hervorrufen, so könnten wir es begreifen, daß wenn diese Präzipitate in statu nascendi oder vielleicht auch noch nach ihrer Bildung homogenisiert werden, die Agglutination ausbleibt.

Ist diese Annahme richtig, so muß es sich erweisen, daß für das Resultat die Dauer des Schüttelns weniger maßgebend ist, als der Zeitpunkt, wann geschüttelt wird. Es müßte sich zeigen, daß ein kurzes Schütteln des Gemisches zu Beginn der Agglutinationsreaktion aus dem Grunde die Agglutination nicht aufheben kann, weil zu dieser Zeit der Status nascendi des Präzipitates noch nicht beendet ist, und daß die Agglutination um so mehr beeinträchtigt wird, je später dies Schütteln erfolgt. Ferner müßte ein Aufheben des supponierten homogenen Zustandes der primären Präzipitate sofortige Agglutination zur Folge haben; dies müßte z. B. nach Zentrifugieren der Fall sein.

Versuch VI.

Eine Typhusbacillenserum-Aufschwemmung (1:500) wird schnellstens in die Portionen a) bis f) geteilt und zu verschiedenen Zeiten nach Aussetzen der Reaktion stärkstens geschüttelt.

Probe a)	Kontrolle	nicht geschüttelt				agglutiniert vollständig,
" b)	sofort	1 Min. stärkstens geschüttelt				agglutiniert fast vollständig,
" c)	nach 5 Min.	1 Min. stärkstens geschüttelt				spurenweise Agglutination,
" d)	" 10 "	1 " " "	" "	" "	" "	keine Agglutination,
" e)	" 20 "	1 " " "	" "	" "	" "	" "
" f)	" 30 "	1 " " "	" "	" "	" "	" "

In Versuch VI finden wir den ersten Teil unserer aprioristischen Annahme bestätigt. Bei frühem kurzen Schütteln können wir ein mehr oder minder starkes Wiederauftreten der Agglutination beobachten; ein Schütteln, das später als 5 Minuten nach Ansetzen der Reaktion erfolgt, hebt die Agglutination vollständig auf.

Versuch VII.

Eine nicht agglutinierte geschüttelte Typhusbacillenserum-Aufschwemmung (1:500) wird zentrifugiert; es tritt eine überaus feste Agglutination ein, die nur durch stärkstes Schütteln zu lösen ist.

Diese mit Agglutinin beladenen und wiederholt gewaschenen Typhusbacillen werden stark geschüttelt, wodurch die durch das Zentrifugieren entstandene Agglutination aufgehoben wird. Hierauf wird in verschiedenen Konzentrationen neues Typhusagglutininserum hinzugesetzt.

Kontrolle:

Typhusserum + TyBac. norm.	Typhusserum + Versuchstyphusbac.
1:500 agglutiniert vollständig	1:500 agglutiniert unvollständig
1:1000 " "	1:1000 " spurenweise
1:1500 " "	1:1500 " nicht
1:3200 " "	1:3200 usf. " nicht
1:6400 " "	
1:12 800 " fast vollständig	
1:25 600 " unvollständig	

In Versuch VII sehen wir eine Bestätigung unserer zweiten Folgerung, nämlich daß durch Zentrifugieren eine starke, feste Agglutination eintritt, die im Gegensatz zu der sonstigen aspezifischen Klumpung durch Zentrifugieren und stärkstes Schütteln zu lösen ist.

Außerdem zeigt uns Versuch VII, daß die von Serum befreiten Bacillen derartiger Schüttelgemische ihre Agglutinabilität auch bei Zusatz von frischem agglutinierendem Serum zum großen Teil eingebüßt haben. Dies Ergebnis, das in Uebereinstimmung steht mit den Resultaten des Versuches III, spricht dafür, daß das Agglutinogen der Bacillen, obzwar keine Agglutination zustande kommt, in den betreffenden Schüttelgemischen vollständig mit Agglutinin abgesättigt ist.

Versuch VIII.

Zusatz von Typhusserum (T: 1:25000) und Paratyphusserum, welches Typhusbacillen (1:1000) agglutiniert, zu der geschüttelten Typhusbacillenserum-Aufschwemmung (1:500).

Geschüttelte TyBac.-Serumaufschwemmung zeigt keine Agglutination.

Geschüttelte TyBac.-Serumaufschwemmung + TySer. 1:500 zeigt keine Agglut.

Geschüttelte TyBac.-Serumaufschwemmung + ParatySer. 1:200 zeigt keine Agglut.

Wir sehen, daß wie Versuch VIII zeigt, auch für das Typhuspartialagglutinin eines Paratyphusserums in unserem Schüttelgemisch kein disponibles freies Agglutinogen vorhanden ist. Dieser Befund gibt zu Schlußfolgerungen Veranlassung, die ich vorläufig unbesprochen lassen will.

Es sei hier nur in Kürze eine Beobachtung gestreift, die ich bei der Agglutination geschüttelter Typhusbacillenkulturen hier und da machen konnte.

Schüttelt man einen Teil einer Typhusbacillen-Aufschwemmung und bringt sowohl den geschüttelten als auch den ungeschüttelten Teil mit agglutinierendem Serum zusammen, so sieht man zwar, wie bereits oben erwähnt, an den geschüttelten Bacillen eine unveränderte Agglutinabilität und Agglutininavidität, allein man kann häufig im Gegensatz zur Kontrolle (ungeschüttelte Bacillen + Serum) beobachten, daß die geschüttelten Bacillen eine makroskopische Fadenreaktion geben; daß diese nicht so zufällig zustande kommt, als es scheinen könnte, geht aus dem Umstande hervor, daß derartige unter Fadenreaktion agglutinierte Proben nach nicht zu starkem Aufschütteln wiederum Fadenreaktion geben, während die Kontrollen, wenn aufgeschüttelt, wiederum, wie zuvor körnig-flockig agglutinieren.

Für unsere Annahme, daß die Präzipitate in statu nascendi die Ursache der Agglutination sind, sprechen auch die Ergebnisse einiger Versuche, die ich in folgendem schildern will. Diese Versuchsreihen sind in Anlehnung an die oben beschriebenen Versuche Nicolles an- gestellt.

Versuch IX.

Colistamm K + Coli K-Serum	vollständige Agglutination von Coli K
Hammelblutkörperchen + Coli K-Serum	keine Agglutination der Hammelblutkörperchen
Hammelblutkörperchen + Coli K-Serum + Zusatz von geringer Menge Coli K	vollständige Agglutination der Hammelblutkörperchen viele Blutkörperchen-Klumpen zeigen keine oder geringe Beteiligung von Colibacillen

Versuch X.

Typhusbacillen + Coli K-Serum	keine Agglutination
Typhusbacillen + Coli K-Serum + Zusatz geringer Menge Coli K	vollständige Agglutination der ganzen Aufschwemmung

Werden, wie Versuch IX zeigt, zu einem Gemisch von Agglutininserum und homologen Bacillen rote Blutkörperchen, die von dem Serum allein nicht agglutiniert werden, hinzugesetzt, so tritt eine Agglutination der roten Blutkörperchen ein. Ebenso werden heterologe Bacillen bei Gegenwart eines Agglutinogen-Agglutiningemisches agglutiniert (Versuch X).

Es sind in Versuch IX und X im Gegensatz zu Nicolle, der homologe Bakterienfiltrate anwendet, die Bakterien selbst verwandt worden, doch konnte ich mich durch mikroskopische Beobachtung überzeugen, daß die homologen Bakterien an und für sich keine wesentliche Rolle für die Agglutination der heterologen Elemente spielen, da die roten Blutkörperchen zum großen Teil ohne wesentliche Beimengungen von Bacillen agglutiniert waren; es kann daher wohl ausgeschlossen werden, daß die Agglutination der roten Blutkörperchen im wesentlichen eine Folge des Mitgerissenwerdens durch die agglutinierten Bacillen sei, sondern man kann in Anlehnung an den Nicolleschen Standpunkt annehmen, daß auch bei unserer Versuchsanordnung die Agglutination der heterologen Elemente sekundär durch eine primäre Präzipitation der homologen Elemente erfolgt.

Die Agglutination solcher nicht spezifischen Elemente ist niemals so fest, wie jene der homologen Elemente. Es ist dies eine Tatsache, auf welche wir bei unseren Betrachtungen noch werden zurückkommen müssen.

Auf Grund dieser eben erwähnten Versuche war nunmehr die Möglichkeit gegeben, einen Schritt weiter zu gehen.

Sind hier tatsächlich die primären Präzipitine an der sekundären Agglutination der fremdartigen Elemente schuld, so muß es möglich sein, durch verschiedenzeitigen Zusatz der roten Blutkörperchen zu einem Agglutinationssystem (Bacillen + homologes Serum) in Analogie zu den Ergebnissen des Versuches VI die Agglutination der roten Blutkörperchen zu variieren. Es muß dann a priori angenommen werden, daß nur dann die Blutkörperchen agglutiniert werden dürften, wenn sie möglichst frühzeitig dem Bacillenserumgemisch zugesetzt werden.

Versuch XI.

Typhusbacillen + Typhusserum (Titer 1 : 25 000) 1 : 500 vollständige Agglutination.
Zu gleichen Proben dieses Gemisches werden rote Hammelblutkörperchen zu verschiedenen Zeiten zugesetzt:

a) vor Zusatz der Typhusbac.:	rote Blutkörperch.	vollständig agglutiniert
b) sofort nach Zusatz der Typhusbac.:	„	„
c) 1 Min. „ „ „ „	„	fast „vollständig“ agglut.
d) 5 „ „ „ „	„	unvollständig agglut.
e) 10–30 Min. nach Zusatz der Typhusbac. „	„	nicht agglutiniert.

Versuch XI bestätigt nicht nur unsere aprioristischen Annahmen, sondern zeigt sogar zeitliche Uebereinstimmungen mit dem analog angestellten Versuch VI. Rote Blutkörperchen werden in einem Agglutinationssystem (Serum + homologe Bacillen) suspendiert um so schlechter zusammengeballt, je später ihr Zusatz zu dem System erfolgt; auch hier, wo wir die Serumwerte ebenso hoch wie in Versuch VI genommen haben, zeigt es sich, daß nach 5 Minuten für unsere Versuchsanordnung die Reaktionsphase beendet ist, welche die Agglutination nicht auslöst.

Ueberblicken wir kurz unsere Versuche, so können wir bereits auf den ersten Blick einen inneren Zusammenhang der Ergebnisse feststellen.

Serum-Bacillengemische verlieren ihre Agglutinabilität teilweise oder gänzlich, wenn sie heftig geschüttelt werden, auch eine bereits eingetretene, feste Agglutination kann dauernd entweder gänzlich oder mindestens zum großen Teil durch Schütteln aufgehoben werden; es ergibt sich aber, wie weitere Versuche gezeigt haben, daß die beiden Komponenten, Bacillen und Serum, für sich allein geschüttelt, in Agglutinabilität bzw. Agglutinationskraft quantitativ unverändert bleiben. Auch sehen wir ferner, daß geschüttelte Bacillen ebenso viel Agglutinine binden wie ungeschüttelte.

Wir können also sagen, daß die die Agglutination auslösende chemische Reaktion trotz des Schüttelns eintritt, und daß es also wahrscheinlich einen rein mechanischen Grund haben dürfte, wenn dennoch durch das Schütteln Agglutination verhindert werden kann.

Wenn wir uns in Anlehnung an Paltauf und Nicolle vorstellen, daß die primäre Präzipitation es ist, welche mechanisch sekundär die Agglutination auslöst, so wird es uns jedenfalls wesentlich leichter, die oben beschriebenen, scheinbar paradoxen Resultate zu verstehen.

Unsere Vorstellung über den Mechanismus der Agglutination geht nunmehr dahin, daß die Präzipitate in statu nascendi sekundär die Agglutination der Bakterien bewirken. Ebenso können aspezifische Körper durch derartige spezifische Präzipitate sekundär agglutiniert werden. Wenn die Präzipitate homogenisiert werden, so unterbleibt der Agglutinationsprozeß, soweit darunter der augenfällige Endprozeß, das Zusammengeballtwerden der Bakterien, verstanden wird; oder es kann auch eine schon eingetretene Agglutination rückgängig gemacht werden. Das Schütteln hat daher, wie unsere Versuche zeigen, nur dann einen desagglutinierenden Erfolg, wenn es nicht zu früh, d. h. zu einer Zeit, in welcher noch weiter primäre Präzipitate gebildet werden, beendet wird. Andererseits werden aspezifische Körperchen nur dann von einem Agglutinationssystem (Serum + homologe Bakterien) agglutiniert werden, wenn ihr Zusatz zu dem Gemische noch zu einer Zeit, in welcher die die Agglutination auslösenden primären Präzipitate gebildet werden, also möglichst früh erfolgt.

Was für eine Rolle spielen bei der Agglutination die Bakterien? Sind sie an dem mechanischen Vorgange nur rein passiv beteiligt? Auch die Hauptvertreter der mechanischen Theorie Paltauf und Nicolle sind weit davon entfernt, den Bakterien bei der Agglutination eine solche rein passive Rolle zuzuschreiben.

Ja Nicolle verlegt sogar im Gegensatz zu Paltauf einen Teil des primären Präzipitationsvorganges in die äußeren Schichten des Bacillenleibes selbst.

Ich habe mich — es ist dies ganz sinnfällig — stets davon überzeugen können, daß die einem Gemisch von Bakterien und spezifischen Agglutininserum sekundär zugesetzten, für das betreffende Serum aspezifischen Blutkörperchen nur sehr locker agglutinieren, während dieselben Blutkörperchen mit ihrem spezifischen Agglutinin feste Verklumpung geben. Dasselbe kann man bei Bakterien beobachten, die einem Hämagglutinationssystem zugesetzt sind; auch hier erfolgt die sekundäre Agglutination der Bakterien durch das Blutkörperchen-Serumgemisch nur locker.

In beiden Fällen, sowohl bei der spezifischen als auch bei der aspezifischen Agglutination supponieren wir als Ursache des Zusammengeballtwerdens primäre spezifische Präzipitate. Wenn also dennoch der Effekt, wie wir gesehen haben, ein verschiedener ist, so werden wir darauf hingewiesen, daß die Bakterien resp. überhaupt die Zellen an und für sich bei der Agglutination durch spezifische Sera eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen, während die sekundäre Verklumpung artfremder Körper durch ein Agglutinationssystem rein passiv erfolgt.

Es hat wohl viel Bestechendes für sich, sich vorzustellen, daß die spezifische Präzipitation zum Teil auch in der Zelle vorgehe, der Diffusion von Präzipitogen aus der Zelle ins freie Serum parallel gehe eine teilweise Diffusion des Präzipitins in die Zelle. Gerade eine gewisse Kontinuität des Präzipitates innerhalb und außerhalb der Zelle durch die Poren der osmotischen Membran hindurch würde sehr gut die besondere Festigkeit der spezifischen Agglutination homologer Zellen erklären, und das Fehlen dieses Präzipitates in der Zelle die lockere Agglutination heterologer Elemente ganz plausibel erscheinen lassen. Allein gegen diese Annahme, die sich der Theorie Nicolles anschließen würde, sprechen doch gewichtige Momente. Man kann es sich nicht gut vorstellen, daß derartige Fällungen oder Gerinnungserscheinungen im Zellplasma ohne bedeutende Zellschädigung oder Zelltod verlaufen können. Die Erfahrung aber lehrt, daß die Bakterien durch die Agglutination nicht geschädigt werden; selbst die stärkste Konzentration von Agglutininen vermag nicht die Bacillen zu töten. Im Gegenteil, wir sehen, daß die agglutinierten Bacillen sich üppig vermehren können. Wir müssen daher, so verlockend auch die Nicollesche Annahme von Präzipitaten innerhalb der Zelle wäre, dennoch es versuchen, die feste Agglutination der homologen Elemente und die lockere Agglutination der fremdartigen Elemente anderweitig zu erklären.

Bei der Agglutination homologer Zellen tritt die eine, die Präzipitation bedingende Komponente, das Präzipitogen, aus der Zelle in das Serum. Es treffen daher überall der Oberflächenstruktur der Zelle folgend, sofort bei ihrem Austritt die Präzipitogene mit den Präzipitinen zusammen. Es werden daher die Präzipitate in viel intimerem Konnex mit der Zelle gebildet und bilden gewissermaßen eine den feinsten Struktureigentümlichkeiten der Zelloberfläche sich anpassende plastische Hülle. Die Folge davon ist dann eine feste Agglutination der homologen Elemente.

Bei der Agglutination heterologer Substanzen fehlt selbstverständlich das Moment, daß das Präzipitogen aus diesen Substanzen in das Serum diffundiert und infolgedessen sich die Präzipitate zum großen Teil von der Zelloberfläche aus bilden. Hier treten die sich bildenden Präzipitate von außen an die Zelle heran; sie reißen sie zwar auch mechanisch mit; die Verbindung mit den Zellen jedoch kann jedoch keine so feste sein,

wie im ersteren Falle. Daher ist die sekundäre Agglutination aspezifischer Elemente als Folge spezifischer Präzipitation nur eine lockere.

Ich bin, wie ich glaube, berechtigt, anzunehmen, daß meine Versuche einen neuen Beweis für die Paltauf'sche Annahme erbracht haben, daß die Agglutination sekundär auf Grund primärer Präzipitation erfolgt.

Ich möchte im Anschlusse daran einer Versuchsreihe Erwähnung tun, die ich im Zusammenhang mit den obigen Versuchen angestellt habe (Versuch XII).

Versuch XII.

Es werden Typhusbacillenagarkulturen mit je 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und miteinander vermischt, sodann werden gleiche Mengen dieser Aufschwemmung und einer Verdünnung 1:100 eines Typhusagglutininserums (Titer 1:25000) miteinander gemengt. Es sind also diese Typhusbacillen in einer Serumverdünnung von 1:200 suspendiert. Es wird nun bestimmt, wieviel Agglutinine diese Typhusbacillen binden a) bei gewöhnlicher Einwirkung des Serums auf die Bacillen; b) bei starkem Schütteln des Bacillen-Serumgemisches. Als Kontrolle wird die Bindung von Agglutinin durch gleiche Quantitäten allein geschüttelter Typhusbacillen bestimmt:

Serum allein	agglutiniert 1:25 000
Serum mit Typhusbacillen absorbiert, Zentrifugat	agglutiniert 1:12 000
Serum mit geschüttelten Typhusbacillen absorbiert, Zentrifugat	agglutiniert 1:12 000
Serum mit Typhusbacillen unter Schütteln absorbiert, Zentrifugat	agglutiniert 1:3000

Der Versuch XII bestätigt von neuem, was bereits in Versuch V festgestellt worden ist, daß heftig geschüttelte Typhusbacillen dieselbe Bindungsfähigkeit für Typhusagglutinin haben wie ungeschüttelte. Dennoch sehen wir nunmehr, daß durch das Schütteln die Absorption der Agglutinine wesentlich gestiegen ist; daß das Schütteln an und für sich die Absorption derart begünstigt haben sollte, ist deswegen nicht anzunehmen, weil nach dem 1-stündigen Schütteln sämtliche Proben noch 12 Stunden in der Kälte verblieben sind; nach dieser Zeit hätten wohl sämtliche Proben, wenn es sich um eine anfängliche Beschleunigung der Reaktion durch das Schütteln bedingt, gehandelt hätte, wiederum gleiche Absorptionsgrößen zeigen müssen.

Dieselben Bacillen können also ohne ihre Absorptionsfähigkeit, oder, um mit Ehrlich zu sprechen, ihren Rezeptorenapparat zu ändern, bei besonderer Versuchsanordnung unter quantitativ gleichen Verhältnissen verschiedene Menge Agglutinin binden.

Ich glaube, daß hier wohl die mechanische Isolierung der einzelnen Bacillen die Erhöhung der Absorption an Agglutininen bewirkt hat. Es ist ja selbstverständlich, daß einzeln liegende Bacillen eine größere Absorptionsoberfläche darbieten als dieselbe Menge zusammengeklumpter Bacillen, bei denen noch dazu wahrscheinlich sehr bald die innenliegenden Bacillen durch die in den äußeren Zonen des Klumpens sich entwickelnden Präzipitate einer Absorptionsmöglichkeit beraubt werden.

Solche rein mechanischen Momente dürften auch sonst nicht vernachlässigt werden; wenn wir z. B. in der Literatur lesen, daß schwer agglutinierbare Stämme besonders gut Agglutinine absorbiert haben, so dürfen wir nicht, wie es bis jetzt geschehen ist, daraus folgern, daß die betreffenden Stämme einen größeren Rezeptorenreichtum, infolgedessen ein größeres Agglutininbindungsvermögen sowie ein größeres Agglutininbedürfnis haben, und aus diesem Grunde, weil sie mehr Agglutinin brauchen, schlecht agglutinabel sind. Können denn nicht vielmehr nach

den Erfahrungen unserer Versuche manchmal die Dinge so liegen, daß die Stämme, weil sie schlecht agglutinabel sind und deshalb länger eine größere Absorptionsfläche für das Serum bieten, mehr Agglutinin absorbieren?

Läßt sich nicht vielleicht auch die mehrfach in der Literatur auftauchende Angabe, daß spontan agglutinierende Stämme wenig Agglutinin absorbieren, nicht durch die frühe Zusammenklumpung und hierdurch bedingte Verkleinerung der Absorptionsfläche erklären?

Ich will nicht behaupten, daß diese mechanischen Ursachen die einzigen für die in der Literatur beschriebenen Bindungsanomalieen sind, ich wollte nur durch die Mitteilung meiner Versuche den Beweis erbringen, daß für die Größe der Absorption auch mechanische Faktoren mitspielen und für die Beurteilung manche Erscheinungen berücksichtigt werden müssen. Es wird sich auch empfehlen, bei sonstigen Absorptions- und Resorptionsversuchen, z. B. mit bakteriziden Seris, die Möglichkeit eines Einflusses der Zusammenklumpung auf die Absorptions- resp. Resorptionsgröße nicht unberücksichtigt zu lassen.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Desinfektions- und Wohnungsdesinfektionsversuche mit besonderer Berücksichtigung von Autan und Formobas.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von Dr. med. **Ludwig Bitter**, Assistenten des Instituts.

Seit der Einführung des Autans in die Desinfektionspraxis sind außerordentlich zahlreiche Versuche über die Wirkung dieses Präparates angestellt worden, und zwar vornehmlich im Vergleich zu dem bestbewährten Formalinverdampfungsverfahren nach Flügge und dem fast gleichzeitig mit dem Autan in Deutschland bekannt gewordenen Kaliumpermanganatverfahren von Evans und Russel. Bald nach dem Bekanntwerden der neuen Methoden erschien eine Reihe von Arbeiten, die außer der übereinstimmenden Anerkennung der Bequemlichkeit und Gefahrlosigkeit bei jedoch verhältnismäßig hohen Kosten der Anwendung von Autan ziemlich entgegengesetzte Resultate zutage förderten. Wesenberg (1), Selter (2), Tomarkin und Heller (3), Frank (4), Proskauer und Schneider (5) erzielten bei mit Autan ausgeführten Zimmerdesinfektionen gute, zum mindesten aber befriedigende Erfolge, während Kirchgässer und Hilgermann (6), Nieter (7), Kirstein (8), Xyländer (9), Christian (10), Hammerl (11), Ingelfinger (12) und Bock (13) nur mäßige oder durchaus unzureichende zu verzeichnen hatten. Im Laufe der letzten Jahre haben die das Autan herstellenden Fabriken (vorm. Fr. Bayer & Co., Elberfeld und Leverkusen) den Preis des Desinfektionsmittels wesentlich reduziert, den Inhalt der Packung für die verschiedenen Raumgrößen vermehrt, den zu Irrtümern führenden Passus über Unnötigkeit vorheriger Abdichtung in den Gebrauchsanweisungen in das Gegenteil geändert, die Einwirkungsdauer von 5 auf 7 Stunden verlängert und die Packungen der wirksamen

Bestandteile modifiziert [Packung B (neu): Bariumsuperoxyd und Paraformgemisch gesondert, Packung A: Beide Bestandteile fertig gemischt]. Es sind nun die anerkennenden Urteile häufiger geworden [Fertig (14), Endres (15), Winter-Sammelreferat (16), Nieter (17)], immerhin bleiben aber nach wie vor eine ganze Anzahl Autoren übrig, die das Autanverfahren dem von Flügge nicht als ebenbürtig bezeichnen [Trautmann (18), Croner und Panke (19), Blasius und Bierrotte (20), Auerbach und Plüddemann (21)].

Auch über den Wert der Kaliumpermanganatmethode waren und sind die Meinungen trotz der anerkannten Einfachheit und Billigkeit geteilt. Zugestanden wird hier fast übereinstimmend die dem Breslauer Verfahren gleichwertige Desinfektionskraft derselben. Während aber Doerr und Raubitschek (22) die absolute Gefahrlosigkeit der Ausführung hervorhoben, berichteten Charles H. La Wall und Sam. G. Dixon (23) über 3 Fälle, in denen die entwickelten Formaldehyddämpfe sich kurz nach der Vereinigung von Kaliumpermanganat und Formalin von selbst entzündeten, nachdem der zu desinfizierende Raum bereits verlassen war. Auch nachdem man die Feuersgefahr durch die von Base (24) bzw. Doerr und Raubitschek (22) vorgeschlagene Mischung von gleichen Teilen Wasser, Formalin und Kaliumpermanganat, die vor allem eine sehr günstige Ausbeute von wirksamen Formaldehyddämpfen gewährt, beseitigt zu haben glaubte, zeigen uns Beobachtungen neuester Zeit, daß dieselbe trotzdem fortbesteht [Philipp (25)]. Als ein großer Mangel erscheint außerdem, daß eine Ammoniakentwicklung mit Hilfe von Kaliumpermanganat nicht möglich ist. Bei den von mir angestellten diesbezüglichen Versuchen habe ich die trotz ausgiebigster Lüftung in den oberen Teilen des Zimmers, besonders auch schon in Kopfhöhe, sehr lange zurückbleibenden Formaldehyddämpfe äußerst unangenehm empfunden, und auch in neueren Arbeiten wird die Notwendigkeit der Ammoniakentwicklung, wenn nicht besonders günstige Durchzugsverhältnisse in den mit Formaldehyddämpfen beschickten Zimmern vorhanden sind, als durchaus notwendig angesehen [Philipp (25), Blasius (26)].

Im hiesigen Hygienischen Institut habe ich seit längerer Zeit Desinfektionsversuche nach den erwähnten Methoden ausgeführt. Die Ergebnisse, trotz der schon vorhandenen Menge des Literaturmaterials hier mitzuteilen, scheint mir in Anbetracht der Wichtigkeit des vorliegenden Stoffes doch nicht für unangebracht. Auf eine erschöpfende Angabe der gesamten Literatur verzichte ich ebenso, wie auf eine genauere Beschreibung der verschiedenen Verfahren, die ich als bekannt voraussetze, und an deren oft beschriebene Ausführungsvorschriften ich mich genau gehalten habe.

Als Testobjekte wurden an Seidenfäden im Exsikkator über Chlorcalcium angetrocknete Mikroorganismen gewählt, die von 24 Stunden (bei Milzbrand von 48 Stunden) alten bei 36° bebrüteten Agarkulturen stammten. Die Herstellung geschah durch Einlegen der sterilen Seidenfäden in eine sehr gleichmäßige Aufschwemmung dieser Kulturen in 0,85-proz. Kochsalzlösung. Das Trocknen im Exsikkator dauerte 24 Stunden. Höchstens 48 Stunden alte Testobjekte nach dem ersten Verlassen des Exsikkators wurden verwendet. Die Resistenz der Milzbrandsporen gegen strömenden Dampf war gering (1—2 Minuten). Von den übrigen angetrockneten Bakterien wurde Typhus und Coli von einer 3-proz. Formalinlösung in weniger als 20, Paratyphus nach 20 und Staphylo-

coccus aureus nach mehr als 60 Minuten abgetötet. Die Widerstandsfähigkeit der genannten Keime gegen eine 5-proz. Kresolseifenlösung war, der außerordentlich intensiven Wirkung dieses Desinfektionsmittels auf alle Nichtsporenbildner, die auch an anderer Stelle von mir betont ist (27), entsprechend, nur eine geringe. Nur *Staphylococcus aureus* vermochte ihr länger als 10 Minuten zu widerstehen, war aber nach 15 Minuten getötet. Die anderen Fäden erwiesen sich schon nach 5 Minuten als steril. Die Widerstandsfähigkeit der bei einigen Versuchen verwendeten Diphtheriefäden ist auf diese Weise leider nicht geprüft. Zu einer Reihe von Versuchen wurden auch analog den Fäden hergestellte ca. 1 qcm große Leinwandläppchen gebraucht. Ich habe späterhin von einer Verwendung derselben abgesehen, weil sich zeigte, daß bei altem dünnen Leinen die daran haftenden Keime durch die oben erwähnten Desinfektionslösungen in derselben kurzen Zeit abgetötet wurden, wie die an den Seidenfäden. Außerdem sieht man in den Tabellen über die Zimmerdesinfektionsversuche, daß den Lämpchen keineswegs nach der Desinfektion häufiger lebende Keime anhaften, wie den Seidenfäden. Um die Tiefenwirkung zu prüfen, habe ich daher bei den späteren Versuchen die aus sterilisiertem Filtrierpapier bestehenden Hülsen, in die ursprünglich alle Testobjekte eingeschlossen waren, und die ganz kurz vor Beginn der Einwirkung des betreffenden Mittels geöffnet wurden, bei doppelter Anzahl der Testobjekte überhaupt zur Hälfte geschlossen gelassen. Außerdem wurden einige Male solche geschlossene Hülsen mit Seidenfäden in der Tasche eines im Desinfektionszimmer aufgehängten Rockes verborgen. Die Aussaaten wurden sofort nach Beendigung der Formaldehydeinwirkung bzw. der des Ammoniaks in ca. 10 ccm enthaltende Bouillonröhrchen ohne vorherige Spülung oder Neutralisierung gemacht. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig Lämpchen und Fäden derselben Herkunft ausgesät, die nicht den Formaldehyddämpfen ausgesetzt gewesen waren. Die Beobachtungsdauer der beschickten Röhrchen betrug 5 Tage. Es hat sich bei allen meinen Versuchen mit Desinfektionsdämpfen und -flüssigkeiten nämlich herausgestellt, daß eine Entwicklungsbehinderung mit nachträglichem Wachstum der Mikroorganismen höchstens 4 Tage währte. Ähnliche Erfahrungen hat auch Xylander (28) bei der Prüfung von Formalin- und Formoborlösungen gemacht.

Besondere Aufmerksamkeit wurde nach dem Vorbilde von Ingelfinger (12) den Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnissen zu Beginn, während und am Schlusse des Desinfektionsversuches geschenkt. Es wurde an einem an der Tür im Desinfektionszimmer befindlichen Koppeschen Haarhygrometer, das durch eine in diese eingefügte, mit Glycerin bestrichene Glasscheibe dauernd deutlich zu sehen war, die Temperatur und relative Feuchtigkeit bei Beginn, zurzeit der höchsten Feuchtigkeit, einige Male eine Stunde später, sowie nach Beendigung der Desinfektion abgelesen. Außerdem wurde notiert, ob gleichzeitig feuchtes, trübes, klares, warmes oder kaltes Wetter war. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle.

Das zu allen Versuchen benutzte Zimmer hatte einen Rauminhalt von ca. 36 cbm ($3,80 \times 3,20 \times 3,00$), und war mit Tischen, Stühlen, einem großen Bücherregal und leinenen Vorhängen möbliert. Außerdem wurden immer einige Kleidungsstücke in der üblichen Weise darin aufgehängt. In dem Zimmer befand sich ein großes Fenster, eine kleine Seiten- und eine gewöhnliche Ausgangstür, an der das erwähnte Hygrometer

Tabelle I.

Versuch	Beim Beginn		R. F.		Nach 1 Std.		Vor der NH ₃ -Entw.		Was für Wetter?
	Temp.	R. F. Proz.	100 Proz. wann?	Temp.	Temp.	R. F. Proz.	Temp.	R. F. Proz.	
I	12°	55	18 Min.	17°	—	—	15°	85	Sonnenschein, warm
II	12°	50	3 $\frac{1}{2}$ "	15°	12°	100	12°	75	" , kühl
III	11°	60	3 $\frac{1}{2}$ "	14 $\frac{1}{2}$ °	11°	98	11°	70	" "
IV	10°	55	2 $\frac{1}{2}$ "	12 $\frac{1}{2}$ °	10°	70	9°	60	trübe, " kalt
V	10°	55	3 "	13°	—	—	10°	65	" "
VI	9°	63	5 "	13°	—	—	8°	70	feucht, kalt
VII	13°	65	15 "	16°	—	—	11°	90	" , kühl
VIII	9°	65	16 "	13°	—	—	9°	88	kalt, zieml. klar, leichter Frost
IX	13 $\frac{1}{4}$ °	63	18 "	16°	—	—	12°	87	feucht, kühl
X	10 $\frac{3}{4}$ °	65	20 "	16°	—	—	11°	95	" , kalt
XI	10°	60	4 "	14 $\frac{1}{2}$ °	11°	95	10°	80	" "
XII	10°	55	4 "	14°	10°	95	9°	75	kalt, leichter Frost

R. F. = Relative Feuchtigkeit.

angebracht war. Ein Ofen war nicht vorhanden, ebenso fehlten Abzugs- und Ventilationsöffnungen. Die gebrauchten Desinfektionsmittel wurden in einer für einen Raum von 40 cbm bemessenen Menge angewendet.

Die Testobjekte wurden, außer in der oben erwähnten Tasche, offen oder in der beschriebenen Weise bedeckt frei auf dem Fußboden, auf einem Tische, oben auf dem ca. 2,50 m hohen Regal und unter dem ca. 18 cm vom Fußboden entfernten untersten Brette desselben in einer Ecke ausgelegt. Das Zimmer wurde stets regelrecht abgedichtet.

Nachstehend folgen die Tabellen mit Resultaten der Versuche nach der Breslauer, der Autan-, Kaliumpermanganat- und Autoformmethode. Letztere ist eine Modifikation des Kaliumpermanganatverfahrens, bei der das für die verschiedenen Raumgrößen erforderliche Permanganat in Leinwandsäckchen abgemessen, und das Formalin durch ein gleichfalls abgeteiltes Quantum eines Formaldehydseifenpräparates — Festoform — ersetzt ist (Reiherstiegwerke, Hamburg). Eine ähnliche Modifikation ist das Formanganverfahren der Firma Eduard Schneider in Wiesbaden. (S. Tabellen p. 164—166.)

Bei der Betrachtung der ersten Tabelle sieht man auf den ersten Blick, daß die Höhe der relativen Feuchtigkeit mit immer 100 Proz. bei sämtlichen apparatlosen Verfahren schon nach wenigen Minuten erreicht wird, während bei den übrigen dieselbe erst nach frühestens 15 Minuten verzeichnet werden konnte. Ganz entsprechend verhält sich der Temperaturanstieg. Beide Tatsachen erregen kein Befremden, wenn man sich die Formaldehyd-Wasserdampfentwicklung in den verschiedenen Fällen vergegenwärtigt. Bei den apparatlosen Verfahren erfolgt dieselbe rapide, explosionsartig, bei den anderen durch langsames Verkochen der Flüssigkeit. Bemerkt sei noch, daß bei den ersteren, besonders bei Autananwendung ein viel dichter und für das Auge undurchdringlicher Dampf das Zimmer nach der Beendigung der Entwicklung erfüllt, als bei den letzteren. Aus den oben mitgeteilten Zahlen ersieht man ferner, daß die Temperatur überall schnell wieder abfällt, wenn nicht die gleichzeitigen Witterungsverhältnisse ein Verweilen oder gar eine Steigerung

veranlassen (I). Die relative Feuchtigkeit dagegen geht entsprechend dem schnellen Anstieg zurück, welcher Punkt für die keimtötende Wirkung der verschiedenen Methoden wohl von großer Wichtigkeit ist. Bei sämtlichen mit dem Breslauer Apparat ausgeführten Desinfektionen bei den verschiedensten Witterungsverhältnissen betrug zum Schlusse die relative Feuchtigkeit immer noch 85 Proz. oder darüber, während bei den nach den anderen Verfahren angestellten das Hygrometer im Maximum 75 Proz. anzeigte. Aehnliche Verhältniszahlen sind aus Ingelfingers (12) Arbeit zu ersehen, nur erfolgt bei seinen Versuchen der Anstieg der relativen Feuchtigkeit allgemein langsamer und die Werte derselben am Beginn und Schluß sind niedriger.

Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß bei der Zimmerdesinfektion mit Formaldehyd die gleichzeitige ausgiebige Sättigung der Luft mit Wasserdampf eine entscheidende Rolle spielt. Diese wird wahrscheinlich bei der explosionsartigen Dampfentwicklung bei Autan und Kaliumpermanganat in den höher gelegenen Teilen des Zimmers, wo sich auch mein Hygrometer befand, rasch erzielt. Die unteren Regionen kommen dabei aber zu kurz, und die Folge ist ein nachträgliches schnelles Fallen des Hygrometers. Bei der langsamen Verdampfung im Apparat wird dagegen eine gleichmäßige Durchfeuchtung der ganzen im Zimmer befindlichen Luft erreicht, die dementsprechend natürlich langsamer verschwindet. Für diese Annahme spricht außer den Desinfektionsresultaten eine Wahrnehmung, die ich bei allen meinen geöffneten und geschlossenen Filtrierpapierhülsen machen konnte. Dieselben waren bei Versuch I zufällig, nachher absichtlich mit einem sogenannten Tinten- oder Kopierstift bezeichnet. Es zeigte sich nach den Apparat- und den letzten beiden Autanversuchen, daß die Schrift auf den Hülsen an allen Auslagestellen den Tintencharakter angenommen hatte, und zwar am stärksten die auf den oben, am schwächsten die auf den unter dem Regal befindlichen. Nach Beendigung der übrigen Versuche fand ich deutliche Tintenschrift auf den oben, weniger deutlicher auf den auf dem Tische, Bleistiftschrift wie vor der Formaldehydentwicklung auf den unten ausgelegten Hülsen. Auf den in der Tasche verborgenen konnte niemals eine Aenderung der ursprünglichen Schrift wahrgenommen werden. Dieser Beobachtung entsprechend sind die Desinfektionsresultate. Mit dem Formalinverfahren (Flügge), mit dem statt Formalin in sonst gleicher Weise verdampften Formobas (siehe weiter unten) sowie mit Autan (neue Packung B) wurden an allen Stellen, mit Ausnahme der Rocktaschen, gute Abtötungserfolge erzielt. Bei den anderen Methoden wurde eine regelmäßige Vernichtung der Keime wohl stets auf dem Regal erreicht, auf dem Tische aber schon und noch mehr auf dem Fußboden frei und unter dem Regal stand die Desinfektionswirkung hinter der oben genannten Verfahren weit zurück. Bei der Formalinverdampfung wurden in 3 Versuchen mit 109 offen und bedeckt liegenden Testobjekten mit Ausnahme von dreien alle abgetötet = 97,3 Proz. Von diesen dreien befand sich eins unter dem Regal und zwei, darunter Milzbrandsporen, in der Tasche. Noch besser sind die Resultate bei den letzten beiden Autanversuchen (neue Packung B). Von 77 Testobjekten waren, mit Ausnahme von 2 in der Tasche befindlichen, dabei wieder Milzbrandsporen, alle steril = 97,4 Proz. Die Versuche mit Formobas ergaben fehlende Abtötung bei 6 von 68 Testobjekten = 8,8 Proz. Alle übrigen Erfolge sind wesentlich schlechter. Es betrug die Zahl der sterilen Testobjekte bei

Einwirkungsdauer: 4 Stunden.

Einwirkungsdauer: 5 Stunden.

Test-objekte	Auf dem Regal						Auf dem Fußboden						Auf dem Tisch						Auf dem Regal						Unter dem Regal						Kontrollen							
	Diphth.		Typh.		Staph.		Diphth.		Typh.		Staph.		Diphth.		Typh.		Staph.		Mbr.		Diphth.		Typh.		Staph.		Mbr.		Diphth.		Typh.		Staph.		L. F.	L. F.		
	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.							
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
3. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
4. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
5. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Table 3. Autan (ältere Packung). Versuch II und III.

Einwirkungsdauer: 5 Stunden.

Test-objekte	Auf dem Regal						Auf dem Fußboden						Auf dem Tisch						Auf dem Regal						Unter dem Regal						Kontrollen							
	Diphth.		Typh.		Staph.		Diphth.		Typh.		Staph.		Diphth.		Typh.		Staph.		Mbr.		Diphth.		Typh.		Staph.		Mbr.		Diphth.		Typh.		Staph.		L. F.	L. F.		
	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.							
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
3. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
4. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
5. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Table 4. Versuch IV u. V. Kaliumpermanganat.

Einwirkungsdauer: 5 Stunden. (Bei Versuch IV sehr viel Kleider im Zimmer.)

Test-objekte	Auf dem Regal						Auf dem Fußboden						Auf dem Tisch						Auf dem Regal						Unter dem Regal						Kontrollen							
	Diphth.		Typh.		Staph.		Diphth.		Typh.		Staph.		Diphth.		Typh.		Staph.		Mbr.		Diphth.		Typh.		Staph.		Mbr.		Diphth.		Typh.		Staph.		L. F.	L. F.		
	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.	L. F.							
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
3. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
4. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
5. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Tabelle 7. Versuch IX u. X. Breslauer Methode.

Einwirkungsdauer: 4 1/2 Stunden.

Test-objekte	Auf dem Regal					Auf dem Tisch					Auf dem Fußboden					Unter dem Regal					In der Tasche									
	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.					
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrollen																														

Tabelle 8. Versuch XI u. XII.

Autan (neue Packung B). Einwirkungsdauer: 7 Stunden.

Test-objekte	Auf dem Regal					Auf dem Tisch					Auf dem Fußboden					Unter dem Regal					In der Tasche									
	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.	Mbr.	Typh.	Parat.	Coli	Staph.					
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrollen																														

Autan (ältere Packung) 76,6 Proz., bei Kaliumpermanganat und Autoform 75 Proz.

Die neue Autanpackung scheint nach diesen Ergebnissen imstande zu sein, mit dem altbewährten Breslauer Verfahren, was Desinfektionswirkung anbetrifft, in erfolgreiche Konkurrenz zu treten, wenn sie nach den Untersuchungen von Auerbach und Plüddemann (21) den amtlichen Anforderungen, die eine Entwicklung von 5 g Formaldehyd pro Kubikmeter vorschreiben, auch noch nicht entspricht, da bei Verwendung der von der Fabrik für die bestimmten Raumgrößen in den Handel gebrachten Packungen die Menge des in den Dampf übergehenden wirk-samen Formaldehyds nur 2,5 g pro Kubikmeter beträgt. Außerdem scheint eine Einwirkungsdauer von 7 Stunden, wie das übrigens auch in den Gebrauchsanweisungen ausdrücklich bemerkt ist, zur sicheren Ver-nichtung der Keime nötig zu sein, ein Umstand, der bei der Bewertung den anderen Methoden gegenüber aber wohl nicht wesentlich zuun-gunsten des Autans in die Wagschale fällt, hauptsächlich wenn man seine Vorzüge: Einfachheit und absolute Gefahrlosigkeit, in Rechnung zieht. Leider sind zurzeit die Kosten der Autandesinfektion trotz der vor wenigen Wochen abermals erfolgten Reduzierung des Preises noch wesent-lich höher als der nach Flügge ausgeführten einfachen Formaldehyd- verdampfung. Allerdings erfordert die letztere die einmalige Anschaffung des immerhin ziemlich kostspieligen Breslauer Apparates und Ammoniak- entwicklers zum Preise von ca. 60 M., und nur bei häufigerem Gebrauche wird auf diese Weise ein praktischer Nutzen gegenüber der Autan- anwendung erzielt werden. Zu empfehlen ist letztere überall da, wo es sich um gelegentliche oder nicht zu häufig auszuführende Wohnungs- desinfektionen handelt. Nicht zu umgehen ist dieselbe wohl bei Epide- mien, in denen die vorhandenen Apparate für die augenblicklichen Be- dürfnisse nicht ausreichen.

Das Kaliumpermanganatverfahren scheint weniger empfehlenswert zu sein. Es liefert meines Erachtens mangelhafte Desinfektionsresultate, ist feuergefährlich und entbehrt der Möglichkeit der Ammoniakentwicke- lung, deren durchschnittliche Notwendigkeit schon oben betont ist. Der Verbrauch der dazu nötigen Chemikalien kommt allerdings fast ebenso billig wie der bei der Breslauer Methode.

Für Autoform gilt das vom Kaliumpermanganatverfahren Gesagte, nur sind außerdem die Kosten wieder wesentlich höher.

Tabelle 8A.

100 cbm zu desinfizieren kostet etwa mit dem Breslauer Apparat	2,60 M.
mit dem Kaliumpermanganatverfahren	3,10 „
mit Autan	7,58 „
40 cbm zu desinfizieren kostet etwa mit dem Breslauer Apparat	1,40 „
mit dem Kaliumpermanganatverfahren	1,70 „
mit Autan	3,50 „

Fast gleichzeitig mit dem Formaldehydseifenpräparat Festoform er- schien eine Formaldehydboraxverbindung, Formobor, auf dem Markte. Heute wird dieses Desinfiziens als Formobas bezeichnet, da nach Angabe des Erfinders (Apotheker H. Wolberg) das Patentamt den Schutz des Namens Formobor abgelehnt hat. Der Boraxzusatz soll verhindern, daß eine Polymerisation des Aldehyds eintritt, wie dies bei Temperatur- veränderungen beim Formalin geschieht, wo dann der Paraformaldehyd ausfällt, der erst beim Erhitzen auf ca. 156° wieder eine Desinfektions-

wirkung auszuüben imstande ist. Gleichzeitig sollen der stechende Geruch, die gerbenden und eiweißfällenden Eigenschaften des Formalins aufgehoben und durch die Fähigkeit vom Borax, Eiweiß, Harz und Fette zu lösen, eine Tiefenwirkung des Präparates erzielt werden. Unveränderte Haltbarkeit, Geruchlosigkeit und Tiefenwirkung sind die Hauptvorzüge, die die Fabrikanten (Holsatia Carvin Co., Altona) dem Formobas, den sie in zwei Formen, nämlich als technisch reinen zur Wohnungsdesinfektion (1 l 1,20 M.) und reinen zur Herstellung von Desinfektionsflüssigkeiten (1 kg 3,50 M.) in den Handel bringen, nachrühmen. Der letztere ist von Xylander (28) noch unter dem Namen Formobor hinsichtlich seiner keimtötenden Kraft und Tiefenwirkung geprüft mit dem Ergebnis, daß derselbe „wegen seiner nicht genügend schnellen Desinfektionswirkung und der trotz des Boraxzusatzes nicht vollständig aufgehobenen ätzenden und gerbenden Wirkung als Hautdesinfiziens ungeeignet, dagegen wegen seiner nicht unerheblichen Tiefenwirkung und relativen Ungiftigkeit sehr gut zur Desinfektion der im Friseurgewerbe gebräuchlichen Gegenstände verwendbar ist“. Als Versuchsobjekte dienten Xylander an Granaten angetrocknete Milzbrandsporen und Staphylokokken und Bürstenborsten, die in Bouillonkulturen von Staphylo- und Streptokokken getaucht und im Exsikkator getrocknet waren, sowie Verbandstückchen mit angetrocknetem, diese Mikroorganismen enthaltenden Eiter. Die Objekte wurden einer 0,4—4-proz. Formobor- bzw. Formalinlösung bei zum großen Teil höheren Temperaturen ausgesetzt.

Zu meinen Prüfungen wurden einmal 24 Stunden alte Bouillonkulturen (10 ccm) von *Bacterium typhi*, *paratyphi*, *coli* und *Staphylococcus aureus*, das andere Mal die an Seidenfäden in der oben geschilderten Weise angetrockneten selben Keime der Einwirkung einer 1—3-proz. Formobas- bzw. Formalinlösung bei Zimmertemperatur ausgesetzt. Von ersterem wurde sowohl der reine wie auch der technisch reine Formobas zur Herstellung von Lösungen gebraucht. Nach verschieden langer Einwirkungsdauer derselben wurden die Aussaaten in der Weise gemacht, daß von den Bouillonkulturen, denen das Desinfiziens in der erwähnten Menge unter gehörigem Durchschütteln zugesetzt war, je 2 Oesen, von den in den Desinfektionsflüssigkeiten liegenden Seidenfäden je einer in ein steriles Bouillonröhrchen übertragen wurde. Von den Kulturen und Seidenfäden wurden Kontrollen ausgesät, auf die kein Desinfektionsmittel eingewirkt hatte. Die Beobachtungszeit betrug wiederum 5 Tage. Selbstverständlich sind alle Versuchsreihen durch eine zweite gleiche oder ähnliche kontrolliert. Eine Kontrolle der Formalinresultate ist an der Hand der folgenden Tabellen schon möglich. (S. Tabellen p. 169--172.)

Es ergibt sich, daß der technisch reine Formobas als Desinfektionsflüssigkeit sowohl bei der Abtötung von in Bouillonkulturen befindlichen, als auch an Seidenfäden angetrockneten Mikroorganismen von dem Formalin überholt wird und bei seinem höheren Preise als solche deshalb praktisch nicht in Frage kommen kann. Der reine Formobas leistet unter gleichen Bedingungen Besseres; er kommt an Desinfektionskraft dem Formalin gleich, übertrifft es sogar manchmal. Xylanders Resultate sind hierbei für den reinen Formobas noch günstiger. Bei 17,5° beispielsweise wurden die von ihm verwendeten Staphylokokkengranaten von Formobas in 3-proz. Lösung nach 33, von Formalin in

I. Formobas technisch rein.

Aussaart	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 60 Minuten		Formalin nach 90 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bouillonkultur. Bact. typhi.											
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Formobas rein.											
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

I. Formobas technisch rein.

Aussaart	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 60 Minuten		Formalin nach 90 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bouillonkultur. Bact. paratyphi B.											
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Formobas rein.											
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

I. Formobas technisch rein.

Aussaat	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 60 Minuten		Formalin nach 90 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bouillonkultur. Bact. coli.											
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Formobas rein.											
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

I. Formobas technisch rein.

Aussaat	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 60 Minuten		Formalin nach 90 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bouillonkultur. Staphylococcus aureus.											
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Formobas rein.											
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle 13. Seidenfäden. Bact. typhi.

Aussaat	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 80 Minuten		Formalin nach 85 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seidenfäden. Bact. typhi.											
nach 20 Minuten											
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Formobas rein.											
nach 2 Stunden											
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle 14. Seidenfäden. Bact. paratyphi B.

Aussaat	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 80 Minuten		Formalin nach 85 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	Proz.	1,0 2,0 3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seidenfäden. Bact. paratyphi B.											
nach 20 Minuten											
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II. Formobas rein.											
nach 2 Stunden											
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

I. Formobas technisch rein.

Tabelle 15. Seidenfäden. Bact. coli.

Aussaat	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 80 Minuten		Formalin nach 85 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Seidenfäden. Bact. coli.											
I. Formobas rein.						II. Formobas rein.					
nach 20 Minuten		nach 40 Minuten		nach 60 Minuten		nach 85 Minuten		nach 2 Stunden			
Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0
1. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

I. Formobas technisch rein.

Tabelle 16. Seidenfäden. Staphylococcus aureus.

Aussaat	Formobas nach 20 Minuten		Formalin nach 40 Minuten		Formobas nach 80 Minuten		Formalin nach 85 Minuten		Formobas nach 2 Stunden		Sofort ohne Zusatz
	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Seidenfäden. Staphylococcus aureus.											
I. Formobas rein.						II. Formobas rein.					
nach 20 Minuten		nach 40 Minuten		nach 60 Minuten		nach 85 Minuten		nach 2 Stunden			
Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0	Proz.	3,0
1. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

derselben Konzentration erst nach 46 Minuten getötet. Diesen Resultaten entspricht aber keineswegs der Preis des Präparates, das ungefähr 4mal so teuer ist als das gewöhnliche und auch hier verwendete Formalin. Abgesehen von der relativen Geruchlosigkeit scheint Formobas keine nennenswerten Vorzüge vor dem letzteren zu haben; denn ein deutlich sichtbarer weißlicher Niederschlag, der sich bei längerem Stehen in einer uns zugesandten fest verkorkten Probeflasche bildete, wird wohl durch Ausfallen von Paraformaldehyd zu erklären sein. Aehnliche Resultate wie die meinigen hinsichtlich der Desinfektionswirkung und der Polymerisation des Formobas verzeichnet Kutschner (29) in einer während des Druckes dieser Arbeit erschienenen Abhandlung.

Die Zimmerdesinfektion mit dem technisch reinen Formobas ergab gute Resultate: Abtötung von 91,2 Proz. der offenen und bedeckten Testobjekte. Von den 6 nicht abgetöteten befanden sich zudem 2 in der Tasche. Die von den Fabrikanten dem Formalin gegenüber so sehr hervorgehobene Tiefenwirkung habe ich aber nicht konstatieren können; denn ein Blick auf die Tabellen mit den Versuchen nach der Breslauer Methode zeigt, daß das Formalin bei seiner Verdampfung eine entschieden größere entfaltet. Sogar das Autan leistet darin Besseres als Formobas. Ein Umstand spricht aber sehr zugunsten des letzteren, nämlich der, daß das Desinfektionszimmer nach Beendigung der wie gewöhnlich vorgenommenen Ammoniakentwicklung am Schluß beider Formobasversuche ohne nennenswerte Geruchs- und Atmungsbelästigung bei vollständig unterlassener Lüftung betreten werden konnte. Am Schlusse der Formalin- und wenn auch schwächer der Autanversuche konnte von einer vollständigen Beseitigung des die Atmungsorgane reizenden Formalingeruches nicht die Rede sein. Trotzdem glaube ich nicht, daß die Verwendung dieses basischen Formaldehyds zur Zimmerdesinfektion gerade besonders empfehlenswert ist.

Literatur.

- 1) Hyg. Rundschau. 1906. p. 1241.
- 2) Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 2425.
- 3) Dtsche med. Wochenschr. 1907. p. 226.
- 4) Klin. Jahrb. Bd. 18. p. 10.
- 5) Klin. Jahrb. Bd. 18. p. 19.
- 6) Klin. Jahrb. Bd. 18. p. 35.
- 7) Hyg. Rundschau. 1907. p. 151.
- 8) Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1907. No. 2.
- 9) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 26. p. 59.
- 10) Hyg. Rundschau. 1907. p. 571.
- 11) Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 1113.
- 12) Klin. Jahrb. Bd. 18. p. 1.
- 13) Klin. Jahrb. Bd. 18. p. 59.
- 14) Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1908. No. 17.
- 15) Hyg. Rundschau. 1908. No. 17.
- 16) Der Amtsarzt. 1909. p. 121.
- 17) Hyg. Rundschau. 1909. p. 381.
- 18) Münch. med. Wochenschr. 1909. p. 233.
- 19) Desinfektion. 1909. p. 1.
- 20) Hyg. Rundschau. 1909. p. 251.
- 21) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 30. p. 195.
- 22) Wiener klin. Wochenschr. 1907. No. 24; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 45. p. 77.
- 23) Journ. of the Amer. Med. Assoc. 1907. No. 20.

- 24) Journ. of the Amer. Chemic. Society. 1906. p. 964.
 25) Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1909. No. 11.
 26) Der praktische Desinfektor. 1909. No. 2.
 27) Hyg. Rundschau. 1910. No. 2.
 28) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 26. p. 180.
 29) Desinfektion. 1910. No. 1.

Nachdruck verboten.

Komplementbindung und Agglutination bei der Paratyphus-, Typhus- und Coligruppe.

[Aus dem städt. hygienischen Institut zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. M. Neisser).] ¹⁾

Von Dr. Karl Altmann, Vorsteher der bakteriologischen Abteilung.

Die merkwürdige Tatsache, daß sich innerhalb einer Bakteriengruppe, deren Unterarten sich morphologisch und kulturell völlig gleich verhalten, die Erreger der verschiedenartigsten Tier- und Menschenkrankheiten befinden, wie das in der *Salmonella*-Gruppe der Fall ist, hat das Bedürfnis wachgerufen, die Immunitätsreaktionen zur Unterscheidung der einzelnen Species heranzuziehen. Es zeigte sich, daß man mit Hilfe der Agglutination die *Salmonella*-Gruppe in zwei Untergruppen teilen kann, die Paratyphus-B- und die Ratingruppe.

Zur ersten gehören Paratyphus-B, Schottmüller, Hog-Cholera-, Psittakose-, Mäusetyphus-, der sogenannte Schweinepestbacillus und Pseudotuberkulose der Meerschweinchen, die Fleischvergifter vom Typus Flügge bzw. Aertryck, bzw. Enteritis I u. a.

Zur zweiten gehören die Rattenschädlinge Danysz, Dunbar, Isatschenko und die Fleischvergifter vom Typus Moorseele bzw. Enteritis II.

Innerhalb dieser Gruppen ist eine weitere Differenzierung mittels der Agglutination nicht möglich. Es war daher naheliegend, andere Immunitätsreaktionen heranzuziehen, um den Grad der Verwandtschaft der einzelnen Species der *Salmonella*-Gruppe festzustellen. Als besonders geeignet mußte nach der ein bequemes Arbeiten ermöglichenden Einführung der wäßrigen Bakterienextrakte durch Wassermann die Komplementbindungsmethode erscheinen.

Von früheren Arbeiten, die sich dieser Methode zur Differenzierung der *Salmonella*-Gruppe bedienen, ist besonders die von Sacquépée ²⁾ zu erwähnen, der mit der ursprünglichen Bordet-Genouschen Technik arbeitet. Er gelangt zur Unterscheidung zweier Gruppen:

- 1) Bacilles carnés Gärtner Morseele et Bruxelles,
- 2) Bacilles carnés Aertryck, Posen, Düsseldorf, bacilles du hog-cholera, de la psittacose et paratyphus-B.

1) Einen Teil dieser Untersuchungen habe ich noch als Assistent der bakteriologisch-hygienischen Abteilung des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich, ausgeführt.

2) Sacquépée, E., Sur les Salmonelloses, les sensibilisatrices. (Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 2, 1907, p. 421.)

Ein Resultat, das sich mit der von de Nobele, Trautmann u. a. auf Grund der Agglutination aufgestellten Einteilung im wesentlichen deckt.

Ballner und Reibmayr¹⁾ haben ohne Erfolg die Unterscheidung des Mäusetyphus- vom Paratyphus-B-Bacillus mittels Komplementablenkung versucht.

Wie wir bereits erwähnten, hat seit der Modifikation der ursprünglichen Methode durch Wassermann die Komplementbindung eine wesentlich erweiterte Anwendung gefunden, und es erschien uns bei der Wichtigkeit der Frage gerechtfertigt, von neuem an die Prüfung der Frage heranzugehen, was die Komplementbindung zur Differenzierung der Salmonella-Gruppe leistet, ob sich ihre Resultate mit denen der Agglutination decken und ob weitere Aufschlüsse über die gegenseitige Verwandtschaft der einzelnen Species der Salmonella-Gruppe von dieser Methode zu erwarten seien.

Diese Untersuchungen, die vor Jahresfrist ausgeführt und an anderer Stelle²⁾ vorläufig mitgeteilt sind, konnten aus äußeren Gründen erst jetzt veröffentlicht werden.

Zu unseren Untersuchungen dienten uns 17 Stämme der Paratyphus-B-Gruppe, darunter 8 vom Typus Schottmüller (Ma, K, Sb, Cc, Dc, Gb, Gb, Z), ein aus einer Fleischvergiftung gezüchteter Stamm (Fb), ein aus einer Fischvergiftung gezüchteter Stamm (Vb), 4 sogenannte Schweinepestbacillen (N, O, P, Q), ein Mäusetyphus Löffler (L), ein Pseudotuberkulose-Meerschweinchen (Tb), eine Psittacose (Na) sowie 5 Stämme der Ratingruppe, darunter ein Stamm Typus Moorseele (Db), Bruges (Eb) und 3 Rattenschädlinge, Dunbar (Hc), Ratin (Jc), Danysz (Kc).

Die Technik war die übliche. Wir hielten uns im wesentlichen an die von Wassermann gegebenen Vorschriften. Bezüglich der Extraktbereitung verfahren wir nach den von Leuchs genau präzisierten Angaben³⁾.

Als Komplement diente frisches, aktives Meerschweinchenserum. Die Immunsera, sowohl der hämolytische Ambozeptor als das antibakterielle Serum stammten vom Kaninchen und wurden in inaktivem Zustande verwandt; das verwendete Blut war Hammelblut. Erwähnt sei noch, daß wir, um Material zu sparen, mit einer Gesamtflüssigkeitsmenge von 1,3 ccm in jedem Röhrchen arbeiteten. Extrakt und Serumkontrollen wurden stets in der doppelten der im Versuch zur Verwendung kommenden Menge angesetzt (s. Tabelle 1).

Wie aus der Tabelle hervorgeht, werden die beiden Untergruppen der Salmonella-Gruppe durch die Methode der Komplementbindung scharf voneinander geschieden, während 17 Stämme der Paratyphus-B-Gruppe komplette Hemmung der Hämolyse gaben, beeinflussten die aus den 5 Stämmen der Ratingruppe gewonnenen Extrakte, desgleichen ein

1) Ballner-Reibmayr, Ueber die Verwertbarkeit der Komplementablenkungsmethode für die Differenzierung von Mikroorganismen nebst Bemerkungen über den Zusammenhang dieser Phänomene mit der Agglutinations- bzw. Präzipitationsreaktion. (Arch. f. Hyg. Bd. 64. 1908. p. 113.)

2) Mitteilung in der wissenschaftlichen Vereinigung am städt. Krankenhaus zu Frankfurt a. M.

3) Leuchs, J., Ueber die diagnostische Zuverlässigkeit und die Spezifität der Komplementbindungsmethode bei Typhus und Paratyphus. Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No 3 u. 4.)

Tabelle 1.

Ser.-Kan. 3 inakt. immu- nisiert m. Pa- ratyphus-B- „Bacillen“	Grad der eingetretenen Hämolyse bei Verwendung von Bakterienextrakt:																							
	Ma	K	Sb	Cc	Dc	Gb	Ob	Z	Vb	Fb	N	O	P	Q	L	Tb	Na	Db	Eb	Hc	Kc	Ic	Typh.	Coli
0,05	0	0	Sp	0	0	m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Spch	c	c	c	c	c	c	c	c
0,025	0	0	Sp	0	0	w	0	Sp	0	0	0	0	0	0	0	Spch	c	c	c	c	c	c	c	c
0,015	0	0	w	0	0	m	0	Sp	0	0	0	w	0	0	w	Sp	Sp	c	c	c	c	c	c	c
0,001	0	0	fc	0	0	c	Spch	m	0	0	0	m	0	Sp	m	st	fc	c	c	c	c	c	c	c
0,005	0	0	c	fc	m	c	Spch	fc	0	Spch	w	fc	m	fc	fc	c	c	c	c	c	c	c	c	c
0,003	0	0	c	c	c	c	m	c	w	fc	c	c	fc	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
0,002	w	fc	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c

Die Kontrollen mit doppeltem Extrakt und doppelter Serummenge ergaben komplette Hämolyse. 0 = keine Hämolyse, Spch = Spürchen Hämolyse, Sp = Spur Hämolyse, w = wenig Hämolyse, m = mäßige Hämolyse, st = starke Hämolyse, fc = fast komplette Hämolyse, c = komplette Hämolyse.

aus Typhus- und Colibacillen gewonnener Extrakt in Verbindung mit demselben Serum, die Lösung von roten Blutkörperchen, durch ein wirksames System von Ambozeptor und Komplement in keiner Weise. Dasselbe war natürlich der Fall, wenn an Stelle des Immunserums normales Kaninchenserum verwandt wurde.

Dieselbe Differenzierung erhielten wir bei Anwendung des Agglutinationsverfahrens (Methode M. Neisser-Proescher), dessen Ergebnisse in Tabelle 2 dargestellt sind.

Tabelle 2.

Formkulturen von	Serumverdünnung							
	1/100	1/300	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800
Ma (Aertryck)	+++	+++	+++	+	—	—	—	—
K (Schottmüller)	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
Sb Paratyphus 456	++	++	+	—	—	—	—	—
Cc „ 1038	++	++	++	++	—	—	—	—
Dc „ 1135 a	++	+	+	?	—	—	—	—
Gb „ Jung.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
Ob „ 2259	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
Z „ Lipstein	+++	+++	+++	++	++	—	—	—
Vb Fischvergift.	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
Fb Fleischvergift.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
N Schweinepest	++	++	++	++	+	—	—	—
O „	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
P „	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
Q „	++	++	++	++	++	—	—	—
L Mäusetyphus	+++	+++	++	+	—	—	—	—
Fb Pseudotuberkulose	+++	+++	+++	++	++	—	—	—
Na Psittakosis	+++	+++	+++	+	+	—	—	—
Db Moorseele	—	—	—	—	—	—	—	—
Eb Bruges	—	—	—	—	—	—	—	—
Hc Dunbar	—	—	—	—	—	—	—	—
Ic Ratin	+	—	—	—	—	—	—	—
Kc Danyez	—	—	—	—	—	—	—	—

+++ = sehr starke Agglutination, ++ starke Agglutination, + schwache Agglutination, — keine Agglutination.

Doch zeigt ein Vergleich beider Tabellen, daß Grad und Stärke der Agglutination und Komplementbildung keineswegs Hand in Hand gehen.

So gibt z. B. Paratyphus Cc und Dc äußerst schwache Agglutination, aber starke Komplementbindung, umgekehrt liegen die Verhältnisse bei den Stämmen Gb und Na. Auch ist der Unterschied in der Titerhöhe des Immuserums für die einzelnen Stämme bei der Agglutination größer als bei der Komplementbindung.

Die gleichen Resultate gab die Komplementbindung bei Verwendung eines durch Immunisierung mit Schweinepestbacillen gewonnenen Serums. Auch dieses zeigte sich wirksam für sämtliche der Paratyphus-B-Gruppe angehörigen Stämme, unwirksam für die Ratingruppe. Umgekehrt gab ein mit Stamm Db (Moorseele) gewonnenes Immuserum mit den Angehörigen der Paratyphus-B-Gruppe keine Komplementbindung, hemmte jedoch in Verbindung mit den von uns verwandten Ratinstämmen sowie mit einem aus Typhusbacillen gewonnenen Extrakte stark die Hämolyse.

Wir können dahin resumieren, daß es gelingt, mit Hilfe der Komplementbindung die Salmonella-Gruppe in 2 Untergruppen zu zerlegen, die den auf Grund der Agglutination aufgestellten entsprechen. Weitere Anhaltspunkte zu einer Differenzierung gibt uns die Methode nicht. Sie scheint im Gegenteil einen mindestens ebenso hohen Grad der Verwandtschaft der Repräsentanten der einzelnen Gruppen untereinander aufzudecken, wie die Agglutination.

II.

Hatten wir schon im Verlaufe unserer vorstehend mitgeteilten Versuche eine gewisse Unabhängigkeit der beiden Immunitätsreaktionen, der Komplementbindung und der Agglutination, bezüglich ihrer Stärke verschiedenen Stämmen gegenüber feststellen können, so trat diese Unabhängigkeit ganz besonders zutage, als wir das zeitliche Auftreten der agglutinierenden und komplementbindenden Antikörper im Verlaufe der Immunisierung verfolgten. Die Tabelle 3 veranschaulicht diese Verhältnisse.

Tabelle 3.

Kaninchen 1 erhielt am 13. Okt. 08 $\frac{1}{6}$ Agarkultur K (Paratyphus B) $\frac{1}{2}$, Std. bei 60° abgetötet intravenös.

Untersuchung am wievielten Tage nach der Injektion	Eingetretene Hämolyse	Agglutination
7.	1:80 ¹⁾ = 0 1:160 = wenig Kontrollen komplett	1:40 ¹⁾ — 1:80 — 1:160 — 1:320 —

Kaninchen 4 erhielt am 12. Okt. 08 Sediment von dem bei Kaninchen 5 verwendeten Wassermannschen Extrakt, etwa $\frac{1}{2}$, Kultur entsprechend.

10.	1:65 = 0 1:180 = mäßig Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 — 1:320 —
-----	--	--

Kaninchen 5 erhielt am 12. Okt. 08 0,1 ccm Wassermannschen Schüttel-extrakts aus Paratyphus-B-Bacillen.

8.	1:80 = 0 Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 — 1:320 —
----	---------------------------------	--

1) Die Verhältniszahlen bezeichnen die Serumverdünnung, sonstige Bezeichnungen wie Tabelle I.

Kaninchen 11 erhielt am 22. Okt. 08 $\frac{1}{10}$ Kultur und am 31. Okt. $\frac{1}{5}$ Kultur K (Paratyphus B) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

Untersuchung am wievielen Tage nach der 1. resp. 2. Injektion	Eingetretene Hämolyse	Agglutination
6. nach der 1. Injekt.	1:40 = 0 1:80 = Spur Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —
7. nach der 1. Injekt.	1:40 = 0 1:80 = st Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —
9. nach der 1. Injekt.	1:40 = 0 1:80 = st Kontrollen komplett	1:40 ++ 1:80 + 1:160 —
1. nach der 2. Injekt.	1:15 komplett 1:40 „ 1:80 „	1:40 ++ 1:80 ++ 1:160 —
2. nach der 2. Injekt.	1:15 „ 1:40 „ 1:80 „	1:80 ++ 1:160 ++ 1:320 ?
5. nach der 2. Injekt.	1:50 = 0 1:100 = 0 1:150 = 0 Kontrollen komplett	1:320 +++ 1:640 +++ 1:1280 ++

Kaninchen 13 erhielt am 27. Okt. 08 $\frac{1}{5}$ Agarkultur N (Schweinepestbacillen) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

Untersuchung am wievielen Tage nach der Injektion	Eingetretene Hämolyse	Agglutination
7.	1:65 = 0 Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —

Kaninchen 14 erhielt am 28. Okt. $\frac{1}{5}$ Agarkultur Vb (Fischvergiftung) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

7.	1:25 = 0 Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —
----	---------------------------------	-----------------------------

Kaninchen 16 erhielt am 3. Nov. $\frac{1}{5}$ Agarkultur K (Paratyphus B) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

2.	1:13 mäßig 1:26 komplett Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —
4.	1:13 Spur 1:26 stark Kontrollen komplett	1:40 — 1:160 —
8.	1:65 = 0 Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —

Kaninchen 18 erhielt am 28. Okt. $\frac{1}{5}$ Agarkultur Fb (Fleischvergiftung) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

6.	1:26 = 0 1:65 = 0 Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —
----	---	-----------------------------

Kaninchen 18a erhielt am 13. Nov. $\frac{1}{10}$ Agarkultur Fb (Fleischvergiftung) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

Untersuchung am wievielten Tage nach der Injektion	Eingetretene Hämolyse	Agglutination
6.	1:26 = Spch 1:65 = Spch Kontrollen komplett	1:40 — 1:80 — 1:160 —

Kaninchen 22 erhielt am 13. Nov. $\frac{1}{10}$ Agarkultur Tb (Pseudotuberkulosemeerschweinchen) $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

6.	1:13 komplett 1:26 „ 1:65 „	1:80 ++ 1:160 + 1:320 —
----	-----------------------------------	-------------------------------

Wir sehen aus ihr, daß bei sämtlichen Tieren, mit Ausnahme von Kaninchen 22, die antikomplementären Stoffe schon zu einer Zeit auftraten, wo noch keine Agglutinine vorhanden waren. Am frühesten war dies bei Kaninchen 16 der Fall, dessen Serum schon am 2. Tage nach der Einspritzung mit homologem Extrakt deutliche Hemmung der Hämolyse gab. Hier fehlten noch am 8. Tage die Agglutinine. Besonders interessant ist der Immunisierungsverlauf bei Kaninchen 11. Am 6. und 7. Tage deutliche Komplementbindung, keine Agglutination, die erst am 9. Tage auftrat. An diesem Tage erfolgte die 2. Einspritzung. 24 Stunden später sind die antikomplementären Stoffe im Serum verschwunden, während die Agglutinine völlig unbeeinflusst sind. Am 2. Tage nach der 2. Injektion ist der Agglutiningehalt schon vermehrt, die komplementbindenden Stoffe noch immer verschwunden. Am 5. Tage ist neben einer Verstärkung der Agglutination auch starke Komplementbindung nachweisbar. Während also durch die 2. Einspritzung bezüglich der antikomplementären Stoffe eine „negative Phase“ eingetreten ist, sind die Agglutinine in keiner Weise beeinflußt worden. Dieser Versuch zeigt eine weitgehende Unabhängigkeit beider Immunitätsreaktionen und der sie vermittelnden Antikörper voneinander.

Tabelle 4.

Kaninchen 12 erhielt am 22. Okt. $\frac{1}{10}$ Agarkultur, am 31. Okt. $\frac{1}{2}$ Agarkultur Typhusbacillen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös

Untersuchung am wievielten Tage nach der Injektion	Eingetretene Hämolyse	Agglutination
7. nach der 1. Injekt.	1:13 komplett 1:26 „ 1:15 „	1:40 — 1:80 — 1:160 —
9. nach der 1. Injekt.	1:13 „ 1:26 „ 1:65 „	1:16 +++ 1:32 +++ 1:64 +
1. nach der 2. Injekt.	1:13 „ 1:26 „ 1:65 „	1:80 ++ 1:160 —
2. nach der 2. Injekt.	1:26 = 0 Kontrollen komplett	1:160 +++ 1:320 +++ 1:640 ++
5. nach der 2. Injekt.	1:130 = 0	1:640 +++ 12*

Kaninchen 7 erhielt am 13. Okt. $\frac{1}{6}$ Agarkultur Typhusbacillen $\frac{1}{4}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

Untersuchung am wievielen Tage nach der Injektion	Eingetretene Hämolyse	Agglutination
9.	1:260 = 0 Kontrollen komplett	1:320 ++ 1:640 +

Kaninchen 23 erhielt am 5. Nov. $\frac{1}{20}$ Agarkultur Typhusbacillen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

6.	1:65 = 0 Kontrollen komplett	1:640 + 1:1280 -
----	---------------------------------	---------------------

Kaninchen 24 erhielt am 5. Nov. $\frac{1}{6}$ Agarkultur Typhusbacillen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetötet intravenös.

6.	1:65 = 0 Kontrollen komplett	1:640 + 1:1280 -
----	---------------------------------	---------------------

Anders als mit Paratyphus-B-Bacillen verlief die Immunitätskurve bei der Injektion von Typhusbacillen. Hier zeigte sich nämlich, Tabelle 4, ein annähernd gleichzeitiges Auftreten beider Antikörper. In einem Falle (Kaninchen 12) waren sogar die Agglutinine früher vorhanden, als die komplementbindenden Körper.

Diese Unabhängigkeit im zeitlichen Auftreten der Komplementbindung und der Agglutination, die wir bei der experimentellen Einverleibung von Typhus- und Paratyphusbacillen gesehen haben, ist von einer Reihe von Autoren auch bei typhuskranken Menschen beobachtet worden. Hirschfeld¹⁾, Posner²⁾, Zupnik und Spät³⁾ Raskin⁴⁾.

III.

Diese Feststellung, die für die Frage über den Zusammenhang der komplementbindenden Antikörper mit den Agglutininen, auf den wir weiter unten ausführlich zurückkommen werden, von Bedeutung sind, veranlaßten uns gelegentlich einer unter anderen Gesichtspunkten unternommenen Immunisierung von Kaninchen mit Colibacillen auf das Vorhandensein der beiden Antikörper zu achten.

Die Agglutination führten wir nach der Methode von Neißer-Pröschner (Formolkulturen) aus. Neben den Formolkulturen kamen auch Abschwemmung von ca. 20-stündigen Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung zur Verwendung. Es ergab sich dabei in den Resultaten kein Unterschied mit Ausnahme eines Coli stammes (2), dessen Formolkultur vom homologen Immunserum agglutiniert wurde, während die Agarabschwemmung keine Spur von Agglutination zeigte. Erhitzte man diese auf hohe Temperaturen, so trat eine noch wesentlich stärkere Agglutination ein als bei Verwendung von Formolkultur. (Siehe Tabelle 5.)

1) Hirschfeld, Zur Verwendung des Prinzips der Komplementablenkung zur Typhusdiagnose. (Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 61, H. 3 und 4.)

2) Posner, Ueber die Leistungsfähigkeit der Komplementablenkungsmethode für die Typhusdiagnose. (München. med. Wochenschr. 1907, p. 1309). — Ueber die klinische Verwendbarkeit der Komplementablenkungsmethode bei typhoiden Erkrankungen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 37.)

3) Zupnik und Spät, Ueber den Nachweis der Antigene und des Gegenkörpers im Blute von Typhuskranken. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 40, p. 1796.)

4) Raskin, Marie, Experimentelle Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit des Komplementbindungsphänomens für die Typhusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 48, 1908, H. 4.)

Tabelle 5.

Serum- verdünnung	Agglutination von Coli 2 mit homologem Immuserum bei Verwendung von				
	Formol- kultur	Abschwemmung von ca. 20stündigen Agarkulturen in physiologischer NaCl-Lösung			
		unerhitzt	1 Stunde 60° erhitzt	20 Minuten 80° erhitzt	6 Minuten 100° erhitzt
1:100	+++	—	+++	++++	++++
1:200	+++	—	+++	++++	++++
1:400	+++	—	++	++++	++++
1:800	+++	—	++	++++	++++
1:1600	+++	—	+	++++	++++
1:3200	++	—	+	+++	+++
1:6400	++	—	+	++	++
1:12 800	+	—	?	+	++
1:25 600	?	—	—	+	+
1:51 200	—	—	—	+	+
Kontrolle ohne Serum	—	—	—	—	—

++++ zu dicken Ballen verklumpt, +++ sehr starke Agglutination, ++ starke Agglutination, + schwache Agglutination, ? fragliche Agglutination, — keine Agglutination.

Diese Eigenschaft verblieb auch dem über Wochen fortgezüchteten Stamm. Das umgekehrte Verhalten zeigten die übrigen von uns verwandten Stämme, bei denen durch Erhitzen (wie auch bekannt) die Agglutinierbarkeit herabgesetzt wurde oder ganz verschwand.

Die Technik der Komplementbindung war bis auf die Extraktbereitung die übliche. Wir verweisen deshalb auf das oben Gesagte. Erwähnen möchten wir nur noch, daß das Komplement vor jedem Versuche in Verbindung mit dem einmal eingestellten Ambozeptor, gleichfalls eingestellt wurde und in der doppelten, der gerade noch zur kompletten Lösung ausreichenden Menge verwandt wurde. Als Extrakte verwendete ich die von mir im Anschlusse an die Uhlenhuthschen¹⁾ Mitteilungen über das Antiformin angegebenen Antiforminextrakte, über die bereits an anderer Stelle ausführlich berichtet ist²⁾.

Ich erwähne hier kurz ihre Darstellungsweise. Eine etwa 24-stündige Agarkultur wird mit 5 ccm destillierten Wassers abgeschwemmt, dazu kommen 5 ccm 6—8-proz. (je nach der Dichtigkeit des Wachstums) Antiformins. Es tritt nach 30 Minuten langer Einwirkung einer Temperatur von 40—50 Grad oder etwas längerer Einwirkung von Zimmertemperatur völlig klare Lösung ein. Der Ueberschuß von Alkali wird durch tropfenweises Zufügen von 5-proz. Schwefelsäure (Prüfung gegen Lackmuspapier) das überschüssige Chlor durch tropfenweises Zufügen von stets frisch zu bereiterender Natriumsulfatlösung (Natrium sulfurosum) [Prüfung gegen Jodkalium-Stärkepapier³⁾] entfernt.

1) Uhlenhuth, Centralbl. f. Bakt., Beil. zu Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908.

2) Altmann, K., Mitteilung d. wissenschaftl. Vereinigung am städt. Krankenhaus zu Frankfurt a. M. (Referiert München. med. Wochenschr. 1909.) — und Schultz, J. H., Verwendung von Bakterien-Antiforminextrakten als Antigene bei der Komplementbindung. (Zeitschr. für Immunitätsf. und experim. Therap. Bd. 3. 1909. p. 98.) Sachs und Altmann, Komplementbindung. (Handb. der pathogen. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, Ergänzungsbd. 2, p. 512.)

3) Die Herstellung des Jodkaliumstärkepapiers geschieht folgendermaßen:

Ein Stückchen Stärke von der Größe einer Erbse wird fein pulverisiert, in 20 ccm siedendes Wasser eingetragen, und unter gutem Umrühren mit diesem kurze Zeit aufgekocht. Nach dem Erkalten fügt man eine Lösung eines linsengroßen Stückes Jodkalium in wenig Wasser hinzu und trinkt mit der Mischung lange, ca. 3 cm breite

Es empfiehlt sich dabei, so vorzugehen, daß die zuerst vorzunehmende Abstumpfung der alkalischen Reaktion nicht völlig bis zum Neutralpunkt ausgeführt wird, da es sich zeigte, daß in diesem Falle nach der darauf folgenden Entfernung des Chlors der Extrakt leicht saure Reaktion annehmen kann. Man beginnt deshalb mit dem Zusatz von Natriumsulfid schon dann, wenn durch Lackmuspapier noch eine schwach alkalische Reaktion angezeigt wird. Selbstverständlich wird der dann ganz chlorfreie Extrakt zum Schluß auf völlig neutrale Reaktion gebracht. Die Extrakte werden mit 0,5-proz. Karbol versetzt und im Eisschrank aufbewahrt. Sie sind monatelang haltbar und von gleichbleibender Wirksamkeit.

Erwähnen möchten wir noch, daß wir bei der Agglutination stärkere Serumkonzentrationen als 1:50 nicht verwendeten, da ja bekanntlich, wie wir uns auch durch eigene Versuche überzeugten, auch normale Kaninchensera, Colistämme in stärkeren Konzentrationen fast stets, in schwächeren bis 1:100 oft agglutinieren. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei der Komplementbindung. Hier kommt es bei der richtigen Wahl des hämolytischen Systems und bei Verwendung frischer klarer und ohne Karbolzusatz aufbewahrter Sera niemals zu irgendwie erheblichen unspezifischen Hemmungen, selbst in den stärksten Serumkonzentrationen. Erforderlich ist allerdings die Verwendung einer Blutart, für die das antibakterielle Immunserum normale hämolytische Ambozeptoren enthält, durch deren Einwirkung unspezifisch hemmende Faktoren gerade in höheren Serumkonzentrationen ausgeglichen werden. Für Kaninchensera käme also Hammelblut in Betracht. Wichtig für die Vermeidung unspezifischer Hemmungen ist ferner, daß im Versuch nur die Hälfte der an sich nicht mehr hemmenden Extraktmengen verwandt werden.

Zu unseren Versuchen dienten 4 typische Colistämme, von denen 3 (Coli 2, Coli 7, Coli 34) frisch aus dem Kaninchenkot, 1 aus der Maus (Maus-Coli) gezüchtet waren, sowie ein von einer Cystitis stammender Paracolistamm (Ib), mit denen insgesamt 11 Kaninchen durch intravenöse Einverleibung von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60 Grad abgetöteter Agarkultur

Tabelle 6.

Kaninchen 2 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 2:

- 1) am 1. Aug. 09 $\frac{1}{4}$ Oese,
- 2) am 8. Aug. 09 $\frac{1}{4}$ Oese,
- 3) am 16. Aug. 09 $\frac{1}{2}$ Oese.)

Entblutet am 24. Aug.

Serum inaktiv mit phys. NaCl-Lös. zu 0,5 cem aufgefüllt	Antiforminextrakt aus Coli 2 verdünnt 1:3	Meerschweinchen-serum aktiv verdünnt 1:2	hämolytischer Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von Serum Kan. 2	Hämolyse bei Verwendung von Serum Kan. 4	Agglutination von Formolkultur Coli 2		
							Serum aktiv verdünnt:	durch Serum Kan. 2	durch Serum Kan. 4
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	fast kompl.	mäßig	1:1600	+++	+++
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	wenig	Spur	1:3200	++	++
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	Spur	Spur	1:6400	++	+
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	wenig	mäßig	1:12800	+	—
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	stark	stark	Kontrolle	—	—
0,1		0,1	0,1	0,5	komplett	kompl.	ohne Serum	—	—
	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	kompl.			
	0,2			0,5	0				

Streifen von Filtrierpapier, welche man dann über einer ausgespannten Schnur an einem säurefreien Orte trocknet. Nach dem Trocknen zerschneidet man die Streifen und bewahrt sie in einem geschlossenen Gefäße auf.

immunisiert wurden. Die Einzelheiten der Immunisierung sind aus den Tabellen ersichtlich. Bei der Behandlung mit dem ersten Colistamm (Coli 2) überraschte es uns, daß wir entgegen unserer bei früheren Versuchen gewonnenen Erfahrung bei 2 Kaninchen schon nach wenigen Injektionen hoch agglutinierende Sera erhielten, deren komplementbindende Fähigkeit sehr gering war, da selbst in hohen Serumkonzentrationen eine komplette Hemmung der Hämolyse nicht eintrat. (Siehe Tabelle 6.)

Ebenfalls ein agglutinierendes Serum erhielten wir mit dem Paracolistamm IB, dieses zeigte keine Spur von Komplementbindung.

Tabelle 7.

Kaninchen 32 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Ib:

- 1) am 9. Dez. 09 $\frac{1}{4}$ Oese,
- 2) am 16. Dez. 09 $\frac{1}{2}$ Oese,
- 3) am 23. Dez. 09 $\frac{1}{2}$ Oese.

} intravenös

Entblutet am 23. Dez.

Serum Kan. 32 inaktiv mit phys. NaCl-Lös. zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin-extrakt aus Paracoli Ib verdünnt 1:3	Meerschweinchen-serum aktiv verdünnt 1:3	hämolytischer Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	eingetretene Hämolyse	Serum Kan. 32 aktiv verdünnt	Agglutination von Formolkultur Paracoli Ib
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	fast komplett	1:100	+++
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	fast komplett	1:200	+++
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	1:400	++
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	1:800	+
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	Kontrolle	
	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	ohne Serum	—
	0,2			0,5	0		

Durchaus anders verhielten sich die anderen Colistämme. Mit Coli 7 wurden zunächst 2 Tiere (Kaninchen 10 und 11) immunisiert. Die erzielten Immunsere zeigen beide starke Komplementbindung und keine Spur von Agglutination.

Tabelle 8.

Kaninchen 10 und 11 erhielten von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 7:

- 1) am 23. Sept. 09 $\frac{1}{4}$ Oese,
- 2) am 1. Okt. 09 $\frac{1}{4}$ Oese,
- 3) am 9. Okt. 09 $\frac{1}{2}$ Oese.

} intravenös

Entblutet 17. Okt.

Serum inaktiv mit phys. NaCl-Lös. zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin-extrakt aus Coli 7 verdünnt 1:2	Meerschweinchen-serum aktiv verdünnt 1:3	hämolytischer Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung		Serumverdünnung	Agglutination von Formolkultur Coli 7	
					von Serum Kan. 10	von Serum Kan. 11		durch Serum Kan. 10	durch Serum Kan. 11
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	1:50	—	—
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	1:100	—	—
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	1:200	—	—
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Spur	1:400	—	—
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	wenig	wenig	Kontrolle		
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	ohne Serum	—	—
	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett			
	0,2			0,5	0				

Daß auch in diesem Falle beide Tiere auf die Einverleibung eines Stammes in gleicher Weise (ebenso wie auch Kaninchen 2 und 4 bezüglich der Agglutination) reagierten, legte uns den Gedanken nahe, daß die Bildung agglutinierender bzw. komplementbindender Antistoffe wesentlich vom Bakterium und nicht vom Tier (innerhalb derselben Species) abhängt. Zur Entscheidung dieser Frage behandelten wir noch 4 andere Kaninchen mit Coli 7, und zwar wurden diese Tiere, um möglichst hochwertige Sera zu erhalten, öfter gespritzt als Kaninchen 10 und 11. Die von ihnen gewonnenen Immunsere verhalten sich wie die von Kaninchen 10 und 11, d. h. sie geben sämtlich außerordentlich starke Komplementbindung und bis auf Serum Kaninchen 13 und 18 keine Spur von Agglutination. Letztere auch nur in ganz schwachen Verdünnungen.

Tabelle 9.

Kaninchen 13, 16, 17, 18 erhielten von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 7:

- | | |
|---------------------------------------|--------------|
| 1) am 6. Okt. 09 $\frac{1}{8}$ Oese, | } intravenös |
| 2) am 13. Okt. 09 $\frac{1}{4}$ Oese, | |
| 3) am 26. Okt. 09 $\frac{1}{2}$ Oese, | |
| 4) am 6. Nov. 09 $\frac{1}{2}$ Oese, | |
| 5) am 19. Nov. 09 $\frac{1}{2}$ Oese. | |

Entblutet am 27. Nov. 09.

Serum inaktiv mit phys. NaCl-Lös. zu 0,5 ccm aufgefüllt	Anti-forminextrakt aus Coli 7 verdünnt 1:2	Meerschweinchen-serumaktiv verdünnt 1:4	hämolyt. Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von			
					Serum Kan. 13	Serum Kan. 16	Serum Kan. 17	Serum Kan. 18
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	0
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	0
0,003	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Sp	0	0
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0	wenig	Spch	0
0,001	0,1	0,1	0,1	0,5	mäßig	komplett	fehlt	Spur
0,1		0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	komplett	komplett
	0,2			0,5	komplett			
	0,2			0,5	0			

Serum aktiv verdünnt	Agglutination von Formolkultur Coli 7 durch:			
	Serum Kan. 13	Serum Kan. 16	Serum Kan. 17	Serum Kan. 18
1:50	++	—	—	+++
1:100	+	—	—	+++
1:200	—	—	—	++
1:400	—	—	—	—
1:800	—	—	—	—
Kontrolle ohne Serum	—	—	—	—

Den eben erwähnten Immunsereis gleichen 3 Sera, die mit dem aus der Maus gezüchteten Colistamme MC und einem Kaninchencoli 34 gewonnen sind, auch in ihnen so gut wie gar keine Agglutinine, neben bis in hohe Verdünnung nachweisbaren komplementbindenden Stoffen.

Tabelle 10.

Kaninchen 14 und 15 erhielten von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli MC:

1) am 4. Okt. 09 $\frac{1}{8}$ Oese, }
 2) am 12. Okt. 09 $\frac{1}{4}$ Oese, } intravenös
 3) am 27. Okt. 09 $\frac{1}{2}$ Oese, }
 4) am 5. Nov. 09 $\frac{1}{2}$ Oese, }
 5) am 19. Nov. 09 $\frac{1}{2}$ Oese. }
 Entblutet am 27. Nov. 09.

Kaninchen 36 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 34:

1) am 8. Dez. 09 $\frac{1}{16}$ Oese, }
 2) am 15. Dez. 09 $\frac{1}{8}$ Oese, } intravenös
 3) am 23. Dez. 09 $\frac{1}{4}$ Oese, }
 4) am 30. Dez. 09 $\frac{1}{2}$ Oese. }
 Entblutet am 7. Jan. 10.

Serum inaktiv mit phys. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Anti-forminextrakt verdünnt 1:2	Meerschweinchen-serum aktiv verdünnt 1:4	hämolyt. Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von		
					Serum Kan. 14 u. homolog. Extrakt	Serum Kan. 15 u. homolog. Extrakt	Serum Kan. 36 u. homolog. Extrakt
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,003	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0
0,1	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	komplett
	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	komplett
				0,5	0	0	0

Serum aktiv verdünnt	Agglutination von Formolkultur		
	Coli MC durch Serum Kan. 14	Coli MC durch Serum Kan. 15	Coli 34 durch Serum Kan. 36
	1:100	++	+
1:200	+	?	+++
1:400	—	—	+
1:800	—	—	—
Kontrolle ohne Serum	—	—	—

Wir werden wohl nicht fehl gehen, wenn wir diese Resultate in dem Sinne deuten, daß es in der Eigentümlichkeit des Stammes gelegen ist, ob vorzugsweise oder ausschließlich der eine oder der andere Antikörper auftritt¹⁾.

Wie wir bereits erwähnten, sind diese Feststellungen für die Frage des Zusammenhanges von agglutinierenden und komplementbindenden Antikörpern von Bedeutung. Bezüglich der Natur der die Komplementbindung vermittelnden Stoffe sind die Meinungen recht geteilt. Während Gengou²⁾, der Entdecker der durch Kombination von Eiweiß und Antieiß zustande kommenden Komplementbindung, sie als Ambozeptoren auffaßt, neigte man späterhin dazu, sie mit den Präzipitinen,

1) Aus diesen Befunden erklären sich auch die außerordentlich wechselnden Angaben der Autoren. Während den einen die Erzielung agglutinierender Anticolisera leicht gelungen ist, betonen andere die Schwierigkeit, bei mit Bact. coli immunisierten Tieren Agglutinine zu erzeugen.

2) Gengou, O., Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes. (Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 16. 1902.)

resp. den Agglutininen zu identifizieren. Das war um so erklärlicher, als gerade das Studium der Präzipitationsvorgänge durch Moreschi¹⁾, Gay²⁾ und Klein³⁾ die in Vergessenheit geratenen Befunde Gengous wieder in Erinnerung brachte. Diese Autoren zeigten nämlich, daß der Vorgang der Präzipitation auch mit einer Bindung von Komplement vergesellschaftet sei. Demgegenüber halten M. Neisser und Sachs⁴⁾ an der ursprünglichen Anschauung Gengous fest, da sie zeigen konnten, daß bei Kombination von Eiweiß und Antieißweiß Komplementbindung auch ohne sichtbare Präzipitation auftritt, wofür auch Friedberger⁵⁾ ein eklatantes Beispiel mitteilt. Derselben Anschauung schlossen sich auf Grund ihrer Versuche mit Bakterienextrakten Wassermann und Bruck⁶⁾ an. Sie erhielten mit alten Bakterienextrakten, die die Fähigkeit zur Präzipitation eingebüßt hatten, deutliche Komplementbindung. Diese Veränderung des Antigens, die Wassermann und Bruck beim einfachen Lagern der Extrakte konstatieren konnten, erzeugte Liefmann⁷⁾ experimentell durch Erhitzen von Eiweißantigen, das dadurch nicht mehr präzipitabel war, aber sich trotzdem noch zur Komplementbindung eignete. Diese Befunde in Verbindung mit denen anderer Autoren, die ebenfalls sowohl quantitative wie qualitative Differenzen zwischen Präzipitation und Komplementbindung fanden, haben bewirkt, daß man sich im wesentlichen wieder der alten Auffassung Gengous zuwandte.

Neuerdings treten wieder Ballner und Reibmayr⁸⁾ auf Grund vergleichender Untersuchungen für die Identität von präzipitierenden bzw. agglutinierenden und komplementbindenden Antikörpern ein. Sie finden in ihren Versuchen mit antibakteriellen Seris (Kapsel-, Typhus-, Cholerabacillen, Staphylokokken und Milzbrand) einen Parallelismus zwischen agglutinierendem und komplementbindendem Vermögen ihrer Immunsera, der sich auch im zeitlichen Auftreten der beiden Antikörper äußerte. Als besonders beweisend für deren Zusammenhang erscheint ihm die Tatsache, daß in den Immunseris, aus denen sie die Agglutinine durch Eintragen der homologen Bakterienart entfernten, auch die Kom-

1) Moreschi, C., Zur Lehre von den Antikomplementen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 37. 1906. No. 4.) — Weiteres über Antikomplemente. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906.)

2) Gay, The fixation of alexines by specific serum precipitates. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905.) — La déviation de l'alexine dans l'hémolyse. (Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 22. 1905.)

3) Klein, A., Ueber die Beeinflussung des hämolytischen Komplements durch Agglutination und Präzipitation. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 48.)

4) Neisser, M. und Sachs, Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 44.) — II. Mitteilung. (Ebenda. 1906. No. 3. — Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 39.)

5) Friedberger, E., Zur forensischen Eiweißdifferenzierung auf Grund der hämolytischen Methode mittels Komplementablenkung, nebst Bemerkungen über die Bedeutung des Präzipitates für dieses Phänomen. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 16.)

6) Wassermann und Bruck, Ist die Komplementbindung beim Entstehen spezifischer Niederschläge eine mit der Präzipitation zusammenhängende Erscheinung oder Ambozeptorwirkung. (Med. Klin. 1905. No. 55.)

7) Liefmann, H., Ueber die Komplementablenkung bei Präzipitationsvorgängen. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 15.)

8) Ballner und Reibmayr, Ueber die Verwertbarkeit der Komplementablenkungsmethode für die Differenzierung von Mikroorganismen, nebst Bemerkungen über den Zusammenhang dieses Phänomens mit der Agglutinations- bzw. Präzipitationsreaktion. (Arch. f. Hyg. Bd. 64. p. 113.)

plementbindung vermittelnden Stoffe verschwunden waren. Auch glauben sie in der Tatsache, daß gerade die präzipitierenden, sowie diejenigen antibakteriellen Sera, die durch Immunisierung mit solchen Mikroorganismen gewonnen werden, die leicht Agglutinine auslösen, sich auch zur Komplementbindung am besten eignen, eine Stütze für ihre Anschauung zu haben.

Ueberblicken wir nun das Resultat unserer eigenen Versuche, so kann von einem Parallelismus der beiden Immunitätsreaktionen nicht die Rede sein. Fanden wir schon beim Paratyphus neben quantitativen Unterschieden im Verlauf der Immunisierung eine erhebliche zeitliche Differenz im Auftreten von Agglutininen und antikomplementären Stoffen, so sahen wir bei den Coli-Immunsereis einen direkten Antagonismus zwischen agglutinierendem und komplementbindendem Vermögen. Geben doch gerade diejenigen Sera, die stark agglutinierende Wirkung haben, geringe resp. keine Komplementbindung, während diejenigen, bei denen selbst in hohen Verdünnungen ablenkende Antikörper nachweisbar sind, keine oder nur schwache Agglutination geben. Erinnern möchten wir hier auch noch an die gelegentlich der Immunisierung eines Kaninchens (11) mit Paratyphus B-Bacillen gemachte Beobachtung, daß kurz nach der zweiten Injektion die schon vorhandenen komplementbindenden Antikörper verschwunden waren („negative Phase“), während die Agglutinine unbeeinflusst blieben.

Den Absorptionsversuchen von Ballner und Reibmayr ist eine Bedeutung im Sinne der Identität von Agglutininen und komplementbindenden Antikörpern natürlich nicht zuzusprechen, da es ja nicht wunderbar ist, daß auch zwei verschiedene Antikörper durch das sie erzeugende Antigen absorbiert werden.

Auch das erwähnte Argument, daß gerade die mit leicht Agglutinine hervorrufenden Bakterien erzeugten Sera sich gut zur Komplementbindung eignen, wird durch die beim Coli gewonnenen Erfahrungen hinfällig.

Unsere Befunde sind ähnlich denen, die Muir und Martin¹⁾ bei Immunisierung mit artfremdem Eiweiß erhielten, daß nämlich die komplementbindenden Antikörper schon zu einer Zeit auftraten, wo Präzipitine noch nicht nachweisbar waren. Auch erzielten Muir und Martin durch Immunisierung von Kaninchen mit Meerschweinchen-serum Antisera, die Komplementbindung gaben, aber keine Präzipitation. Umgekehrt erhielt Moreschi²⁾ von Vögeln Antisera, die keine Komplementbindung, aber starke Präzipitation zeigten.

Wir möchten dahin resumieren, daß auch auf Grund unserer Versuche ein Zusammenhang zwischen Komplementbindung vermittelnden Antikörpern und Agglutininen (resp. Präzipitinen) im Sinne einer Identität nicht gefolgert werden kann. Was ihr Verhältnis zu anderen Antikörpern, z. B. den Ambozeptoren, anlangt, so möchten wir auf die zusammenfassende Darstellung von Sachs und Verfasser³⁾ verweisen.

1) Muir und Martin, On the deviation of complement by a serum and its antiserum and its relations to the precipitine test. (Journ. of Hyg. Vol. 6. 1906.)

2) Moreschi, l. c.

3) Sachs, H. und Altmann, K., Komplementbindung. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. 1909. Ergänzungsbd. II. p. 478.)

Zusammenfassung.

1) Es gelingt mit Hilfe der Komplementbindungsmethode, die Untergruppe Paratyphus B (Enteritis I) ebenso wie mit der Agglutination von der Ratingruppe (Enteritis II) zu unterscheiden.

2) Eine weitere Differenzierung innerhalb der Untergruppen war nicht möglich.

3) Die Unabhängigkeit der Agglutininproduktion von der Produktion der komplementbindenden Stoffe wurde erwiesen

a) durch das sehr verschiedene Verhältnis des Titers der beiden Stoffe in manchen Seris gegenüber verschiedenen Stämmen,

b) durch das verschiedene zeitliche Auftreten beider Stoffe im Laufe der Immunisierung,

c) durch das gelegentliche verschiedene Verschwinden beider Stoffe,

d) durch die bei einer großen Anzahl von Immunseris erwiesenen Tatsache, daß der eine der beiden Stoffe reichlich vorhanden ist, ohne daß der andere nachgewiesen werden konnte.

4) Nach unseren Versuchen müssen wir annehmen, daß es mehr im Antigen als im antikörperliefernden Organismus gelegen ist, ob vorzugsweise Agglutinine oder komplementbindende Antikörper erzeugt werden.

5) Als Antigen für die Komplementbindungsmethode empfehlen wir die erwähnten Antiforminextrakte.

Nachdruck verboten.

Das Verhalten des Milzbrandbacillus auf bluthaltigen Nährböden.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin
(Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky.
Abteilungsleiter: Dr. Jos. Koch).]

Von **Mentz von Krogh.**

Die Arbeiten verschiedener Autoren über die Frage der Toxinbildung des Milzbrandbacillus haben im allgemeinen zu dem übereinstimmenden Resultat geführt, daß er in künstlichen Nährböden giftige Stoffe nicht erzeugt. Ich erwähne hier die Arbeit Conradis, der auf Grund der bisherigen und eigenen Versuche bemerkt: „Bei Anwendung unserer gegenwärtigen Methoden konnte der Nachweis nicht erbracht werden, daß der Milzbrandbacillus ein extracelluläres lösliches oder ein intracelluläres Gift im Organismus empfänglicher oder refraktärer Tiere bildet. Vielmehr gewinnt die Annahme hohe Wahrscheinlichkeit, daß der Milzbrand überhaupt keine giftigen Substanzen im Tierkörper erzeugt. — Ob späterhin den Fortschritten verfeinerter chemischer Methodik eine Toxindarstellung gelingen wird, entzieht sich unserer Beurteilung. Vorläufig ist die Hypothese eines Milzbrandgiftes zurückgewiesen worden,

und bis auf weiteres hat der Milzbrandbacillus als Typus eines infektiösen Mikroorganismus zu gelten.“

Spätere Untersuchungen von Sobernheim haben aber doch erwiesen, daß Bouillonkulturen des Milzbrandbacillus schwache hämolytische Wirkung zeigen können, und v. Wunschheim, der die Hämolyse des Milzbrandbacillus im Tierkörper und im Reagensglase eingehend studiert hat, ist zu dem Ergebnis gekommen, daß er im Tierkörper ein Hämolyysin erzeugt, das sich in einer in der Agone auftretenden Hämolyse oder wenigstens Schädigung der Blutkörperchen bemerkbar macht. Er hat auch die schwach hämolysierende Wirkung einiger Bouillonkulturen und Kulturfiltrate konstatieren können.

Da wir in der Blutagarplatte ein weit feineres Reagens zum Nachweis schwacher Hämolyse besitzen, schien es wünschenswert, mittels dieser Methode den Milzbrandbacillus daraufhin zu untersuchen. Versuche in dieser Richtung waren bereits mit einigen Stämmen von Jos. Koch angestellt; nachdem er gefunden hatte, daß sie in der Tat auf der Platte hämolytische Höfe erzeugten, habe ich auf seine Anregung hin das Phänomen genauer studiert.

Ich bin dabei so verfahren, daß ich zu dem flüssigen Agar 10 Proz. defibriniertes Blut zugesetzt habe oder von den gewaschenen Blutkörperchen 5 Proz. Die Platten sind recht dünn zu gießen, da sich dann die Hämolyse deutlicher bemerkbar macht und früher auftritt. Um die Platten recht dünn herstellen zu können, ist es empfehlenswert, sie vor dem Gießen etwas über der Flamme zu erwärmen, sonst erstarrt der Agar zu früh, da seine Temperatur ja, um die Blutkörperchen nicht zu schädigen, nur etwa 40—45° betragen darf.

Auf den erstarrten Agarblutplatten wurden alsdann mittels der Platinnadel etwa 7 Punkte durch einfaches Berühren der Platte mit der infizierten Nadel geimpft. Vom Ausstreichen wurde Abstand genommen, weil auf diese Weise eine gleichmäßige Verteilung und Größe der Kolonien nicht zu erreichen war.

Zur Verwendung kamen 12 verschiedene Milzbrandstämme, zunächst 9 Stämme „Hochschule I—IX“, die im Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule frisch aus dem Tierkörper gezüchtet waren¹⁾. Dann die beiden Stämme „Institut I und II“ und schließlich ein Stamm, der vom Schlachthof stammte und nach diesem benannt wurde²⁾. Diese letzten drei Stämme sind alte Laboratoriumsstämme. Sie wurden sämtlich mit Blut vom Kaninchen, Hammel und Pferd geprüft, und zwar sowohl mit dem defibrinierten Blute, als auch mit den vom Serum durch Waschen befreiten roten Blutkörperchen dieser Tiere. Meerschweinchenblut habe ich nicht angewandt, doch hat Jos. Koch bei seinen ersten Versuchen zeigen können, daß auch dieses in der Agarplatte von dem Milzbrandbacillus hämolysiert wird.

Bei meinen Versuchen hat es sich gezeigt, daß die Hämolyse durch die Gegenwart des Serums meistens nicht gehemmt, zuweilen sogar etwas befördert wird.

Die Kolonien nehmen auf der Blutagarplatte zunächst eine schwach rötliche, nachher eine graue, grüne, dann braune und schließlich eine

1) u. 2) Herrn Dr. Rissling, Repetitor am Hygienischen Institut, sowie Herrn Obertierarzt Dr. Bongert sei an dieser Stelle für die freundliche Ueberlassung der Stämme bestens gedankt.

fast schwarze Farbe an. Diese Farben sind um so deutlicher, je größer der Hämoglobingehalt der Platte ist.

Nach 24—48 Stunden macht sich bei den meisten Stämmen ein deutlicher durchsichtiger Hof um die Kolonie bemerkbar, der sich allmählich verbreitert und sich mit dem Wachsen der Kolonie vor dieser hervorschiebt. Viele Milzbrandstämme wachsen bekanntlich auf der Agarplatte in der Weise, daß sie geschlängelte Ausläufer von der ursprünglichen annähernd runden Kolonie herausschicken; zuweilen wird auch an diesen Ausläufern ein hämolytischer Hof sichtbar, meistens aber nicht, so daß die Ausläufer zu dem Rande des hämolytischen Saumes oder gar über ihn hinaus hervordringen, während der Hof selbst seine runde Form beibehält. Die Größe der Kolonien beträgt nach 20 bis 24 Stunden meistens 3—10 mm, wovon die Ausläufer oft die Hälfte oder mehr einnehmen können; Kolonien, die zahlreiche und lange Ausläufer besitzen, sind gewöhnlich an und für sich kleiner, als solche ohne Ausläufer. Der umgebende hämolytische Hof schwankt in seiner Breite von 0,5—5 mm oder noch mehr.

Bei Pferdeblut war die Hämolyse nach 24 Stunden eine recht spärliche; ich habe deswegen die Platten noch 24 Stunden stehen lassen und habe dann bis 20 mm große Kolonien mit einem bis 8 mm breiten hämolytischen Rand bekommen.

Oefter wird der hämolytische Hof seinerseits von einem dunkleren scharfen Rand umgeben, der gegen die umgebende Platte aber ganz allmählich in den sonstigen Farbenton der Platte übergeht. Ein einziges Mal (Stamm Hochschule IX in der Kaninchenblutplatte) habe ich innerhalb des hämolytischen Saumes ein kleines irisierendes Häutchen gesehen, das von der Kolonie ausging, sich aber nicht mit der Ausbreitung der Hämolyse deckte.

Die Resultate sind in der Tabelle übersichtlich geordnet.

Stamm	Hämolyse bei					
	Kaninchenblut nach 24 Stunden		Hammelblut nach 24 Stunden		Pferdeblut nach 48 Stunden	
	Ge- waschene Blut- körperchen	De- fibriniertes Blut	Ge- waschene Blut- körperchen	De- fibriniertes Blut	Ge- waschene Blut- körperchen	De- fibriniertes Blut
Hochschule I	+++	++	+++	+	+++	+++
„ II	+++	+++	+++	++	+++	+++
„ III	+	++	++	—	+	—
„ IV	++	+++	+++	++	+++	+++
„ V	+++	+++	+++	++	+++	++
„ VI	++	+++	++	++	+++	+++
„ VII	++	+++	++	+	+++	+++
„ VIII	+++	+++	++	+	+++	+++
„ IX	++	+++	++	+	+++	+++
Institut I	+	++	++	—	+++	—
„ II	++	+++	+++	++	+	+
Schlachthof	++	+++	+++	++	+++	++

+ = Hämolytischer Saum von 0—1 mm.

++ = „ „ „ 1—3 „

+++ = Saum entweder immer breiter als 2 mm oder eine Breite von teilweise mehr als 5 mm.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, stehen die Stämme Hochschule III und Institut I in der hämolytischen Fähigkeit erheblich zurück; aus welchem Grunde läßt sich nicht sagen. Ich habe versucht, ob Kaninchenpassagen einen befördernden Einfluß auf die Bildung des Hämolsins haben und deswegen Stamm Hochschule IV dreimal durch Kaninchen geschickt, ohne jedoch irgendwelche Beeinflussung desselben zu sehen.

Die Verfärbung der Kolonien, die ein häufiges Ereignis bildet, ist von mir näher untersucht worden. Es lag nahe, anzunehmen, daß diese Verfärbung in der Bildung von Schwefelwasserstoff ihre Ursache hatte, da ja bekanntlich viele Bacillen bei ihrem Wachstum H_2S bilden; um dieses nachzuweisen, wurden einige Platten dick geimpft, so daß nach 24 Stunden der Bacillus einen dicken Rasen auf der Platte bildete. In den Deckel wurde ein Stück mit Bleiessig getränktes Fließpapier gelegt. In der Tat zeigte es sich, daß in mehreren Petri-Schalen das Fließpapier durch H_2S geschwärzt war. Dies war aber nur bei den Platten der Fall, die mit Blut versetzt waren, nicht aber bei denjenigen, die lediglich gewaschene Blutkörperchen enthielten, in denen also kein Serum war. Dagegen konnte in Platten, die mit Serum allein ohne Blutkörperchen versetzt waren, ebenfalls H_2S -Bildung nachgewiesen werden. Der H_2S wird somit aus dem Serumeiweiß gebildet und hat mit der hämolytischen Fähigkeit des Bacillus nichts zu tun.

Wenn Conradi die Produktion eines Toxins des Milzbrandbacillus in Abrede stellt, so zeigen doch die Beobachtungen von Sobernheim, von v. Wunschheim und Jos. Koch sowie meine eigenen Untersuchungen, daß der Milzbrandbacillus giftige Stoffe in der Form eines Hämolsins erzeugen kann, eine Vermutung, die bereits Rob. Koch in seiner klassischen Arbeit über Milzbrand mit den Worten ausgesprochen hat: „Es würde zu weit führen, die Frage nach der eigentlichen Todesursache der an Milzbrand sterbenden Tiere zu erörtern, ob dieselben durch die bei dem intensiven Wachstum der Bacillen im Blute entwickelte Kohlensäure oder, was wohl wahrscheinlicher ist, durch giftig wirkende Spaltprodukte der von den Parasiten zu ihrer Ernährung verbrauchten Eiweißkörper getötet werden.“

Inwieweit die hier beobachtete, immerhin schwache Toxinbildung bei der pathogenen Wirkung des Milzbrandbacillus auf den Tierkörper in Frage kommt, ist jedoch eine andere Frage, die hier nicht näher untersucht werden soll.

Anmerkung bei der Korrektur.

Bei mikroskopischer Untersuchung von Schnitten durch die Kolonie hat es sich gezeigt, daß die Blutkörperchen in dem hämolytierten Teile der Platte wirklich verschwunden sind, so daß man an diesen Stellen nur weiße Blutkörperchen und Pigmentschollen von den aufgelösten Erythrocyten sieht.

Literatur.

- Koch, R.**, Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit. (Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. II. 1876.)
Conradi, Zur Frage der Toxinbildung der Milzbrandbakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. 1899.)
Sobornheim, Milzbrand. (Handb. v. Kolle u. Wassermann.)
v. Wunschheim, Ueber Hämolyse im Reagensglas und im Tierkörper. (Arch. f. Hyg. Bd. 44.)

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Altmann, Karl, Komplementbindung und Agglutination bei der Paratyphus-, Typhus- und Coligruppe, p. 174.
 Bitter, Ludwig, Vergleichende Desinfektions- und Wohnungsdesinfektionsversuche mit besonderer Berücksichtigung von Autan und Formobas, p. 159.
 Castellani, Aldo, Note on the intestinal bacteriological flora of normal individuals in the tropics, p. 123.
 Heidsieck, Nachweis des Soorpilzes in diphtherieverdächtigen Rachenabstrichen. Besonderes Wachstum eines Soorstammes, p. 108.
 Laven, Ludwig, Ueber ein für Kaninchen und Meerschweinchen pathogenes, noch nicht beschriebenes Bakterium, p. 97.</p> | <p>von Krogh, Ments, Das Verhalten des Milzbrandbacillus auf bluthaltigen Nährböden, p. 188.
 Pettersson, Alfred, Studien über die Endolysine. II. Ueber die Schutzwirkung in den Tierkörper injizierter Leukocyten und Leukocytenextrakte gegen Milzbrandinfektion, p. 131.
 Scheller, Robert, Ueber den Agglutinationsmechanismus, p. 150.
 Tedeschi, A., Ein praktisches Verfahren für experimentelle Uebertragungen anaërober Keime, p. 105.
 Truffi, Mario, Immunisierungsversuche gegen Syphilis beim Kaninchen, p. 145.
 Weltmann, Oskar, Ueber Endocarditis bei Pneumobacillenseptikämie, p. 115.</p> |
|---|---|

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertigestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 54. Heft 3.

Nachdruck verboten.

L'état actuel de nos connaissances sur le rôle des mouches dans la dissémination des maladies parasitaires et sur les moyens de lutte à employer contre elles.

[Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Le rôle nuisible des mouches pour la santé, et sous la dénomination de mouches, j'entends parler exclusivement des muscides non pourvus de trompe apte à piquer, est aujourd'hui nettement établi. À l'état larvaire, les mouches peuvent s'adapter à vivre sur et dans le corps des animaux, provoquant une série de troubles morbides connus sous la dénomination de myiases (myiases des plaies, cutanées, nasales, buccales, oculaires, auriculaires, intestinales et vésicales). À l'état d'image, elles agissent:

1^o D'une façon directe par l'irritation, les chatouillements qu'elles provoquent en se portant sur la peau, sur la conjonctive, pour en sucer les produits qui les humectent, irritation et chatouillements qui empêchent tout repos et provoquent, surtout chez les enfants, un état de véritable énervement.

2^o D'une façon indirecte en colportant sur leur trompe, leur corps, leurs pattes, dans leur appareil digestif, des parasites végétaux ou animaux, qu'elles déposent ensuite sur la peau, sur les muqueuses, sur les plaies de l'homme et des animaux et surtout sur les aliments et dans les boissons. Ce second rôle des mouches, est des plus importants à être pris en considération au point de vue de la prophylaxie des maladies parasitaires. Que les mouches puissent exercer ce rôle, on se l'explique aisément, si l'on pense que ces diptères se posent en grand nombre sur toutes les matières en putréfaction, sur les excréments de l'homme et des animaux, sur les crachats, les urines, le pus, les viscères de l'homme et des animaux, pendant les autopsies et dans les abattoirs, etc. En outre, Cao¹⁾ a pu démontrer, que les bactéries introduites dans l'appareil digestif par les larves de *Lucilia caesar*, *Calliphora vomitoria*, et *Sarcophaga carnaria*, se retrouvent dans l'intestin des images qui les disséminent, soit avec leurs excréments, soit avec leurs œufs, à la surface desquels ces bactéries adhèrent. Ce fait très important pour l'étiologie et la prophylaxie des maladies parasitaires, pourrait faire penser que certaines affections puissent reparaitre dans un endroit donné, après un certain temps, grâce à des mouches provenant de larves qui s'étaient infectées avec les germes de ces maladies. En effet, ces germes ne sont nullement atténués, car Cao a constaté que non seulement ils gardent leur virulence dans l'intestin des larves, mais quelques-uns y augmentent de virulence. Les espèces de mouches qui jouent surtout ce rôle nuisible de colporteurs sont: *Musca domestica* Linn., *Muscina stabulans* Fall., Calli-

1) *Annali d'Ig. sper.* Vol. 16. p. 645.

phora erythrocephala Meig., *C. vomitoria* Linn., *Sarcophaga carnaria* Meig. etc.

J'exposerai d'abord en résumé les observations faites jusqu'à maintenant sur le rôle de ces muscides dans la dissémination de parasites animaux et végétaux, pour passer ensuite, après un exposé de leur biologie, à l'indication des moyens que l'on peut employer, pour empêcher leur développement, les détruire, ou se protéger contre eux.

a) Rôle des mouches dans la dissémination des parasites animaux.

Cobbold¹⁾ avait pensé que les mouches peuvent colporter les œufs de *Fasciola hepatica* et les ensemercer dans les eaux. En 1883, Grassi²⁾ ayant placé dans une assiette, dans sa chambre de travail, des fèces contenant des œufs de *Trichocephalus trichiurus* trouvait, après quelques heures, ces œufs dans les excréments des mouches déposés sur des feuilles de papier à la cuisine, qui était éloignée du laboratoire d'environ 10 mètres. Il examina le contenu intestinal de ces mouches et le trouva rempli de fèces avec des œufs de trichocéphale. Dans une autre expérience, Grassi, après avoir délayé dans l'eau, des anneaux mûrs de *Taenia solium*, en trouvait les œufs une demi-heure après, dans l'intestin et les excréments des mouches qui avaient bu de cette eau. Une constatation analogue, il la faisait pour les œufs d'*Oxyuris vermicularis*. Stiles³⁾ ayant placé des larves de mouches avec une femelle d'*Ascaris lumbricoides*, trouva après dans les images écloses de ces larves, les œufs de ce parasite en voie de développement. Dans des expériences faites avec *Necator americanus*⁴⁾, j'ai constaté que *Musca domestica* peut porter à la surface de son corps œufs et larves de ce parasite, une fois qu'elle a été en contact avec les matières fécales qui le contiennent. Plus tard⁵⁾ j'attirai l'attention sur le rôle que les mouches peuvent jouer dans la dissémination des helminthes, qu'elles déposent à l'état d'œufs ou de larves sur les aliments. Léon⁶⁾ ayant mélangé des œufs de *D. latus* avec du miel, a trouvé les œufs de ce parasite dans les excréments des mouches. Il pense que les mouches qui portent ces œufs, ingérées par des poissons pourraient les infecter de larves de *D. latus*, mais la chose n'est pas possible, car les œufs de ce parasite doivent d'abord s'embryonner dans l'eau. Elles pourraient tout au plus, en tombant dans l'eau, y ensemercer les œufs. Calandruccio, a même trouvé que les mouches peuvent transporter *Pediculus cervicalis*.

Les mouches ont été accusées de transmettre des affections à protozoaires ou dues probablement à des protozoaires. Ainsi suivant Nuttall⁷⁾, Budd et Laveran, leur font jouer un rôle dans la dissémination du trachome, mais telle ne semble pas être l'opinion de plusieurs médecins qui pratiquent en Tunisie. Suivant Hirsch et Cadet⁸⁾, les

1) Parasites. London 1879.

2) Gazzetta d. ospedali. 1883. No. 59.

3) Cité par Nuttall, On the role of insects arachnoids and myriapods, as carriers in the spread of bacterial and parasitic diseases of man and animals. (John Hopkin's Hospital Reports. Vol. 8. 1899. p. 39.)

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 242.

5) Therap. Monatsh. 1905. Juli.

6) Bull. d. méd. et naturalistes. Jassy 1908. No. 9 et 10.

7) Travail cité. p. 35.

8) Travail cité. p. 34.

mouches pourraient servir à la transmission de la framboesia. Robertson¹⁾ a dernièrement appuyé cette idée: les chambres des malades sont remplies de mouches, et en ensemençant celles-ci dans de l'agar, bien qu'il n'y ait pas trouvé *Sp. pertenuis*, il y a trouvé des bactéries identiques à celles qu'il avait trouvées sur les lésions. En outre, ayant lavé dans l'eau stérilisée, 200 mouches prises sur des lésions de framboesia, il y a trouvé des exemplaires de *Sp. pertenuis*. Dansauer²⁾ pense que les mouches jouent en Afrique un rôle important dans la dissémination de la dysenterie amibienne. Suivant Terni³⁾, *M. domestica* jouerait un rôle important dans la dissémination de la variole: ayant inoculé des mouches prises dans un établissement vaccinal, il a pu déterminer des pustules de vaccine, et un fait analogue s'observerait pour la variole. Des mouches infectées (variole ou vaccine?) gardées à 20—25°, donnaient après 4—7 jours un virus exalté. Terni aurait même observé dans l'épithélium intestinal de ces mouches, des corps de Guarnieri qui y accompliraient un cycle évolutif. Ces recherches auraient besoin d'être confirmées.

b) Rôle des mouches dans la dissémination des parasites végétaux.

Plus encore que la dissémination des parasites animaux, les mouches peuvent jouer un rôle dans la dissémination des parasites végétaux supérieurs (blastomycètes et hyphomycètes) et inférieurs (bactéries). Grassi⁴⁾ a expérimentalement constaté que les mouches peuvent disséminer avec leurs matières fécales, *Oidium lactis* et *Botrytis bassiana*. Manning⁵⁾ a trouvé que des mouches peuvent transporter des hyphomycètes. Dans quelques recherches que j'ai faites au point de vue de la destruction des mouches, j'ai constaté qu'elles peuvent transporter des spores d'*Aspergillus niger* et de *Penicillium glaucum*. Les mouches ont été souvent accusées de disséminer *M. tuberculosis*. En 1886, Spillmann et Haushalter⁶⁾ trouvaient de nombreux *M. tuberculosis* dans l'intestin de mouches capturées dans le voisinage de tuberculeux, et dans leurs excréments déposés sur les murs et les vitres d'une salle d'Hôpital. «Après leur vie, concluaient-ils, ces insectes se dessèchent et tombent en poussière, les bacilles qu'ils contiennent sont mis en liberté, et, comme les mouches vont mourir sur les plafonds, sur les tentures, sur les tapisseries, elles peuvent aller semer partout les germes de la tuberculose. Ces germes, elles peuvent encore les disséminer par leurs excréments dont elles vont imprégner bien de substances alimentaires dont elles sont si friandes.»

Hoffmann⁷⁾ à son tour, examinant le contenu intestinal de 6 mouches prises dans la chambre d'un tuberculeux, trouvait dans 4, *M. tuberculosis*. Ces mêmes bactéries se trouvaient dans les fèces des mouches déposées sur les murs de la même chambre. Il donnait alors des crachats tuberculeux à manger à des mouches, il trouvait les

1) Journ. of trop. Med. 1908. p. 13 and 213.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908. p. 280.

3) Ber. üb. d. XIV. internat. Kongr. f. Hyg. u. Dem. Bd. 4. p. 133. Berlin 1908.

4) Travail cité.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32. 1903. p. 179.

6) Compt. rend. de l'Acad. des sc. T. 105. 1886. p. 352.

7) Corresp.-Blatt d. ärztl. Kreis- u. Bez.-Ver. im Königr. Sachsen. 1888. No. 12

germes dans leurs excréments et il lui sembla noter qu'elles succombaient à l'infection. L'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil de 5 cobayes, des excréments de ces mouches, détermina chez l'un une tuberculose locale et générale.

Alessi¹⁾ donnait aussi à manger à des mouches des crachats à *M. tuberculosis* et trouvait ces bactéries dans l'intestin et dans les matières fécales déposées sur un morceau de papier, du 75 % de ces mouches. L'inoculation de ces excréments dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, y détermina des tubercules.

Les mouches ont été accusées de jouer un rôle dans la dissémination du charbon sang de rate et surtout de la pustule maligne. Des mouches s'étant infectées de *B. anthracis* sur des viscères ou des peaux d'animaux morts de charbon, pourraient en se portant sur des lésions de la peau ou des muqueuses les ensemercer avec ce bacille. Dans un cas de pustule maligne que j'ai eu l'occasion d'examiner il y a déjà un certain nombre d'années, le patient, un ouvrier tanneur, accusait nettement une mouche qui volait dans une chambre où il y avait des peaux infectées, de s'être posée sur une petite excoriation qu'il avait à la lèvre et d'y avoir déterminé l'infection charbonneuse. Déjà en 1869, Raimbert²⁾, plaçant des mouches dans un bocal avec du sang d'animaux morts de charbon, trouvait *B. anthracis* sur et dans le corps de ces diptères, et l'inoculation de ces mouches aux cobayes leur donnait le charbon. Ces expériences furent confirmées par Davaine³⁾ avec *C. vomitoria* et par Alessi⁴⁾ qui plaçant des mouches en contact avec *B. anthracis*, trouvait ce bacille encore vivant dans leurs déjections. Cao⁵⁾ plaçant des larves et des images de mouches sur des viscères d'animaux morts du charbon, a trouvé *B. anthracis* dans leur intestin et dans leurs excréments. Le rôle des mouches dans la dissémination de la peste bubonique a été signalé déjà il y a longtemps. Suivant Hunter⁶⁾ l'évêque Knud en 1498, disait qu'un des premiers signes de l'approche de la peste, était l'apparition d'un grand nombre de mouches. Le chirurgien Fabricius qui pratiquait dans le canton de Vaud pendant la grande épidémie de peste de 1613, ayant constaté que des chaumières isolées furent atteintes jusque sur les plus hautes montagnes, quoique séparées les unes des autres et sans communication entr'elles, signala parmi les véhicules possibles de la maladie, les mouches qui pullulaient⁷⁾. Au XIX^e siècle, Haeser, à propos de l'épidémie de peste de Benghazi en 1858—59, notait que les Turcs appelaient cette ville le royaume des mouches. En 1894, Yersin⁸⁾ établissait par l'examen microscopique et par l'inoculation aux cobayes la présence de *B. pestis* chez les mouches ayant été en contact avec du matériel provenant de pestiférés et il affirmait que ces diptères succombaient à l'infection. Nuttall⁹⁾ confirmait la chose et constatait que les mouches peuvent garder vivant dans leur organisme *B. pestis* pendant plus de

1) Archivio per le scienze med. Vol. 12. 1888. p. 279.

2) Cité par Nuttall. p. 9.

3) Cité par Nuttall. p. 10.

4) Travail cité.

5) Travail cité.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 43.

7) Morax, Statistique médicale du canton de Vaud. Lausanne 1899. p. 93.

8) Ann. de l'Institut. Pasteur. 1894. p. 662.

9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. 1897. p. 87.

48 heures. Hunter¹⁾ ayant noté la fréquence des mouches sur les pestiférés à Hongkong, pratiquait des recherches sur ces diptères capturés dans les salles d'hôpital et d'autopsie et il y trouvait, suivant les endroits, les mouches infectées dans la proportion de 5 à 75 %. Il n'a jamais noté une mortalité plus grande chez les mouches infectées que chez les normales. Hunter dit que les mouches s'infectent sur les cadavres, sur les malades, sur les excréments provenant de ceux-ci, et qu'elles déposent les bacilles sur les matières alimentaires. En effet en plaçant des morceaux de sucre dans des éprouvettes avec des mouches infectées, il a pu isoler *B. pestis* du sucre lui-même. Il est fort probable que le rôle des mouches dans la dissémination de la peste bubonique, soit surtout à craindre dans les cas de pneumonie pesteuse, les crachats des patients contenant d'innombrables bacilles. C'est très curieux de voir que tous ceux qui disent que *L. cheopis* est l'agent de dissémination de *B. pestis*, que cette puce répand avec ses excréments, outre qu'ils oublient tous les autres moyens de dissémination de cette grave maladie, oublient aussi complètement le rôle des mouches, contribuant toujours plus à faire faire fausse route, à la prophylaxie de la peste.

Un groupe de maladies dans lequel les mouches jouent un rôle important de disséminateurs, est celui des maladies bactériennes intestinales, dont les germes sont surtout éliminés avec les matières fécales. Par rapport au choléra, Flügge²⁾ dit que les mouches peuvent infecter les aliments en y déposant *V. cholerae*. Chantemesse et Borrel dans une communication à l'Académie de médecine de Paris, du 17 oct. 1905, disent que le rôle des mouches dans le choléra expliquerait l'arrêt des épidémies pendant la saison d'hiver. Déjà en 1885, Maddox³⁾ donnait à manger des cultures de *V. cholerae* à *C. vomitoria* et à *Eristalis tenax* et trouvait des vibrions vivants dans leurs déjections. Cette expérience était confirmée par Tizzoni et Cattani⁴⁾ qui trouvaient *V. cholerae* dans des mouches prises dans des chambres de cholériques, par Sawtchenko⁵⁾ qui, donnant à des mouches des cultures de *V. cholerae*, trouvait 2 heures après ce parasites dans leurs déjections et constatait que *V. Metchnikowi* y garde sa virulence. Pendant l'épidémie de Hamburg de 1892, Simmonds⁶⁾ ayant trouvé *V. cholerae* dans une mouche prise dans une chambre d'autopsie de cholériques, plaçait des mouches en contact avec des intestins de morts de choléra, et y trouvait *V. cholerae* vivants. Uffelmann⁷⁾, infectant des mouches avec des cultures de *V. cholerae*, constatait comme elles pouvaient ensuite ensemercer le vibrion dans le lait et sur les viandes. Macrae⁸⁾, exposant des bols de lait à Gaya (Indes) pendant une épidémie de choléra, constatait leur infection par les mouches avec *V. cholerae*, et Buchanan⁹⁾ attribuait aussi aux Indes une épidémie de choléra dans une prison à l'infection des aliments par les mouches. Suivant Ganon¹⁰⁾ *V. cholerae* reste vivant sur les mouches pendant

- 1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 43.
- 2) Die Mikroorganismen. 3. Aufl. Leipzig 1896. Bd. 2. p. 562.
- 3) Cité par Nuttall. p. 28.
- 4) Cités par Nuttall. p. 28.
- 5) Cité par Nuttall. p. 28.
- 6) Dtsche med. Wochenschr. 1892. p. 931.
- 7) Cité par Nuttall. p. 21.
- 8) Cité par Nuttall. p. 29.
- 9) Cité par Nuttall. p. 30.
- 10) Journ. of trop. Med. 1909. p. 158.

4 jours. Le rôle des mouches dans la dissémination du choléra explique peut-être en partie, le fait constaté par Strong¹⁾ aux Philippines, du rôle important joué par les aliments dans la dissémination de la maladie.

Dans l'épidémiologie de la typhoïde, le rôle des mouches est signalé à chaque instant: Veeder²⁾ dit que les mouches jouent un rôle très important dans la dissémination de la typhoïde dans les camps militaires mal entretenus, où les matières fécales sont couvertes par une quantité innombrable de ces diptères. Dans une épidémie de 250 cas dans un régiment de cavalerie américaine à Cuba, Reed³⁾ a accusé les mouches d'avoir porté les germes des matières fécales des malades sur les aliments. Une opinion analogue a été défendue en Amérique par Kober et par Vaughan⁴⁾. Suivant Howard⁵⁾ l'eau n'a joué qu'un rôle minime dans la dissémination de la typhoïde des camps américains en 1898 et il est fort probable que ce rôle a été joué en grande partie par les mouches. Anderson⁶⁾ dit que Whippel a calculé qu'en 1900 aux Etats-Unis, dans le 30 % des cas l'infection typhoïde a été due au contact, y inclus les mouches. Dans l'épidémie de Chicago de 1902 Hamilton⁷⁾ a fait jouer un grand rôle aux mouches, chez lesquelles on trouvait *B. typhi*. Jackson⁸⁾ exprime la même opinion pour la typhoïde à New-York. Des observations analogues ont été faites dans d'autres pays: ainsi en Afrique et aux Indes, Tooth⁹⁾ et Aldridge¹⁰⁾ attribuent un rôle important aux mouches dans le typhus des camps, et en Angleterre Nash¹¹⁾ et d'autres médecins, ont signalé les rapports entre mouches et fièvre typhoïde. En Allemagne, Baginsky¹²⁾ ayant constaté en 1890 à l'hôpital des enfants (Berlin) que l'invasion d'un grand nombre de mouches a été accompagnée du développement d'une épidémie de typhoïde, a pensé que les mouches ont colporté le bacille d'Eberth. Les recherches expérimentales ont confirmé la facilité avec laquelle les mouches peuvent s'infecter de *B. typhi* et servir à sa dissémination. Ainsi déjà en 1888, Alessi¹³⁾ donnant à des mouches des cultures de *B. typhi*, constatait que ce bacille garde sa vitalité dans leur appareil digestif et dans leurs excréments. Ficker¹⁴⁾ alimentant des mouches avec *B. typhi*, a constaté qu'elles peuvent le disséminer encore 23 jours après. Manning¹⁵⁾ a infecté aussi positivement *M. domestica* avec *B. typhi* et constaté qu'elle peut ensuite l'ensemencer sur des milieux de culture.

Un rôle analogue à celui joué dans la dissémination de la typhoïde est joué par les mouches dans celle de la dysenterie. Il suffit de penser aux évacuations dysentériques si chargées de bactéries et toujours si

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 37. 1906. p. 286.

2) Cité par Howard, Proceed. Washington Academy of Scienc. Vol. 2. 1900. p. 541.

3) Cité par Howard, p. 543.

4) Cités par Howard, p. 544, 545.

5) Travail cité p. 546.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. 1909. p. 196.

7) Rev. d'hyg. 1904. p. 188.

8) Cité par Nash, Journ. of Hyg. Vol. 9. 1909. p. 162.

9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. 1904. p. 180.

10) Journ. of trop. Med. 1908. p. 303.

11) Journ. of Hyg. Vol. 9. 1909. p. 141.

12) Ber. üb. d. XIV. internat. Kongr. f. Hyg. u. Dem. Bd. 4. p. 131. Berlin 1908.

13) Travail cité.

14) Arch. f. Hyg. Bd. 46. Heft 3.

15) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32. 1903. p. 179.

couvertes par des mouches pour comprendre la chose. Ainsi en Valteline, j'ai constaté¹⁾ que les déjections des dysentériques sont couvertes de myriades de *M. domestica*, *C. vomitoria*, *L. caesar* etc., et en 1905 j'ai trouvé dans l'eau de lavage de quelques-unes de ces mouches, le même bacille dysentérique que j'avais isolé chez un malade²⁾. Hoppe-Seyler³⁾ a fait une observation analogue. Dansauer⁴⁾ a constaté en Afrique un parallélisme entre la fréquence des mouches et les cas de dysenterie et considère ces diptères comme jouant un rôle très important dans la dissémination de la maladie. Kruse et Döpner⁵⁾ admettent aussi que dans les pays chauds les mouches peuvent transporter les germes de la dysenterie bactérienne à une certaine distance. Par voie expérimentale, Auché⁶⁾ a constaté que les mouches peuvent, à l'aide de leurs pattes et de leur trompe, prendre un certain nombre de bacilles de la dysenterie sur les cultures et les fèces et les transporter sur des matières alimentaires.

Un rôle important semble être joué par les mouches, dans certaines formes de choléra nostras, de diarrhée estivale et de diarrhée des enfants. Alessi⁷⁾ ayant donné à manger à des mouches des cultures de bacilles isolés de cas de choléra nostras, a trouvé les bacilles dans l'intestin, mais pas dans les excréments. Trembur⁸⁾ a constaté le rapport étroit qu'il y a à Tsingtau, entre la fréquence des mouches et celle des affections catarrhales de l'intestin chez les soldats de la garnison. Hamer⁹⁾ ayant dressé pour Londres des courbes de fréquence des mouches et de la mortalité par diarrhée pendant l'été de 1907, a constaté un parallélisme entre les 2 courbes. Sandilands¹⁰⁾, frappé par le fait que la diarrhée épidémique peut s'observer par l'usage de laits bouillis mais laissés découverts sur des tables, et par l'observation de Newsholme, que les mouches infectent tous les aliments, se rattache complètement à l'opinion de cet observateur, que les mouches doivent jouer un grand rôle dans le transport dans les maisons des germes de la diarrhée des enfants. Il a observé aussi le parallélisme entre les mouches et cette maladie. Le fait que le lait condensé, qui contient beaucoup moins de bacilles que le lait ordinaire, donne plus souvent la diarrhée aux enfants, s'expliquerait par ceci, que ce lait, laissé ouvert sur les tables, contenant beaucoup plus de sucre, attire beaucoup plus les mouches. Nash¹¹⁾ dit que les mouches jouent un rôle très important dans la dissémination de la diarrhée épidémique: il a constaté à Norfolk que la mortalité par cette maladie chez les enfants a été en été de 1904 surtout élevée dans les quartiers situés près des grands dépôts de gadoue qui développaient une quantité formidable de mouches. Nash pense que ces mouches sont surtout les agents de contamination du lait dans les maisons. Ayant constaté la présence de *B. coli* dans l'intestin d'une

1) Rapports d. XVI^e Congr. int. de méd. à Budapest. Sect. 21. Fasc. 1. p. 63.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 232.

3) Cité par Lentz dans Kolle u. Wassermann. Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 2. Jena 1903. p. 319.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908. p. 280.

5) Rev. d'Hyg. 1906. p. 712.

6) Sem. méd. 1906. p. 575.

7) Travail cité.

8) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. 1909. p. 173.

9) Bull. de l'Inst. Past. 1909. p. 231.

10) Journ. of Hyg. Vol. 6. 1905. p. 77.

11) Journ. of Hyg. Vol. 9. 1909. p. 141.

mouche et vu que du bouillon mis en contact avec un de ces diptères pris dans un hôpital, contenait après quinze heures de nombreuses bactéries, dont plusieurs de l'intestin, il exposa deux bocaux contenant le même lait, l'un couvert, et l'autre non, sur une table. Dans le second tombèrent deux mouches, et Nash y trouva deux fois plus de bactéries que dans l'autre, et ce lait sentait après 24 heures la putréfaction. Dans une expérience analogue, le lait découvert contenait 3 fois plus de bactéries que le couvert. Jackson¹⁾ qui a trouvé à New York sur une mouche environ 100 000 colonies de bactéries des fèces, dit aussi que dans cette ville il y a un rapport entre la fréquence des mouches et la mortalité par diarrhée. Ayant exposé une plaque d'agar pour des recherches sur les bactéries de l'air, il m'est arrivé une fois à la montagne (2500 m), que des mouches (*M. stabulans*?) provenant d'un pâturage voisin, se sont posées sur cette plaque et l'ontensemencée d'un grand nombre de colonies de *B. coli*. Tout dernièrement, Metchnikoff²⁾ attribuant la diarrhée des nourrissons à *B. vulgare*, dit que l'infection est déterminée par les mouches qui prennent cette bactérie sur les matières fécales des vaches, du cheval, etc. la portent sur les aliments, aliments qui infectent les adultes, qui à leur tour infectent les nourrissons. Ce mode détourné de l'infection des nourrissons, est admis par Metchnikoff parce qu'il dit que *B. vulgare* est rare dans le lait, et que cette affection s'observe même chez les enfants nourris au sein, comme chez ceux qui sont nourris au lait de vaches. Ceci est en contradiction avec tout ce qu'on a observé jusqu'à présent pour la diarrhée des enfants, partout bien plus fréquente chez ceux qui sont alimentés au lait de vache, de sorte qu'il est plus probable que les mouches infectent directement le lait de *B. vulgare* quand il est abandonné, même après cuisson, sur des tables sans protection aucune. La présence de *B. vulgare* et d'autres bactéries du même groupe, avait déjà été signalée chez les mouches par Ficker³⁾, qui avait attiré l'attention sur le rôle que la dissémination de ces bactéries pouvait jouer dans l'altération des substances alimentaires.

Une dernière affection bactérienne dans laquelle les mouches semblent jouer un rôle assez important, est la conjonctivite à *B. de Koch-Weeks* (*B. aegyptiacum*). Cette affection domine surtout en été, époque à laquelle les mouches sont extrêmement abondantes et, en Afrique, se posent en grande quantité sur le bord des paupières. Suivant Axenfeld⁴⁾, Müller, Lakah et Khouri pensent à ce rôle des mouches. Dans un travail paru en 1907⁵⁾, j'ai indiqué comment en Tunisie le Dr. Cuénod, oculiste à Tunis, et le Dr. Santschi, médecin à Kairouan, attribuaient aussi un certain rôle aux mouches, dans la dissémination de cette maladie qui y domine en été.

Il est probable que les mouches peuvent jouer un rôle dans la dissémination d'autres maladies, mais pour le moment on ne peut rien affirmer. Joly⁶⁾ dit qu'à la Guadeloupe on leur attribue la dissémination de la morve. Soit directement, soit par voie expérimentale, on a observé que les mouches peuvent transporter d'autres bactéries.

1) Cité par Nash. p. 161.

2) Sem. méd. 1909. p. 361.

3) Travail cité.

4) Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena 1907.

5) Bull. de la soc. vaud. d. scienc. nat. Série 5. Vol. 43. 1907. p. 201.

6) Cité par Nuttall. p. 42.

Ainsi Marpmann¹⁾ a vu passer inaltérés dans l'intestin des mouches *B. prodigiosum* et *B. foetidus*, Manning²⁾ a constaté qu'elles peuvent colporter *B. pyocyaneum*, *B. coli*, *B. prodigiosum*, *M. pyogenes aureus*, *Sarcina aurantiaca*, et *S. alba*; Joly³⁾ *M. pyogenes aureus*; Testi⁴⁾ a trouvé dans l'intestin de *M. domestica*: *B. faecalis alcaligenes*, *B. vulgare*, *B. mucosus capsulatus*; dans celui de *S. carnaria*: *B. vulgare*, *B. coli*, *M. albus*; dans celui de *C. vomitoria*: *B. similcoli*, *M. tetragenus*, etc.; Cao⁵⁾ y a trouvé *B. vulgare*, *B. coli*, *B. fluorescens*, *M. pyogenes aureus*, *M. pyogenes albus*, etc. Moi⁶⁾, j'ai expérimentalement constaté, que *M. domestica*, et *C. erythrocephala* peuvent colporter *S. Löwenbergi*. Sauer⁷⁾ a trouvé *B. Chauveui* dans des mouches qui avaient été en contact avec des cadavres d'animaux morts de charbon symptomatique. Contrairement à l'opinion émise par Marpmann⁸⁾, à la suite de quelques expériences faites avec *B. septicus*, les bactéries passant dans le corps des mouches ne semblent pas s'atténuer dans leur virulence, et même chez les larves, comme nous avons déjà vu, Cao a constaté plutôt une augmentation de virulence.

De l'ensemble d'observations et d'expériences que je viens d'exposer, il me semble donc qu'on ne peut pas mettre en doute le rôle important de colporteur de parasites et surtout de bactéries, joué par les mouches. Ce rôle est d'autant plus important, que les mouches ne gardent pas longtemps sur ou dans leur corps les agents parasitaires qu'elles ont ramassés, mais passant constamment d'un animal ou d'une substance à l'autre, elles les déposent ou bien sur des lésions cutanées ou des muqueuses, et surtout sur des substances alimentaires, qui sont pour plusieurs de ces parasites un milieu très favorable à leur conservation et à leur multiplication. Il suffira à ce point de vue, de rappeler le rôle important qu'elles peuvent jouer dans l'ensemencement du lait avec des germes du choléra, de la typhoïde, de la dysenterie ou de la diarrhée épidémique. Ce rôle des mouches établi, il est nécessaire, de voir par quels moyens nous pouvons lutter contre elles. Mais avant d'aborder cette question, il est nécessaire de dire quelque chose de leur biologie.

b) Biologie des mouches.

En premier lieu, il est nécessaire de connaître les endroits et les matières sur lesquelles les mouches pondent. Howard⁹⁾ dit que *M. domestica* pond sur les ordures ménagères, sur les matières fécales de l'homme et sur tous les détritux végétaux et animaux, mais d'une façon toute spéciale sur les fumiers et surtout sur le fumier de cheval. Il a calculé qu'une livre de fumier de cheval peut donner, dans certains cas, 1200 mouches. Même si dans le voisinage de dépôts de fumiers de cheval il y a d'autres détritux, les mouches se portent de préférence sur les premiers, de sorte que Howard calcule que 95% des mouches en proviennent.

1) Arch. f. Hyg. Bd. 2. p. 560.

2) Travail cité.

3) Cité par Nuttall. p. 41.

4) Riv. d'ig. e san. pubbl. 1909. p. 491.

5) Travail cité.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 177.

7) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1908. p. 647.

8) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 22. p. 127.

9) Travail cité et U. S. Department of Agricult. Circular No. 71. Washington 1906.

Nash¹⁾ signale aussi comme milieu de ponte de *M. domestica*, le fumier de cheval, les ordures ménagères, les fèces de l'homme. Moi j'ai fait des constatations analogues, et j'ai obtenu beaucoup de *M. domestica* des gadoues et des matières fécales de l'homme disséminées le long des chemins. J'ai aussi constaté que cette espèce pond souvent dans les fissures des fenêtres etc. remplies de poussières. J'ai fait cette constatation dans plusieurs maisons et surtout à mon laboratoire, dans l'espace compris entre les double-fenêtres. Ainsi pendant presque tout l'hiver de 1907, j'ai vu sortir des mouches des fentes de ces fenêtres. Le plus grand nombre présentaient nettement les ailes collées contre le corps comme chez les mouches qui viennent d'éclore. Que ces mouches sortaient des fentes et ne provenaient pas de la chambre, est prouvé par le fait que l'espace entre les deux fenêtres n'était pas en rapport ni avec l'extérieur, ni avec la chambre, et restait constamment fermé. J'ai en outre noté souvent la sortie des mouches de ces fentes. Ayant appliqué un morceau de gaze qui fermait complètement un angle entre les double-fenêtres, angle qui présentait plusieurs fentes, j'ai trouvé des mouches en dessous de cette gaze. La sortie des mouches de ces fentes se vérifiait avec des températures de + 9°, + 10°, + 12°, et en dessus, dans l'espace compris entre les double-fenêtres. Dans deux cas j'ai vu sortir des mouches avec une température de + 1°, dans ce même espace, mais elles sont mortes immédiatement. Au courant du mois de février de 1907, il a y eu de nombreuses sorties de mouches dans l'espace compris entre les 2 fenêtres, jusqu'au 24 février ou il est tombé beaucoup de neige. Du 28 octobre 1908 à la fin de mars 1909, dans un de ces espaces, sont sorties des fentes 86 *M. domestica*, et du 1 octobre 1909 au 20 nov. 1909, 141. Il est intéressant de noter que le 26 janvier 1908 à 2 h. de l'après-midi (Vent très fort, épaisse couche de neige, temp. 0°) j'ai trouvé devant la porte de l'étable d'un chalet du Jura à 1200 m. une *M. domestica* et une *M. stabulans* qui venaient d'éclore, les ailes collées contre le corps et se traînant à peine.

Au courant des mois de novembre et décembre 1908, j'ai placé des *M. domestica* dont l'abdomen était rempli d'œufs, dans une boîte vitrée, et bien qu'il y eut dans cette boîte des morceaux de foie, elles ont pondu des œufs dans les fentes de la boîte elle-même. Il est fort probable que parmi les nombreuses mouches que j'ai vu sortir des fentes des fenêtres pendant les mois d'hiver, il y en a qui n'ont pas éclos dans cette saison, mais qui s'y étaient cachées pour passer l'hiver, car suivant Howard *M. domestica* hiverne dans les fentes des maisons, aussi à l'état adulte.

Placée dans des boîtes avec des morceaux de viscères, de l'urine, du fumier et des matières fécales de l'homme, j'ai toujours vu *M. domestica* préférer pondre sur fumier et fèces plutôt que sur viscères et urine. Sur cette dernière substance, en couche très mince, elle n'a jamais pondu.

La quantité d'œufs pondus et l'évolution de *M. domestica* ont fait l'objet des observations de plusieurs observateurs. Howard a constaté qu'en été à Washington, une ♀ pond 120 œufs qui éclosent après 8 heures, donnant des larves qui en 5 jours se changent en nymphes, qui à leur tour donnent des images après 5 jours. Les nymphes peuvent passer l'hiver dans le fumier. A Washington, il y a de 12 à

1) Travail cité. p. 42 et suivantes.

13 générations par été. Packard¹⁾, dans le Massachussetts, a constaté que l'éclosion a lieu en 14 jours de l'œuf à l'imagé. Il calcule que les descendants d'une ♀ peuvent être évalués à 125 000 000²⁾. Nash³⁾ dit qu'en Angleterre *M. domestica* pond 100 œufs et plus qui donnent des imagés après 8 jours. Mais au mois de novembre et décembre il a constaté que l'état larvaire dure 3 semaines.

Theobald⁴⁾ dit qu'en Angleterre le développement a lieu en moyenne en 14 jours, mais est réduit à 5 jours en été et dure très longtemps dans les saisons plus froides. Dans le canton de Vaud et en Valtelline, l'évolution de *M. domestica* s'accomplit en été en 10 à 12 jours, tandis qu'il est fort probable que les nymphes peuvent rester pendant de longues semaines et peut être pendant des mois en hiver, dans les fissures des fenêtres sans éclore, comme celles que Howard a trouvé sur les fumiers. En effet, au printemps, on voit sortir de ces fissures un grand nombre de mouches dont plusieurs à ailes humides qui viennent d'éclore et on trouve dans les fentes des pupes vides. Plusieurs ♀ prises au laboratoire au courant des mois d'octobre et de novembre avaient l'abdomen rempli d'œufs et quelques-unes comme j'ai remarqué ont pondu pendant le mois de décembre dans une boîte vitrée.

Par rapport à quelques-unes des autres espèces de mouche qu'on trouve dans les maisons avec *M. domestica*, voici ce qu'on a observé: Howard⁵⁾ dit que *Muscina stabulans*, pond surtout sur des résidus végétaux et sur les matières fécales, *Calliphora erythrocephala* sur les substances animales en putréfaction et sur les fèces de l'homme, *Lucilia caesar* sur les fèces et surtout sur les cadavres des animaux etc. Moi j'ai obtenu *M. stabulans* de fumier de vache et d'ordures ménagères; j'ai vu pondre *C. erythrocephala* sur les matières fécales de l'homme, sur la viande, et surtout sur les viscères et sur les cadavres de petits animaux. Chaque fois que j'ai exposé sur la fenêtre ou dans des chambres des morceaux de foie, a intestin, etc., c'est surtout cette espèce que j'y ai vu pondre. Jamais elle n'a pondu dans des godets contenant de l'urine. Placée dans des boîtes avec fumier, ordures ménagères et viscères elle a toujours choisi ces derniers. Le 6 nov. 1907, ayant exposé sur une fenêtre des morceaux de foie de lapin, le 8 nov. une *C. erythrocephala* y pondait ses œufs. Le 25, une autre mouche de même espèce y fait une autre ponte. Les larves écloses de ces œufs se sont cachées sous le foie qui était resté sur la fenêtre. Le 17 déc. elles sont toujours à l'état larvaire. Quelques-unes qui ont pu sortir du bocal pénètrent les unes après les autres dans les fentes de la fenêtre. Toutes ces larves étaient encore vivantes en janvier 1908, mais elles succombaient sans se changer en nymphes le 3 février. Elles avaient supporté des températures de -3° en décembre et de $-8^{\circ} - 9^{\circ}$ en janvier. J'ai vu aussi cette espèce, pendant les mois d'hiver, sortir plusieurs fois des fentes entre les double-fenêtres. (Du 1 oct. au 29 nov. 1900: 2 *C. erythrocephala* sur 139 *M. domestica*.) Quant à *L. caesar*, je l'ai vue pondre surtout sur des animaux en voie de putréfaction, mais aussi sur les matières fécales de l'homme. Dans une petite musaraigne récoltée le 14 juin 1908, j'ai trouvé 550 larves

1) Cité par Howard. Circular. No. 71. p. 2.

2) Cité par Nash. p. 144.

3) Travail cité. p. 144.

4) Cité par Sandilands. p. 90.

5) Travaux cités.

de *L. caesar*. Sur les dépotoirs des gadoues de la ville de Lausanne, j'ai trouvé des myriades de ces mouches: elles s'assemblent là où il y a des débris d'animaux en putréfaction et pondent sur ceux-ci, car des gadoues elles-mêmes, je n'en ai point obtenu. Comme *L. caesar* se comporte aussi *S. carnaria*.

Jusqu'à quelle distance peuvent se transporter les mouches, depuis l'endroit de leur production? Suivant Nash¹⁾ elles peuvent se porter à 100—300 yards et en été jusqu'à $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ mille. Il faut noter que la migration passive est un phénomène fréquent à s'observer, les mouches se faisant transporter dans les voitures, les chemins de fer et à la surface du corps des animaux. Leur odorat extrêmement développé doit les diriger dans leurs migrations: j'ai placé de petits animaux ou des morceaux de viscères sur des fenêtres ou dans des prés où on ne voyait pas une seule mouche, et j'ai vu arriver immédiatement des mouches sur ces matériaux. La même chose se vérifie avec les matières fécales. J'ai constaté comme *M. domestica* s'aperçoit très vite de la présence de sucre: dans une boîte vitrée de cm $35 \times 35 \times 35$, j'avais placé un certain nombre de ces mouches. Pour les alimenter, je versais de temps en temps un peu de sucre dissous dans de l'eau dans un godet qui se trouvait au fond de la boîte et communiquait avec l'extérieur par un tube en verre. Dès que la goutte de liquide arrivait dans le godet, on voyait les mouches qui se trouvaient contre les parois et le plafond de la boîte se déplacer, se porter sur le bord du godet et se remplir de liquide.

Toutes les espèces de mouches dont je viens de parler peuvent se rencontrer dans les maisons; *M. domestica* est ordinairement la plus fréquente: En 1900, Howard²⁾ ayant récolté dans des chambres à manger toutes les mouches, dans différentes parties des E. U., sur un total de 23.087, a trouvé 22.808 *M. domestica*, c. a. d. 98,8% des mouches capturées.

En Angleterre, Nash³⁾ a trouvé le 97% des mouches des maisons représenté par *M. domestica*. À Lausanne et en Valteline c'est aussi l'espèce qui se rencontre le plus fréquemment dans les maisons: sur 257 exemplaires de mouches que j'ai récolté dans les maisons, j'ai trouvé 237 *M. domestica*, c. a. d. le 91,82%. Quant à *C. erythrocephala*, *L. caesar* et *S. carnaria*, j'ai souvent capturé ces espèces dans les cuisines, plus rarement dans les autres chambres.

Toutes ces mouches, non seulement pondent sur des matières infectes et chargées de germes mais elles se posent en grande quantité sur des matières excrémentielles (crachats, fèces), sur viscères et animaux en putréfaction, sur les amas de gadoues etc. Puis, par migration active ou passive, se portent dans les maisons ou elles vont déposer une bonne partie des germes qu'elles transportent sur les aliments. „Pour une moitié de l'année, écrit Grassi⁴⁾, et dans plusieurs pays pour presque toute l'année, là où il y a des matériaux capables de produire des infections, nous pouvons surprendre d'innombrables mouches, qui s'en salissent les pattes, l'appareil buccal et s'en remplissent

1) Travail cité p. 145.

2) Circular No. 71. p. 3.

3) Travail cité. p. 142.

4) Travail cité.

l'intestin, et après s'en vont sur nos aliments qui leur servent comme brosse et comme égout."

Howard¹⁾ dans un camp militaire mal entretenu, a trouvé les matières fécales couvertes de *M. domestica* et de ses œufs. J'ai vu de fosses d'aisances primitives, où les matières liquides ne séjournèrent pas, sortir des centaines de mouches, et pénétrer dans les cuisines des maisons du voisinage. Dans un dépôt de gadoues, j'ai vu dans une maisonnette en bois où on faisait le triage des os, des myriades de *L. caesar* posées sur les tas d'os et sur les parois. Les déjections des dysentériques, constituées par des flocons sanguinolents, sont toujours couvertes de mouches. Au point de vue de l'hygiène donc, non seulement on doit considérer comme dangereux les matériaux sur lesquels les différents espèces de mouches accomplissent leur ponte, mais tous les matériaux infectés sur lesquels elles se posent, prennent leur nourriture, et avec celle-ci, les parasites qu'elles transportent ensuite dans les habitations. Toutes ces matières sont comme des étapes dans la migration des mouches, qui, du foyer de leur production, peuvent, en passant des unes aux autres, arriver dans des maisons même fort éloignées.

c) Lutte contre les mouches.

Voyons maintenant quels sont les moyens de lutte dont nous disposons contre les mouches. Nous pouvons distinguer deux groupes de moyens: 1^o Ceux qui sont destinés à détruire les mouches en les empêchant de pondre, en tuant leurs œufs et leurs larves, et enfin en tuant les images; 2^o Ceux qui sont destinés à protéger les aliments, les habitations etc. contre les mouches.

La première partie du problème est en grande partie liée au développement des mesures d'hygiène générale. Il suffit de penser aux gîtes à mouches pour comprendre comment une quantité de mesures d'hygiène générale telles que l'éloignement des fumiers des habitations et surtout des villes, la construction de cabinets et de fosses d'aisances hygiéniques dans toutes les habitations, l'installation de latrines bien entretenues dans les camps militaires, l'éloignement et la destruction des gadoues, etc., peuvent déjà contribuer à diminuer le nombre des mouches. Howard²⁾ est le premier qui ait abordé d'une façon scientifique le problème de la destruction des mouches dans leurs milieux de formation. Considérant la destruction des mouches à la campagne, comme difficile à résoudre, il s'est surtout occupé de la possibilité de débarasser les villes de ces diptères. Pour lui, la grande propreté des maisons et surtout la surveillance des dépôts de fumier de cheval, peut donner des très bons résultats. Ayant constaté que le chlorure de chaux, mélangé au fumier, peut tuer le 90% des larves, Howard fit à Washington quelques essais avec cette substance. Il a fait construire dans l'écurie du Département de l'Agriculture, une petite chambre avec fenêtre pourvue de treillis métalliques, dans laquelle le fumier était placé chaque matin, et couvert avec une mince couche de chlorure de chaux. Les résultats ont été excellents: les mouches ayant pondu sur ce fumier ont été en quantité minime, et dans tous les locaux voisins on s'aperçut de leur diminution. J'ai moi-même constaté comme il est possible, non seulement de tuer les larves déjà formées, mais d'empêcher aux mouches de pondre sur fumier, fèces et viscères saupoudrés avec du chlorure

1) Proceedings etc., p. 543.

2) Travaux cités.

de chaux. Howard avait aussi eu de bons résultats expérimentaux en traitant du fumier de cheval avec du kerosène, mais au point de vue pratique, les résultats ont été nuls. Contre les autres foyers de production des mouches, Howard insiste sur la nécessité de construire de bonnes fosses d'aisances, sur la diffusion des latrines à terre, et surtout à chaux, éloignement rapide des animaux morts de maladie etc. Howard s'est aussi demandé, comme déjà Grassi, s'il n'y aurait pas de ennemis naturels des mouches, et il a constaté qu'un myriapode (*Scutigera forceps*) détruit beaucoup de mouches, mais que leur pire ennemi c'est *Empusina muscae*, qui tue un grand nombre de mouches à la fin de la saison, mais pratiquement les résultats sont absolument nuls. J'ai essayé avec *Aspergillus niger* et *Penicillium glaucum*, mais sans aucun résultat.

Au point de vue de la destruction des mouches à l'état d'images, Howard est du reste très sceptique; il pense que les moyens ordinaires employés dans les maisons: papier empoisonné, trappe à mouches, etc., sont encore ceux qui pendant longtemps encore, rendront les meilleurs services. Je partage pour mon compte, complètement son avis. De Lamare¹⁾ a à ce sujet conseillé de placer dans les chambres, surtout où il y a des malades, des assiettes avec des solutions de formaline à 10%, qu'on renouvelle tous le 2 jours, et dans lesquelles les mouches vont mourir. Trillat et Legendre²⁾ ont à leur tour conseillé des solutions de formol 10% additionnées de 20% de lait. En 1906, à la suite d'un concours ouvert par le journal »le Matin« sur les meilleurs moyens pour détruire les mouches, un anonyme proposa de verser de l'huile verte de schiste dans les fosses d'aisances et sur les fumiers, en la mélangeant, cas échéant, pour ces derniers, avec de la terre ou de la chaux. Dans son numéro du 19 juillet 1907 le »Matin« dit que ce procédé a donné partout d'excellents résultats, et les mouches ont disparu, là où il a été appliqué. Comme je l'ai déjà dit dans un travail précédent³⁾, ce journal me fait dire que j'ai constaté aussi l'efficacité absolue de l'huile de schiste contre les mouches, chose complètement fausse car je ne l'ai employée que contre les larves de moustiques.

Il faut donc se méfier un peu des renseignements fournis par ce journal. Mais au Congrès international d'Hygiène de Berlin en 1907, Bordas⁴⁾ est venu confirmer les affirmations du »Matin« et il a ajouté que le gouverneur de Kiaotscheou, a obtenu d'excellents résultats par la méthode de l'huile de schiste. Grâce à l'extrême obligeance du Dr. Dirksen, général-médecin et médecin du gouvernement à Tsingtau, que je remercie vivement ici, j'ai pu avoir quelques renseignements sur les résultats obtenus là-bas. Il faut d'abord noter que l'amiral Truppel n'a reçu du Matin que 5 litres d'huile de schiste, de sorte qu'on ne comprend pas comment suivant l'affirmation de Bordas, on pouvait avoir eu, avec une pareille quantité, d'excellents résultats. Suivant le médecin en chef du bataillon de marine, un litre d'huile de schiste diluée dans l'eau, versée sur 1 mètre carré d'ordures et bien mélangée avec, a tué une bonne partie des larves de mouches, mais d'autres ont complètement échappé, de sorte qu'il ne peut pas se prononcer sur les résultats qu'on pourrait obtenir en grand. Trembur et Podestà ayant

1) Presse méd. 1908. p. 528.

2) Bull. de l'Institut. Pasteur. 1909. p. 136.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 41. 1908. p. 353.

4) Bericht etc. Bd. 4. p. 132.

fait des recherches de laboratoire avec du saprol et de l'huile de schiste tels quels, ou dilués dans l'eau à 5%, ont constaté aussi que l'on peut avec ces substances, la 2^e agissant un peu plus énergiquement que la 1^{re}, tuer un bon nombre de larves dans des ordures. Ils conseillent donc, au point de vue pratique, de bien arroser les ordures avec des solutions de ces substances, et de les couvrir ensuite avec de la terre. Ils pensent que par m³ d'ordures, il faudra environ 10 litres de saprol ou d'huile de schiste. Dans un travail paru en 1908, Trembur¹⁾ insiste sur la nécessité de traiter les ordures avec des solutions de saprol ou huile de schiste à 5% et plus, ces deux substances donnant des résultats identiques et pouvant être aussi remplacées par le lait de chaux. Il ne peut pourtant pas encore se prononcer sur les résultats pratiques.

J'ai fait un certain nombre de recherches pour protéger de petites quantités de fumier, de matières fécales, de morceaux de viscères etc., contre la ponte des mouches. Ces substances étaient badigeonnées avec du saprol ou de l'huile de schiste, pur ou à 5%, et toujours les mouches ont pondu sur les morceaux non badigeonnés. Dans un cas, des larves de *S. carnaria*, pondues sur un morceau de foie non badigeonné, après l'avoir dévoré, sont passées sur de la viande hachée, et de là sur des morceaux de foie traités par le saprol et l'huile de schiste, et elles y ont accompli leur développement. Il est absolument nécessaire de bien mélanger toutes ces substances avec le saprol et l'huile de schiste pour ne pas laisser de place libre où les mouches peuvent encore pondre. J'ai dans plusieurs cas remplacé le saprol liquide par le saprol en poudre, obtenant les mêmes résultats. Dansauer²⁾ dit que les meilleurs moyens de lutte consistent à détruire les larves par le chlorure de chaux et les images avec des solutions de sucre arseniqué etc. Nash³⁾ insiste sur la nécessité d'éloigner des maisons, tous les matériaux qui peuvent servir de gîte à la ponte des mouches. Dans les villes le fumier des écuries doit être placé dans des chambres à treillis métalliques et enlevé au moins 2 fois par semaine. Quant aux dépôts de fumier qu'on garde à la campagne, il conseille de les couvrir avec 2—3 pouces de terre, pour les protéger contre la ponte des mouches. Cette terre aurait aussi le grand avantage d'absorber l'ammoniaque qui serait transformé par ces bactéries en nitrates utiles pour l'agriculture. Je ne puis qu'appuyer la proposition de Nash, car j'ai eu l'occasion de remarquer en Valteline, que les dépôts de fumier couverts avec de la terre ne contiennent presque pas de larves de mouches, tandis que ceux qui ne le sont pas, en foisonnent. J'ai en outre fait des expériences pour voir si la couverture de petites quantités de fumier, de fèces, et de viscères avec de la terre, du sable, des cendres et du saprol en poudre peut protéger contre la ponte des mouches, et j'ai dans la grande majorité des cas constaté qu'elles n'y pondent pas; mais il faut que terre sable ou cendres, couvrent complètement ces matières, en cas contraire les mouches se portent sur les parties non couvertes et elles y pondent quand même. Nash insiste avec raison, sur la nécessité d'éloigner le plus vite possible des maisons les détritux végétaux et animaux.

Le second point dans la lutte contre les mouches est représenté par l'emploi des moyens aptes à protéger la maison et les aliments

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. 1909. p. 173.

2) Travail cité.

3) Travail cité. p. 163.

contre ces diptères. Au II^{me} Congrès international de l'Assainissement et de la Salubrité des habitations¹⁾, j'avais insisté au point de vue de l'habitation rurale, sur la protection des portes et des fenêtres avec des treillis métalliques contre la pénétration des mouches. Cette protection devrait être en tous cas appliquée au moins aux cuisines, là où les mouches sont abondantes. Là où je l'ai vu appliquée, les cuisines ont été presque complètement débarassées des mouches. Au Congrès d'Hygiène de Berlin²⁾, j'ai demandé qu'on applique cette protection aux salles d'autopsies, et aux salles d'isolement de cholériques, dysentériques, tuberculeux etc. Cette proposition, appuyée par Baginsky, fut votée par la 1^{re} Section du Congrès, le 28 septembre 1907. A ce point de vue, je signalerai aussi la grande importance qu'il y a à employer exclusivement dans les hôpitaux des crachoirs fermés et avec des solutions antiseptiques. Si des treillis métalliques ne peuvent pas être appliqués aux cuisines, il faut insister sur la nécessité de protéger les aliments et surtout le lait contre les mouches par des treillis métalliques, des garde-mangers, des couvercles, etc. Nash³⁾ et Santori⁴⁾ réclament aussi la protection des chambres où l'on garde les aliments avec des treillis métalliques ou de la gaze et des mesures analogues devraient être appliquées aux boucheries, laiteries etc. Les journaux d'agriculture français ont dit⁵⁾ que Fé, ayant observé que les mouches ne se portent pas sur des parois badigeonnées en bleu, a fait appliquer dans ses écuries du lait de chaux au bleu d'outremer et les mouches ont disparu. Y aurait-il dans ce procédé un moyen d'éloigner les mouches des habitations? Dans une boîte à parois vitrées de 35 × 35 × 35 cm j'ai collé sur les parois des morceaux de papier de la même dimension et de différentes couleurs, et après y avoir introduit un certain nombre de *M. domestica*, j'ai pendant plusieurs jours, en tournant la cage dans différentes positions, compté les mouches qui se posaient sur les différentes couleurs. En procédant ainsi, voici les résultats que j'ai obtenus:

Couleurs	Quantités de mouches s'étant posées sur chaque couleur	Couleurs	Quantités de mouches s'étant posées sur chaque couleur
Vert clair	18	Vert foncé	5
Rose	17	Rouge	4
Jaune clair	14	Orange	3
Azur	13	Brun clair	3
Rouge clair	10	Rose pâle	3
Gris foncé	9	Vert très clair	2
Blanc	9	Bleu	1
Rouge foncé	8	Violet pâle	1
Noir	7	Brun foncé	1
Gris pâle	5	Jaune citron	1
Jaune foncé	5		

Nous constatons ainsi que 87 mouches se sont posées sur les couleurs claires et 52 sur les sombres. Le bleu a été effectivement une des couleurs peu visitées, mais nous voyons au contraire que l'azur a été l'une des plus fréquentées. Il est par conséquent possible qu'il ne s'agisse que d'un hasard. En tous cas, l'observation de Fé, mérite d'être

1) Compt. rend. d. travaux. Paris. 1907. p. 326.

2) Bericht über etc. Berlin 1907. p. 189.

3) Travail cité, p. 166.

4) Rev. d'Hyg. 1907. p. 629.

5) Chronique agric. 1908. p. 376.

contrôlée en expérimentant en grand avec le bleu d'outremer qu'il a employé.

Du long exposé que je viens de faire, il résulte que tout en ne disposant pas de moyens absolument sûrs pour se défendre contre les mouches, il est pourtant possible, par une série de procédés, d'en diminuer la fréquence et les dangers. Mais dans cette lutte, comme dans celle contre les moustiques, j'estime avec Howard, Santori et Nash qu'il est absolument indispensable de renseigner le public sur le danger que les mouches représentent pour la santé, sur toutes les causes qui peuvent créer des gîtes à mouches et sur tous les moyens qui peuvent être utilisés pour lutter contre elles. Il faut en un mot que le public puisse coopérer à cette lutte, et non continuer à considérer les mouches comme un mal nécessaire. À côté de cela, la législation doit s'intéresser à cette question, car c'est une question qui se rattache à la prophylaxie d'un grand nombre de maladies. Elle doit, comme elle l'a déjà fait dans le district de Columbia, sous l'influence de Howard, imposer des mesures pour s'opposer surtout à la création des gîtes à mouches dans les écuries, les maisons, les jardins, etc. Très intéressée à la question doit être l'autorité militaire, surtout au moment de la création des camps pendant les grandes manœuvres et en cas de guerre. La lutte contre les mouches doit en somme faire partie aujourd'hui de la législation sanitaire.

Résumé.

1°. Le rôle des mouches (*M. domestica*, *M. stabulans*, *C. erythrocephala*, *L. caesar*, etc.) comme agents de dissémination des maladies parasitaires est aujourd'hui démontré.

2°. Dans les mesures prophylactiques contre ces maladies, il faut aujourd'hui faire une place à la lutte contre les mouches.

3°. Cette lutte sera faite par les mesures d'hygiène générale, qui ont pour but de diminuer les gîtes à mouches, par les moyens aptes à empêcher la ponte des mouches, à détruire leurs œufs et leurs larves, par les moyens aptes à détruire les images ou à empêcher leur arrivée dans les maisons et sur les aliments.

4°. Cette lutte pour être efficace, doit s'accompagner de l'instruction du public sur les dangers des mouches et sur les moyens pour les éviter et par des mesures législatives.

Lausanne, 21 décembre 1909.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der „Mutationen“ bei Bakterien der Coligruppe.

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Dr. **R. Burri** in Bern.

Eine weitere Bearbeitung der seinerzeit in einer gemeinschaftlich mit M. Duggeli veröffentlichten Mitteilung¹⁾ erwähnten Coli-Rasse, welche gegenüber Saccharose ein ähnliches Verhalten zeigte, wie das *Bact. coli mutabile* Massini gegenüber Laktose, hat zu Ergebnissen geführt, die ich in Anbetracht des ungewöhnlichen Interesses, welches diesen sog. Bakterienmutationen entgegengebracht wird, schon vor der Drucklegung der ausführlichen Arbeit bekanntgeben möchte. Meine Befunde lassen sich kurz, wie folgt, zusammenfassen:

1. In den von Neisser²⁾ und Massini³⁾, Burck⁴⁾, Reiner Müller⁵⁾ und mir selbst beschriebenen Fällen des Auftretens eines bei der Ausgangskultur nicht vorhandenen Gärungsvermögens handelt es sich nicht um einen sprunghaften, unvermittelten Uebergang vom nichtgärenden Zustand zum gärenden, sondern um ein sowohl für die einzelne Kolonie wie für die einzelne Zelle nachweisbares Fortschreiten von einem Minimum des Gärungsvermögens bis zu einem Maximum. Demnach liegt hier eine ausgesprochene Anpassung des Mikroorganismus an die ihm gebotenen besonderen Entwicklungsbedingungen vor.

2. Die bisher von den genannten Autoren und mir selbst vertretene Anschauung, daß nur ein Teil der Keime einer Kultur die neue Eigenschaft annimmt, während der andere Teil im Zustand der Ausgangskultur verharret, kann nicht aufrecht erhalten werden. Bei geeigneter Versuchsanstellung läßt sich zeigen, daß sämtliche Keime der Ausgangskultur in bezug auf das betreffende Kohlehydrat den Charakter von Gärungsorganismen annehmen. Es sind demnach sämtliche Keime einer solchen Kultur gleichwertig und werden, abgesehen von individuellen Schwankungen, in gleichem Sinne durch äußere Einflüsse berührt.

In Berücksichtigung dieser Tatsachen hat aber die Frage nach der Prozentzahl der Mutanten [Benecke⁶⁾, Pringsheim⁷⁾] nur für ganz bestimmte Versuchsbedingungen Bedeutung, die Vorstellung von einer „Rassenabsplaltung“ ist besser durch die Vorstellung von einer „Umstimmung“ oder „Erregung“ der Kultur im Sinne einer Vermehrung der schon vorhandenen differenten Gärungsfunktionen zu ersetzen und die ganze Gruppe der in Frage stehenden Erscheinungen wird überhaupt in eine veränderte Beleuchtung gerückt.

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 49. p. 145.

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. p. 98.

3) Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. p. 250.

4) Dasselbst. Bd. 65. 1908. p. 235.

5) Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 17; Die Umschau. Bd. 13. 1909. p. 402.

6) Zeitschr. f. induckt. Abstammungs- u. Vererb.-Lehre. Bd. 2. 1909. p. 215.

7) Variabilität niederer Organismen. Berlin (Jul. Springer) 1910.

Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur experimentellen Tuberkulose der Meeresfische, nebst Studien über die Transmutationsfrage der Warmblütertuberkulosebacillen.

II. Mitteilung.

Von L. v. Betegh, Fiume.

Vor kurzer Zeit (1) habe ich über die Beobachtungen der experimentellen Tuberkulose der Meeresfische berichtet. Aus dem Endresultate dieser Experimente habe ich den Schluß gezogen, daß die echten Meeresfische, d. i. diejenigen, welche nur im Meereswasser leben, für die spezifische Tuberkulose der Süßwasserfische sehr wenig empfänglich sind. Auf Grund dieser Beobachtungen wäre anzunehmen, daß die Meeresfische zufolge der Verschiedenheit ihres Organismus auf biochemischer Basis vielleicht immuner sind als die Süßwasserfische gegenüber einem und demselben pathogenen Mikroorganismus. Ich hob aber hervor, daß die Frage im positiven Sinne nur dann beantwortet werden könnte, wenn man zuerst die Meeresfische successive an das Süßwasser angewöhnen und sie dann mit dem erwähnten Mikroorganismus infizieren würde.

In dieser Versuchsreihe habe ich mit einem Fische experimentiert, welcher als Uebergangsform zwischen echten Meeres- und Süßwasserfischen betrachtet werden kann, mit dem Aale (*Anguilla vulgaris*). Diese Versuche sind geeignet, unter anderen unsere bisherigen Kenntnisse bezüglich der Transmutation der verschiedenen Tuberkulosearten zu bereichern. Der Aal kann, wie schon erwähnt, weder zu den Meeresfischen, noch zu den Süßwasserfischen gezählt werden. Bekanntermaßen lebt er die erste Periode seines Lebens in den Flüssen, und erst beim Herannahen der Geschlechtsreife wandert er zur See und sucht hier bedeutende, 800—1000 m und noch größere Tiefen auf, um zu laichen.

Aus diesem erwähnten Grunde schien mir nicht nur zur Klarstellung der Immunitätsfrage, sondern auch vom Standpunkte der Transmutation der Organismus des Aales sehr günstig. Es war naheliegend, diese Gelegenheit auszunützen und Versuche anzustellen, wie sich die Tuberkuloseerreger des Menschen, des Rindes und des Vogels, kurz die Warmblütertuberkulosebacillen im Organismus des Aales, eines Kaltblüters, verhalten. Ob eine positive Infektion zustande gebracht werden kann, ob diese Tuberkuloseform der Warmblütertuberkulose gleich ist, ob die Warmblütertuberkulosebacillen nach einem bestimmten Verweilen im Kaltblüterkörper irgendwie in ihren biologischen Eigenschaften modifiziert werden, ob sie neue Eigenschaften sich aneignen und welche diese sind, sowie ob eine Transmutation stattfindet.

Die Analyse der Frage in diesem Sinne ist meines Erachtens nicht nur vom wissenschaftlichen Standpunkte wichtig, sondern auch in ihren sanitären Beziehungen beachtenswert. Denn wie bekannt, fand Dubard-Terre-Bataillon (2) in einem Karpfen, welcher in einem Teiche lebte, wohin Tuberkulosesputa dejectiert wurden, einen Tumor, welcher viele säurefeste Bacillen enthielt. Diese wuchsen auf den gewöhnlichen Tuberkulosenährböden sehr gut und verhielten sich morphologisch und tinktoriell den Warmblütertuberkulosebacillen ganz gleich. Aus diesen

Untersuchungen wäre zu schließen, daß die Tuberkulose des Fisches durch den Tuberkelbacillus des Menschen hervorgerufen worden ist. Es wäre demzufolge eine Transmutation der Warmblütertuberkulose zustande gekommen. In gleichem Sinne äußern sich Sorgo und Suess (3), die Schlangen mit Tuberkelbacillen infizierten. Die aus den entwickelten Tuberkuloseherden gezüchtete säurefeste Bacillen verhielten sich tinktoriell und morphologisch den Tuberkelbacillen ganz gleich. Sie wuchsen bei niedriger Temperatur.

Wir kennen aber mehrere Versuche, wo man mit den Warmblütertuberkuloseerregern Kaltblüter nicht infizieren konnte, resp. wo die Forscher dahin konkludieren, daß das Warmblütertuberkulosevirus nicht transmutiert werden kann. Ich brauche hier nur auf die Untersuchungen von Weber (4), Taute (5), Morya (6) etc. hinzuweisen. In meiner Arbeit über die experimentelle Fischtuberkulose der Meeresfische habe ich mich schon dahin geäußert, daß bei den Meeresfischen die Süßwasserfischtuberkulosebacillen keine Anpassung an den Organismus derselben erkennen lassen, obwohl die Tiere im System nicht so weit voneinander stehen, wie z. B. ein Kaltblüter zu einem Warmblüter. Ja sogar die Bacillen der Süßwasserfischtuberkulose gehen vollkommen zugrunde. Eine Transmutation der Warmblütertuberkulose im Körper der Meeresfische hielt ich a priori für unwahrscheinlich. Diese Versuche, welche nicht nur die Frage der Immunität der Meeresfische gegen den Erreger der Süßwasserfischtuberkulose klarstellen, sondern auch die ziemlich viel bestrittene Transmutationsfrage im positiven Sinne entscheiden, sind eine vollkommene Bestätigung meiner schon geäußerten Ansicht.

Für die Versuche sind junge, kräftige Aale verwendet worden von 35—45 cm Länge. Sie wurden abwechselnd intramuskulär, resp. intraperitoneal geimpft mit hochvirulenten und frischgezüchteten Reinkulturen. Die Tuberkel- und Perlsuchtbacillen sind auf Glyzerinkartoffeln gewachsen, und waren 6 Wochen alt, die Vogel- und Fischtuberkulosebacillen dagegen auf Glyzerinagar, und waren 4 Wochen alt. Ueber die Art der Infektion und das Quantum der injizierten Bacillen etc. gibt folgende Tabelle Aufschluß:

Anguilla vulgaris. Geimpft am 3. Okt. 1909.

No.	Art der Tuberkulose	Quantum	Infektionsmodus	Anmerkung
1	T.B.	0,1	intraperitoneal	getötet am 4. Dez. 1909, negativ
2	"	0,1	intramuskulär	vgl.
3	"	0,1	intraperitoneal	"
4	P.B.	0,15	"	"
5	"	0,15	intramuskulär	"
6	T.B.A.	0,1	intraperitoneal	exitus 10. Nov. 1909
7	"	0,1	intramuskulär	getötet am 4. Dez. 1909, negativ
8	T.B.P.	0,1	"	" " 3. Nov. 1909, positiv
9	"	0,1	intraperitoneal	exitus am 15. Okt. 1909 positiv
10	"	0,1	"	getötet am 4. Dez. 1909, positiv
11	"	0,1	intramuskulär	" " 3. Nov. 1909, positiv
12	—	—	Kontrolle	" " 4. Dez. 1909, negativ
13	—	—	"	dgl.
14	—	—	"	"
15	—	—	"	"

T.B. = Tuberkelbacillen (Typus humanus), P.B. = Perlsuchtbacillen (Typus bovinus), T.B.A. = Vogeltuberkulosebacillen (Typus gallinaceus), T.B.P. = Fischtuberkulosebacillen.

Die Aale wurden in einem großen Bassin gehalten. Die Kontrolltiere wurden mit keiner Art Tuberkulose geimpft. Die einzelnen Aale sind mit einem Zeichen an der Rücken-, Brust- und Schwanzflosse versehen worden. Ein Verwecheln war folglich ausgeschlossen. Sie waren mit den geimpften Tieren 60 Tage beisammen.

Obduktionsbefunde.

Aal No. 6. Exitus am 10. Okt. 1909. In der Bauchhöhle ist keine Spur von einer Impfung. Das Peritoneum ist glatt, alle Organe sind von normalem Aussehen. In von der Oberfläche der Leber gemachten Klatschpräparaten fanden sich mit Ziehl-Färbung spärliche säurefeste Bacillen. Ihre Hülle ist schwach und ungleichmäßig tingiert. Mit der Elektivmethode (v. Betegh) sind auch spärlich (1—2 im Präparat) Säurefeste und einige Sporen nachweisbar. Desgleichen ist der Befund in Klatschpräparaten vom Peritoneum. Die mit Ausgangsmaterial der Bauchhöhle beschickten Glycerinagarröhrchen waren am 3. Nov. keimfrei.

Aal No. 9. Exitus am 15. Okt. 1909. In der Bauchhöhle ist ziemlich viel rötliches, dickflüssiges Exsudat. Das Peritoneum der visceralen und partiealen Wand ist matt. Die Leber ist etwas vergrößert, von bräunlich-gelber Farbe, und es sind unter der Kapsel zerstreut kleine Blutungen sichtbar. Im Exsudate sind mit Karbol-fuchsin-Methylenblaufärbung massenhafte säurefeste Bacillen nachweisbar. Es ist auffallend, daß die meisten Bakterien agglutiniert sind. Die einzelnen Bakterien sind homogen; sie weisen keine Struktur auf. Viele Bakterien sind auch in den Phagocyten sichtbar. In mancher Zelle sind 1—2 Bacillen, in anderen dagegen 8—10—15 und auch noch mehr phagocytirt. Es sind besonders lehrreich diejenigen Phagocyten, in welchen das Protoplasma sozusagen vollgepfropft ist mit Bakterien, derart, daß man die Konturen des Nucleus kaum zu Gesicht bekommt. In allen Fällen aber ist die Säurefestigkeit eine ausgesprochene, rein arteriöse. Mit der Elektivmethode sieht man im Detritus wie in den Bakterienleibern eine große Anzahl von Sporen. Aber die Hülle der Bakterien färbt sich hier entschieden venös. Ferner ist noch zu bemerken, daß der Nucleus der Phagocyten Joddahlia bis zu einem gewissen Grade auch zurückhält, was durch die Lyse der Säurefesten erklärlich ist.

Aal No. 8. Getötet am 3. Nov. 1909. An der Impfstelle sowie an der lateralen und ventralen Seite derselben sind mehrere, bis linsengroße, scharfkantige Ulzerationen. Diesen entsprechend ist die Haut verdickt. Aus den Ulzerationen quillt eine rötliche, dickflüssige Masse, und ringsherum sind die Blutgefäße erweitert und mit Blut gefüllt. In der Bauchhöhle ist kein Exsudat. Das Peritoneum ist glatt und glänzend, mit Ausnahme der Region der Ulcera, wo es matt und grau ist, und in einem Kreise von ca. 1 cm Durchmesser ist die Bauchwand mit dem entsprechenden Darmteile verwachsen. In der Umgebung der Ulzerationen ist das Bindegewebe der Haut serös infiltriert. Von den Ulzerationen führen in die Muskulatur Gänge, welche mit dickflüssiger, eitriger Masse ausgefüllt sind. Hier und da sind kleine Kavernen zu finden, wo die Haut mit der Muskulatur nur durch rötliche, leicht zerreibbare Leisten verbunden ist.

Im Sekrete der Ulcera, ferner im nekrotisch-eitrigen Detritus der Gänge und Kavernen sind mit Karbol-fuchsin-Methylenblaufärbung ziemlich viele, durchschnittlich 15—20 im Gesichtsfelde, teils intensiv, teils schwach tingierte säurefeste Bacillen nachweisbar. Es ist gleich auffallend, daß die Bakterien etwas dünner sind wie gewöhnlich. Mitunter färben sie sich ungleichmäßig. An den beiden oder an einem Ende der längeren Stäbchen sind Verdickungen wahrzunehmen, und diese Teile färben sich dementsprechend intensiver als die mittleren. Viele Bakterien sind phagocytirt, und an diesen kann man den ganzen Gang des Zerfalles verfolgen. In mancher Phagocyte sind scharfkantige, ziemlich gut gefärbte Bakterien, in anderen dagegen nur teilweise oder nur in Bröcklein tingierte Bacillen enthalten. Ein besonders interessantes Bild gibt hier die Elektivmethode. Intra- und extracellulär sind massenhafte Sporen nachzuweisen. Speziell diejenigen Zellen bieten ein lehrreiches Bild, in welchen man in dem Plasma nur noch die Sporen findet; die Hülle ist schon den lytischen Vorgängen ganz zum Opfer gefallen; sie hat in diesen Fällen ihre Tinktionsfähigkeit ganz eingebüßt.

Aal No. 11. Getötet am 3. Nov. 1909. An der Impfstelle sind zwei kleine, hanfkorngroße, blutende Ulcera. Ventral von diesen ist im Bindegewebe der Haut ein ca. erbsengroßer Tumor sichtbar. Degleichen einer in der Nähe des Anus. In diesen Tumoren findet man eitrig-nekrotische Massen. Ringsherum um den Tumor ist die Muskulatur serös infiltriert und sind auch einige kleine Blutungen sichtbar. Die Organe der Bauchhöhle sind ganz normal.

Im Eiter dieser nekrotischen Herde sind sehr viele Leukocyten und nur spärliche Tuberkulosebacillen sichtbar. Die Bacillen sind von normaler Form und Größe. Mit Karbol-fuchsin-Methylenblaufärbung sind in den Bakterien intensiver gefärbte Teile

zu sehen. Phagocytierte säurefeste Bakterien konnten nicht gefunden werden, aber solche, die mit Methylenblau total nachgefärbt sind, waren in sehr vielen Zellen zu sehen. Mit der Elektivmethode sind desgleichen wenig säurefeste Bakterien nachweisbar, jedoch bedeutend mehr Sporen. Der Nucleus der Zellen blieb stark tingiert.

Aal No. 10. Getötet am 4. Dez. 1909. An der Impfstelle ist ein hanfkorn-großer Tumor mit einer kleinen Ulzeration sichtbar. Afterwärts von diesem sind noch einige punktförmige Erosionen zu sehen. Dem Tumor entsprechend ist die Bauchwand verdickt. Aus dem Bindegewebe der Verdickung quillt eine eitrige Masse hervor. Das Peritoneum ist dem Tumor entsprechend mit dem Darne verwachsen. Alle anderen Organe sind normalen Aussehens. Im Eiter des Tumors sind sehr viele Leukocyten und sehr spärliche Tuberkulosebacillen nachzuweisen. Die Bacillen sind dünn und homogen gefärbt, degeneriert. Mit der Elektivmethode sind keine Sporen nachzuweisen. Die Leukocytenkerne bleiben stark tingiert.

Von allen Fällen sind je 4—4 Glyzerinagarröhrchen beschickt worden. In diesen ist aber nach 30 Tagen noch kein Wachstum der Bakterien beobachtet worden. Die für die Kontrolle auf demselben Nährboden geimpften Reinkulturen zeigten schon nach 8 Tagen ein üppiges Wachstum.

Im ersten Falle ist nach intraperitonealer Impfung von Vogeltuberkulosebacillen eine vollständige Degeneration resp. Lyse der Bakterien festzustellen gewesen. Auf künstliche Nährböden zurückgeimpft, wuchsen die Bacillen nicht mehr; sie haben ihre Entwicklungsfähigkeit eingebüßt. Im Aalkörper verursachten sie keine Tuberkulose.

Eine besondere Beachtung verdient der zweite Fall. Hier trifft man eine akute Bauchfellentzündung; im Exsudate sind massenhafte Tuberkelbacillen. Der größte Teil derselben war aber phagocytiert, sie haben ihre Entwicklungsfähigkeit auch eingebüßt. Der Tod des Tieres ist höchstwahrscheinlich auf Intoxikation, und speziell auf die Bauchfellentzündung zurückzuführen. Der dritte und vierte Fall ist auch interessant. In 30 Tagen entwickelte sich eine typische lokale Tuberkulose. Die Aale wären vielleicht eingegangen, aber nicht an Tuberkulose, wie das übrigens bei Aal No. 10 der Fall ist, wo eine Heilung unzweifelhaft zu konstatieren ist. Hier waren nach 60 Tagen im Eiter nur sehr spärliche Tuberkelbacillen vorhanden. An den Bacillen war auch eine Degeneration nachweisbar. Die Süßwasser-Fischtuberkulosebacillen verursachen beim Aale zwar in 100 Proz. eine lokale Tuberkulose, jedoch von benigner Natur. Der Bacillus büßt aber im Körper der Meerfische seine Entwicklungsfähigkeit ein. Beim Aale war, obwohl er nicht als echter Meerfisch zu betrachten ist, doch keine Anpassung der Bakterien zu verzeichnen. Der Grund ist klar, denn der Organismus des Aales ist von dem des Süßwasserfisches in biochemischer Hinsicht doch verschieden.

Diese Versuche sind für die schon veröffentlichten eine vollkommene Bestätigung.

Wenn wir nun das Schicksal der Warmblütertuberkulosebacillen im Aalkörper verfolgen, kommen wir zu einem wichtigen Resultate. Der Süßwasserfischtuberkulosebacillus kann in 30 resp. 60 Tagen eine lokale Tuberkulose hervorrufen, sei er intramuskulär oder intraperitoneal geimpft. Dagegen hat der Warmblütertuberkulosebacillus in keinem Falle weder lokale noch allgemeine Tuberkulose hervorgerufen. Zwar ist der eine mit Vogeltuberkulosebacillus geimpfte Aal nach kurzer Zeit eingegangen, aber die Todesursache ist nicht Tuberkulose. Der andere Fisch, der auch mit demselben Bacillus

geimpft wurde, zeigte nach 60 Tagen gar keine Spur von irgend einer Tuberkulose. Alle Warmblütertuberkulosebacillen sind im Aalkörper gänzlich zugrunde gegangen.

Auf Grund dieser Versuche kann man sagen, daß beim Aale die Möglichkeit vorhanden ist, mit dem Süßwasserfisch-tuberkulosebacillus lokale Tuberkulose zu erzeugen. Das im Meereswasser gelöste Jod scheint auf die Entwicklung eines tuberkulösen Prozesses wenig Einfluß zu haben. Die Resistenz der Meeresfische ist eher den speziellen biochemischen Verhältnissen ihres Organismus zuzuschreiben.

Ganz anders gestaltet sich die Frage der Transmutation der Warmblütertuberkuloseerreger. Wir sind auf Grund dieser Versuche berechtigt, anzunehmen, daß sich die Tuberkulosebacillen der Warmblüter im Körper der Meeresfische **nicht transmutieren lassen**. Ja wir sehen sogar, daß die Tuberkulosebacillen des Menschen, der Perlsuchtbacillus des Rindes und schließlich die Vogel-tuberkulosebacillen im Körper des Aales nicht nur nicht transmutieren in Kaltblütertuberkulosebacillen, sondern daselbst sogar gänzlich zugrunde gehen. Nach ihrer Impfung, sei es intramuskulär, sei es intraperitoneal, entwickelt sich gar kein tuberkulöser Prozeß. Es ist danach noch viel unwahrscheinlicher, daß es möglich wäre, mit denselben Bakterien bei Meeresfischen per os eine Infektion zu erzeugen. Die Aale, welche mit Warmblüter- und Fisch-tuberkulosebacillen geimpft worden sind, lebten mit den Kontrolltieren 60 Tage hindurch zusammen.

Wie wir sahen, entstanden offene Ulzerationen, welche sehr viele Tuberkulosebacillen enthielten. Es bot sich daher sehr viele Gelegenheit zu einer Infektion auch per os mit allen Arten von Tuberkulosebacillen. Und trotzdem sind in keinem der Kontrolltiere, weder in den Organen noch im Darmkanale tuberkulöse Veränderungen noch säurefeste Bakterien nachzuweisen gewesen. Die Behauptung, daß Fische mit Tuberkelbacillen des Menschen oder anderer Warmblüter zu infizieren sind, ist infolgedessen höchst unwahrscheinlich, und trifft speziell bei Meeresfischen durchaus nicht zu.

Aus den oben erwähnten Versuchen sind kurz folgende Schlüsse zu ziehen:

- 1) Meeresfische sind für Süßwasser-Fisch-tuberkulose wenig empfänglich; diese Tuberkuloseform ist aber benignen Charakters.
- 2) Meeresfische können mit Warmblütertuberkulosebacillen weder künstlich noch auf natürlichem Wege infiziert werden.
- 3) Die Warmblütertuberkulosebacillen gehen im Körper der Meeresfische in relativ kurzer Zeit gänzlich zugrunde.
- 4) Die Warmblütertuberkulosebacillen können im Körper der Meeresfische nicht in Kaltblütertuberkulosebacillen transmutiert werden.

Für die liebenswürdige Ueberlassung des Versuchsmateriales sage ich Herrn Prof. V. von Gauss, Direktor der königl. biologischen Station für Meeresforschungen, meinen verbindlichsten Dank.

Literatur.

- 1) v. Betegh, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 53. Heft 4.
- 2) Dubard-Terre-Bataillon, Compt. rend. soc. biol. 1897.
- 3) Sörgo u. Suess, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 43.
- 4) Weber, Tuberkulosearbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1905. Heft 5.
- 5) Tause, Tuberkulosearbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1905. Heft 5.
- 6) Morya, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 45.

Nachdruck verboten.

Ueber die durch abgetötete Tuberkelbacillen beim Menschen und beim Tiere hervorgerufene „Pseudotuberkulose“.

Von Dr. **P. Schrupf**, Straßburg i. E.

In einer kürzlich erschienenen Abhandlung „Ueber die Wirkung und therapeutische Verwertung der durch Galaktose abgetöteten Tuberkelbacillen“ (Zeitschr. f. Immunität u. exper. Ther. Bd. 4. Heft 3. p. 292) berichten E. Levy und E. Krenker kurz über einen von mir näher untersuchten Fall, dessen Befund einiges Interesse bietet, so daß er Gegenstand einer selbständigen Mitteilung werden dürfte.

Im Sommer 1907 hatte ich die Gelegenheit, einen Patienten zu untersuchen, welcher zwecks Behandlung einer chronischen Lungentuberkulose Einspritzungen von nach der Methode von E. Levy, Blumenthal und Marxer mit Zucker abgetöteten Tuberkelbacillen unter die Haut des Rückens erhalten hatte. An der Stelle der letzten Injektion, die vor 14 Tagen vorgenommen worden war, bestand unter der Haut ein, mit derselben leicht verwachsener, ca. bohngroßer Knoten des Unterhautzellgewebes. Die Haut darüber war nicht gerötet. Dieselbe wurde nun in Lokalanästhesie gespalten und die Hälfte des kleinen Tumors, der mit der Umgebung eng verwachsen war, herausgenommen; darauf wurde die Hautwunde durch Nähte geschlossen. Das exzidierte Gewebsstück war derbes Granulationsgewebe, in dem schon makroskopisch einzelne gelbliche Knötchen zu erkennen waren. Die Hälfte derselben wurde zwecks histologischer Untersuchung fixiert und gehärtet, die andere Hälfte mit physiologischer NaCl-Lösung verrieben und 2 Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Die gefärbten Schnitte boten nun deutlich das Bild eines tuberkulösen Granulationsgewebes, mit stellenweiser Verkäsung und Langerhansschen Riesenzellen am Rande der verkästen Bezirke. Die Färbung auf Tuberkelbacillen fiel trotz genauester Ausführung mit den von mir an anderer Stelle¹⁾ angegebenen Kautelen, negativ aus. — Die beiden, mit Tumorbrei injizierten Meerschweinchen wurden nach ca. 2 Monaten geschlachtet; bei keinem derselben waren Spuren von Tuberkulose aufzuweisen. Ferner zeigte sich, daß die an Ort und Stelle gelassene Hälfte des Tumors bei dem Patienten unter dem glatt vernarbten Operationsschnitt zusehens kleiner wurde und nach ca. 3 Wochen ganz verschwand. — Der Patient, den ich vor kurzem wiedersah, bestätigte mir, daß sich seitdem nie wieder an der betreffenden Stelle neue Schwellung eingestellt hätte.

1) Zieglers Beitr. Bd. 42. p. 230.

Diese Beobachtung bietet einen wichtigen Beitrag zur Frage der lokalen Einwirkung abgetöteter Tuberkelbacillen auf die Gewebe. Schon verschiedene Autoren, wie Prudden und Hodenpyl¹⁾, Forster²⁾ Fokker³⁾, Marmorek⁴⁾, haben darauf hingewiesen, daß tote Tuberkelbacillen beim Meerschweinchen und Kaninchen histologisch unverkennbare tuberkulöse Veränderungen hervorrufen können, teils lokal, an der Injektionsstelle, teils disseminiert, auf embolischem Wege. Unsere obige Beobachtung beweist, daß es sich beim Menschen ebenso verhält. Es muß als feststehend angenommen werden, daß tote Bacillenleiber, dem Organismus einverleibt, nicht bloß als Fremdkörper lokal reizend wirken, sondern daß ihre Zerfallsprodukte spezifisch toxisch sind und Veränderungen der Gewebe hervorrufen können, welche von einer echten Tuberkulose histologisch nicht zu unterscheiden sind, d. h. Granulosen mit Verkäsung von Riesenzellen, eventuell sogar mit, wenn auch toten, so doch färberisch, nachzuweisenden Tuberkelbacillen. Diese „Pseudotuberkulose“ ist natürlich als unbedingt gutartig anzusehen; ihre Ueberimpfung auf Meerschweinchen wird nie echte Tuberkulose hervorrufen. Nun darf man ja nicht glauben, daß Injektionen von toten Bacillen jedesmal „Pseudotuberkulose“ hervorrufen; es scheint bloß der Fall zu sein, wenn die rasche Resorption der Bacillenleiber verhindert wird. Was den Menschen anbelangt, so haben E. Levy und E. Krenker bei ihrem sehr großen Versuchsmaterial nur höchst selten eine Verzögerung der Resorption, so auch in Form von absceßartigen Erweichungen an der Injektionsstelle, beobachtet⁵⁾. Vielleicht kommt hierbei auch die Art, auf welche die Bacillen abgetötet werden, sehr in Betracht. Auch an Tieren gelingt das Hervorrufen von „Pseudotuberkulose“ keineswegs immer; positive Resultate werden am ehesten erzielt bei intravenöser und intraperitonealer Injektion, viel schwerer bei subkutaner. Marmorek hat beobachtet, daß junge, abgetötete Bacillen leichter resorbiert werden als alte, und daß der Zusatz von etwas Tuberkuloseimmenserum zu den abgetöteten Bacillen deren Resorption ganz wesentlich begünstigt. Ich selbst habe vor Jahren eine große Zahl von Versuchen mit durch Zucker abgetöteten Tuberkelbacillen (Tebeau, Levy-Kreuker) an Meerschweinchen angestellt; in das Unterhautzellgewebe der Leisten- gegend injiziert, wurden dieselben glatt resorbiert, ohne histologisch-tuberkulöse Veränderungen hervorzurufen; hierbei konnte an Schnitten die Resorption der Bacillenleiber, teils durch Phagocytose, teils durch eine Art von Verdauung, unabhängig von der Phagocytose, wohl durch Zellfermente, sehr gut beobachtet werden. Dieselben Resultate erzielte E. d. Hawthorn (C. R. soc. Biol. T. 66. p. 364), der bei der Nachprüfung der Versuche E. Levys 70 Meerschweinchen durch Glycerin abgetötete Tuberkelbacillen injizierte, ohne jemals weder lokale noch allgemeine Tuberkulose zu beobachten⁶⁾.

1) Baumgartens Jahresber. Bd. VII. 1891. p. 778 u. 780.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 417.

3) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. Vol. 1. 1892. p. 702.

4) Berlin. klin. Wochenschr. 1906. p. 1179.

5) Wie mir Herr Prof. Levy persönlich mitteilte, hält er diese, in Form von lokaler Reaktion an der Injektionsstelle bisweilen beobachtete „Pseudotuberkulose“ für therapeutisch günstig, da sie die Ausscheidung von Blutkörperchen verursachte.

6) Inwieweit die lokale Wirkung toter Tuberkelbacillen auf ganz gesunde Individuen eine andere sein kann als auf bereits tuberkulös erkrankte, möchte ich dahingestellt lassen; ich halte es jedoch nicht für unwahrscheinlich, daß die Gewebe eines tuberkulösen Organismus eine gewisse Ueberempfindlichkeit gegenüber toten Tuberkelbacillen besitzen können.

Ob beim Menschen ein Teil der sog. Leichentuberkel nicht ebenfalls als „Pseudotuberkulose“, durch tote Bacillen hervorgerufen, anzusehen sind, halte ich für keineswegs ausgeschlossen.

Zusammenfassend ist zu betonen, daß tote Tuberkelbacillen, wie bei Tieren, auch beim Menschen histologisch charakteristische tuberkulöse Veränderungen hervorrufen können, welche sich von der echten Tuberkulose nur durch das Fehlen von lebenden Bacillen, d. h. durch den negativen Ausfall des Tierversuches, unterscheiden lassen.

Straßburg, den 10. Februar 1910.

Nachdruck verboten.

Ueber die sogenannten gaserzeugenden Infektionen beim Menschen¹⁾.

[Aus der I. Chirurgischen Klinik der Kgl. Universität Neapel
(Vorstand: Prof. A. D'Antona).]

Von Giuseppe d'Agata, Vol.-Assistenten.

Seitdem Bottini 1870 die Gas erzeugende Infektion bei Tieren experimentell hervorgerufen hat, sind über diesen Gegenstand zahlreiche Arbeiten erschienen, in welchen die verschiedenen durch die Infektion herbeigeführten Krankheitsbilder und die verschiedenen Keime dargestellt wurden, die imstande sind, eine solche Infektion hervorzurufen. Es fehlte aber noch eine gute Klassifizierung der bis jetzt vorliegenden Beobachtungen ebenso wie eine sorgfältige Kritik der Tatsachen, um die wirklichen Errungenschaften der Wissenschaft auf diesem Gebiete darzustellen. 1902 hat Stolz sich bemüht, diese Lücke auszufüllen und, nachdem er alle klinischen Fälle und experimentellen Untersuchungen angeführt, die Notwendigkeit hervorgehoben, daß alle Fälle von Gas erzeugender Infektion in bakteriologischer Hinsicht genauer studiert werden, um in der Zukunft zu benutzbaren und einwandfreien Resultaten gelangen zu können.

Es schien mir deshalb von Nutzen, 4 Fälle von Gas erzeugender Infektion zu berichten, von denen ich einen im Ospedale dei Pellegrini und drei im Ospedale degli Incurabili beobachtet habe und welche mir zur bakteriologischen Untersuchung freundlichst überwiesen wurden. Die mikrobiologischen Untersuchungen wurden in dem Institut f. klin. Chirurgie der Universität Neapel ausgeführt, wo Muscatello, Gangitano, De Gaetano, Jacobelli und Rizzo wichtige Studien gemacht haben.

Bekanntlich weist die Gas erzeugende Infektion folgende Grundcharaktere auf: Nekrose und Entzündung der befallenen Gewebe, Gasentwicklung und Symptome von Toxikämie. Je nach dem verschiedenartigen Auftreten oder Vorwiegen der einzelnen genannten Erscheinungen wurde die Affektion verschieden benannt.

Ich glaube jedoch, ohne der wissenschaftlichen Genauigkeit und Klarheit zu schaden, die verschiedenen klinischen Formen, in welchen die Gas erzeugende Infektion auftreten kann, unter zwei Benennungen

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl-Turin.

zusammenfassen zu können: Der echte Gas erzeugende Brand und die Gasphegmonie, auch emphysematische Phlegmonie genannt.

Selbstverständlich können diese beiden klinischen Formen einen verschiedenen Verlaufsmodus aufweisen. Die beiden Krankheitsbilder können sich mit denjenigen vergesellschaften, welche Velpéau als traumatisches Emphysem und Bronzeerysipel beschrieben und unterschieden hat, und mit den Formen, die Pirogoff als primäre, mephitische, traumatische Gangrän und als akutes eitriges Oedem bezeichnet hat.

Die brandige Form ist charakterisiert durch eine (meistens durch traumatische Momente hervorgerufene) primäre Nekrose der Gewebe, welcher keine entzündlichen Erscheinungen vorausgehen, und welche von Gasentwicklung in den Maschen der brandig gewordenen Gewebe und von toxischen Allgemeinsymptomen begleitet ist. Bei der phlegmonösen Form beobachtet man dagegen, neben diesen Symptomen, auch entzündliche Erscheinungen, welche der Gewebnekrose vorausgehen oder folgen können. Diesen beiden klinischen Formen entsprechen verschiedene bakteriologische Befunde; dadurch lassen sich die klinisch beobachteten Tatsachen und das Vorkommen von klinischen Varietäten der Gas erzeugenden Infektion erklären.

„Die eine Form — schreibt Muscatello — ist auf die Wirkung von Gas bildenden Keimen zurückzuführen, welche sich in durch andere Ursachen veränderten Geweben lokalisiert haben; die andere hängt von einer Mischinfektion meistens mit pyogenen Mikroorganismen ab, welche nach und nach immer neue gesunde Gewebsgebiete befallen, in denselben nekrotisch-eitrige Veränderungen hervorrufen und somit immer neuen für die Verbreitung der Gas erzeugenden Keime günstigen Boden schaffen und der Gangrän von Anfang an einen auffallend progressiven und invadierenden Charakter verleihen.“

Nach diesen kurzen Notizen schreite ich direkt zur Beschreibung meiner 4 Fälle, von denen ich einen bereits veröffentlicht habe¹⁾.

I. Fall.

N. V. C. aus Genzano (Basilicata), 40 Jahre alt. Nichts Bemerkenswerthes in der Vorgeschichte. Kräftiger Körperbau. Wurde am 21. Dez. 1907 wegen einer Schußwunde am oberen Teil eines Schenkels in das Ospedale dei Pellegrini aufgenommen. Die Schußwunde wurde regelrecht desinfiziert und der lokale Verlauf des Prozesses war ziemlich gut. Am 11. Tage trat hohes Fieber mit remittierendem kontinuierlichem Typus ein; zu gleicher Zeit traten lokale Erscheinungen von emphysematischer Gangrän auf.

Der Kranke wurde von Prof. De Gaetano besonders mit Jodwasser und Wasserstoffsperoxyd behandelt (welches auch in die Umgebung des Herdes eingeführt wurde), und konnte nach 3 Monaten, vollständig geheilt, das Hospital verlassen.

Mikroskopischer Befund. Zwischen einer großen Anzahl in Zerfall begriffener Leukocyten beobachtet man zahlreiche Keime, von denen einige kokkenförmige haufenweise angesammelt, und andere mit deutlicher Bacillenform bald gruppenweise vereinigt, bald vereinzelt sind. Man findet ferner einige 3—4 μ lange Fäden.

Aërobische Kulturen. *Proteus vulgaris* und ein *Bacillus*, welchen ich als eine Varietät des *Proteus* Typ. *Zenkeri* angesprochen habe.

1) Atti della Società Italiana di chirurgia. 1909.

Anaërobische Kulturen. Dieselben Keime. In jedem Nährboden bewirkt der *Proteus* Typ. *Zenkeri* Entwicklung von Gas.

Biologische Eigenschaften. Ich habe das typische Bild der Gasgangrän dadurch hervorgerufen, daß ich 1 ccm Bouillonkultur des *Proteus Zenkeri*, nachdem ich nekrotische Veränderungen herbeigeführt hatte, oder dadurch, daß ich 1 ccm Bouillonkultur beider Mikroorganismen (bevor ich diese isolierte) einspritzte.

Die subkutane Einspritzung von 8—10 ccm des Filtrates von einer Kultur des *Proteus* Typ. *Zenkeri* (kurze Zeit nach seiner Isolierung aus der Symbiosis mit dem *Proteus vulgaris*) führte bei einem Meerschweinchen den Tod mit deutlichen Symptomen von Toxisaprokämie herbei.

II. Fall.

P. C. aus Messina, 54 Jahre alt. Wurde am 1. Jan. 1909 von Messina, wo er mehrere Tage unter den Trümmern der infolge des Erdbebens zusammengestürzten Stadt gelegen hatte, nach Neapel getragen. Man fand zahlreiche Quetschwunden dritten Grades und eine Gasgangrän der linken Unterextremität. Patient starb am 2. Jan., nachdem er schwere Symptome von Toxikämie aufgewiesen hatte. Die Autopsie wurde nicht erlaubt.

Mikroskopische Untersuchung. Mehr oder weniger zerfallene Leukocyten, die sich schlecht färben lassen; zahlreiche Streptokokken; 0,6 μ breite und 1,2 μ lange Bacillen; ferner große, gut färbbare und gramfeste Bacillen mit rundlichen unbeweglichen Enden.

Äerobische Kulturen. *Streptococcus pyogenes* und *Proteus vulgaris*.

Anaërobische Kulturen. Ein obligater Anaërober, welcher eine starke Gasentwicklung bewirkt und Gelatine verflüssigt und in besonderen Nährböden (zylinderförmig erstarrtes Blutserum) Sporen bildet. Ich habe diesen Keim als den Welch-Fränkelschen *Bacillus* angesprochen.

Biologische Eigenschaften. Die subkutane Einimpfung von Bouillonkulturen des vorgefundenen anaëroben Keimes ruft bei Meerschweinchen an der Inokulationsstelle eine leichtgradige emphysematische Gangrän hervor, welche sich in den umgebenden Teilen verbreitet. Die Tiere starben nach 12—24 Stunden. Die Serosität des Oedems enthält zahlreiche Bacillen. Eine toxische letale Wirkung erzielt man durch Einspritzung von 6—9 ccm des Filtrates.

III. Fall.

P. C. aus Messina, 38 Jahre alt. Nichts Bemerkenswertes in der Anamnese. Kräftiger Körperbau. Wurde am Tage nach dem Erdbeben nach Messina getragen und ins Ospedale degli Incurabili aufgenommen. Man fand einige Quetschwunden dritten und einige zweiten Grades. Die linke Unterextremität war von einer Gasphlegmone befallen. Am 30. Dez. 1908 wurde das Glied im oberen Schenkeldrittel amputiert. Der Allgemeinzustand des Patienten besserte sich, dagegen eiterte der Amputationsstummel längere Zeit weiter. Die Wunde wurde mit antiseptischen Spülungen, mit Jodwasser und Wasserstoffsperoxyd behandelt, bis endlich im Juni die Heilung eintrat. Während seines Aufenthaltes im Hospital wurde der Kranke von verschiedenen Erysipelattacken an verschiedenen Körperstellen und besonders in der linken Glutäalgegend heimgesucht.

Mikroskopische Untersuchung. Zwischen zahlreichen Leukocyten findet man Haufen von Streptokokken und durchschnittlich 0,5 μ dicke und 2—3 μ lange, bewegliche Bacillen, die sich nach Gram nicht färbten.

Aërobische Kulturen. *Streptococcus pyogenes* und *Bacillus coli commune*.

Anaërobische Kulturen. *Bacillus coli commune* (der in den Kulturen immer Gas entwickelt).

Biologische Eigenschaften. Durch Einspritzung einer Mischkultur des *Bacillus coli commune* und des *Streptococcus pyogenes* konnte ich bei Meerschweinchen das klinische Bild der Gas erzeugenden Infektion experimentell herbeiführen. Der *Bacillus coli commune* rief, subkutan eingespritzt (1—2 ccm), eine lokalisierte Phlegmone hervor und das Tier starb nach ungefähr 48 Stunden.

IV. Fall.

N. C. aus Messina, 19 Jahre alt. Nichts Bemerkenswertes in der Anamnese. Wurde in schlimmem Zustande ins Ospedale degli Incurabili aufgenommen, nachdem er 2 Tage und 2 Nächte unter den Trümmern von Messina gelegen hatte. Blasser, stark herabgekommener Patient, mit schlaffer Muskulatur. Man fand zahlreiche Quetschwunden dritten Grades und eine echte Gasphlegmone am rechten Bein. Dieses wurde am 31. Dez. 1908 im oberen Schenkeldrittel amputiert. Die zu verschiedenen Zeiten ausgeführte Harnuntersuchung ergab Albuminurie (0,5 g Eiweiß auf je 1 l Harn). Die Wunde wurde täglich sorgfältig desinfiziert; die Granulationen des Amputationsstummels erschienen jedoch torpid. Patient hatte Fieber mit remittierendem kontinuierlichem Typus. Der septikämische Allgemeinzustand verschlimmerte sich nach und nach, bis am 30. Jan. 1909 der Exitus letalis eintrat. Die Autopsie wurde nicht erlaubt.

Mikroskopische Untersuchung. Man fand zahlreiche, meistens traubenartig vereinigte Kokken, ferner große (kleiner als der *Bacillus anthracis*) isolierte oder zu 2—3 vereinigte, unbewegliche, gramfeste Bacillen, und schließlich Bacillen, die ihrer Dimension, ihrer Form und ihrer Anordnungsweise nach dem Diphtheriebacillus glichen.

Aërobische Kulturen. *Staphylococcus pyogenes* und *Pseudodiphtheriebacillus*.

Anaërobische Kulturen. *Pseudodiphtheriebacillus* und *Bacillus von Welch-Fränkels*. Dieser verflüssigt, im Gegensatz zu dem in dem Fall II isolierten, die Gelatine nicht. Beide Bacillen bewirken Gasentwicklung.

Biologische Eigenschaften. Der in diesem Falle isolierte *Welch-Fränkelsche Bacillus* hat, experimentell geprüft, nie das typische Bild der Gas erzeugenden Infektion hervorgerufen, auch wenn man vorher nekrotische Veränderungen herbeiführte. Subkutan, zusammen mit dem *Pseudodiphtheriebacillus* und mit dem *Staphylococcus pyogenes aureus* eingepflegt, rief er eine jauchige Phlegmone mit einzelnen Gasblasen hervor.

* * *

Ich habe in allen 4 Fällen mit der Sekretion des septischen Herdes und mit den im Augenblicke der Inzision gesammelten Flüssigkeiten, unter Beobachtung der strengsten bakteriologischen Maßregeln, Kulturen

in verschiedenen Nährböden angelegt und dabei stets mikroskopische Untersuchungen ausgeführt. In allen Fällen habe ich zu gleicher Zeit aerobische und anaerobische Kulturen angelegt, diese letzteren nach dem Verfahren von Liborius, Sanfelice, Buchner und Veillon.

Ich habe mich bemüht, eventuelle Fehlerquellen zu vermeiden und die geringe Lebensfähigkeit einiger Anaeroben ebenso wie das eventuelle Ueberhandnehmen der fakultativen Anaeroben berücksichtigt, welche sich anaerobiotisch gut und rasch entwickeln.

Vermittelst einer sorgfältigen Technik ist es mir gelungen, die erwähnten Mikroorganismen zu isolieren.

Die Resultate meiner bakteriologischen Untersuchungen werden der Gegenstand einiger kurzer Betrachtungen sein; zu gleicher Zeit werde ich die verschiedenen Bakterienarten erwähnen und kurz besprechen, welche andere Autoren als Erreger der Gasinfektion beim Menschen nachgewiesen haben.

Die Mikroorganismen, welchen am meisten die Eigenschaft zugeschrieben wird, eine solche septische Infektion hervorzurufen, sind, unter den Anaeroben der Welch-Fränkelsche *Bacillus* und der *Bacillus oedematis maligni* oder die ihnen ähnlichen, und unter den Aeroben der *Colibacillus* oder die coliähnlichen und die *Proteus*-Arten.

Ich will die wesentlichen mikroskopischen und kulturellen Charaktere dieser Bakterienarten in einer Tabelle (p. 224 u. 225) kurz zusammenfassen.

In einzelnen Fällen wurden bei der Gasinfektion besonders aerobe Keime nachgewiesen, wie der *Bac. septicus aerobius* von Legros und Lecène, der *Streptobacillus gasogenus aerobius* von De Gaetano usw.; diese Beobachtungen erheischen aber noch eine Bestätigung.

Bacillus von Welch-Fränkels. Dieser ist am häufigsten als Erreger der Gasinfektion beim Menschen nachgewiesene *Bacillus*. Welch und Nuttal fanden ihn 1892 in den schaumigen Organen der Leiche und Fränkel 1893 in einem Fall von Gaspneumonie. In Italien wurde er zum erstenmal zu gleicher Zeit (1898) von Muscatello und Cesaris-Demel isoliert. Fränkel hat ihn als spezifisch für die Gaspneumonie angesehen und ihn infolgedessen als *Bacillus phlegmonis emphysematosae* benannt.

Er scheint sehr nahe verwandt mit dem *Bacillus perfringens* zu sein, welchen 1898 Veillon und Zuber in einer großen Anzahl von Infektionsfällen isoliert haben, welche besonders durch einen gangränösen und fauligen Prozeß charakterisiert waren. In der Tat weist der *Bacillus perfringens* fast alle die aus meiner Tabelle ersichtlichen mikroskopischen und kulturellen Charaktere des *Bacillus* von Welch-Fränkels auf.

Grassberger und Schattenfroh haben die Frage nach den Buttersäurebacillen gründlich studiert und auf Grund ihrer Untersuchungen zwei Arten des Fränkelschen *Bacillus* unterschieden: Die sporenbildende Form (welche sich dem von Achalmé 1891 in den organischen Flüssigkeiten eines infolge von Gelenkrheumatismus gestorbenen Menschen nachgewiesenen *Bacillus* nähert) und die asporogene Form (welche sich dem *Bacillus perfringens* nähert). Die Mehrzahl der Autoren faßt jedoch die beiden Formen zu einer einzigen zusammen und führt die Unterschiede auf einfache Besonderheiten einzelner Stämme eines und desselben *Bacillus* zurück.

Der für Meerschweinchen pathogene *Bacillus perfringens* zeigt bezüglich seiner Virulenz große Schwankungen und kann auch Gasphlegmonen hervorrufen; man findet ihn normalerweise in der Darmflora, und er spielt bei der Fäulnis eine große Rolle.

Der *Bacillus* von Welch-Fränkell, auch Gasbacillus genannt, weist ein verschiedenes pathogenes Vermögen auf, indem er bald schwere, tödlich auslaufende Infektionen und bald einfache Gasabscesse mit sehr milden Symptomen und gutartigem Verlauf hervorruft. Wenn man ihn allein einimpft, kann er sich harmlos erweisen, wie Cesaris-Demel, Boni, Gaup und Stanculeau und Regnault beobachtet haben, während er, wenn er zusammen mit anderen Keimen inokuliert wird, tödlich auslaufende Gasinfektionen herbeiführen kann. Muscatello hat bei Meerschweinchen das Symptomenbild der Gasgangrän dadurch hervorgerufen, daß er bei den Versuchstieren zuerst künstliche nekrotische Veränderungen der Gewebe erzeugte und dann den *Bacillus* in Reinkultur einimpfte.

In biologischer Hinsicht verhält sich somit der Welch-Fränkell'sche *Bacillus* in derselben Weise, wie der gewöhnliche von Veillon und Zuber beschriebene. Durch diesen normalerweise im Darm vorkommenden Keim erklären sich die von verschiedenen Autoren beschriebenen Fälle von Gasinfektion, in welchen keine traumatische Läsion nachgewiesen wurde, und diejenigen, in welchen die Infektion infolge der Einspritzung von durch mikroskopische und kulturelle Untersuchungen als gänzlich steril erwiesenen Flüssigkeiten auftrat. In letzteren Fällen könnte man vielleicht annehmen, daß der Keim schon vorher auf der Haut vorhanden gewesen sei, oder daß er sich in der durch die Injektion zu einem *locus minoris resistentiae* gewordenen Haut nachher lokalisiert hat. Eine solche Möglichkeit haben schon 1898 Veillon und Zuber und kürzlich (1908) Tissier behauptet. So schreiben diese Autoren: „La flore intestinale surajoutée contient des espèces pathogènes (*Bac. perfringens* etc.) capables de pénétrer dans la circulation générale, à la faveur d'un trouble de nutrition, pour former ou aider à former des processus gangreneux.“

Ich glaube nun, auf Grund des genauen Studiums der anaërobischen Flora, der von den Autoren gemachten Beobachtungen und meiner Untersuchungen behaupten zu können, daß der Welch-Fränkell'sche *Bacillus* keineswegs spezifisch für die Gasinfektion ist, sondern einen Fäulnispilz darstellt, welcher verschiedene Läsionen und besonders die Gasinfektionen am Lebenden und die sogenannten „schaumigen Organe“ in der Leiche hervorrufen kann.

Auch Grassberger und Schattenfroh und kürzlich Kamen haben dem *Bacillus* eine jede Spezifität abgesprochen und meinen, derselbe gehöre zu der in der Natur zahlreich vertretenen und sehr verbreiteten Art der Buttersäurebacillen, welche unter besonderen Umständen ein pathogenes Vermögen annehmen können.

Bacillus oedematis maligni. Chauveau und Arloing haben bereits 1883 nachgewiesen, daß die gangränöse Septikämie durch den septischen *Vibrio Pasteurs* hervorgerufen wird. Einige Autoren stellen die Möglichkeit, daß dieser die Gasgangrän hervorrufen in Abrede, während andere (Silberschmidt, Ghon, Sachs, Bechmann) behaupten, daß die dem *Bac. oedematis maligni* ähnlichen Bacillen Gasinfektionen herbeiführen können.

	Beweglichkeit	Färbbarkeit	Form	Lebensweise	Temperaturoptimum	Kultur auf Bouillon
Bac. Welch-Fränkel (Bac. perfringens)	Unbeweglich	Leicht färbbar. Verliert bei der Behandl. nach Gram nicht die Farbe	Große, im Durchschnitt 5—6 μ lange und 1 μ breite Bacillen. Fast immer vereinzelt, selten vereinigt. In Kulturen stets ohne Kapsel; eine solche weist er auf, wenn er aus Eiter oder aus der Leiche entnommen wird	Obligat-anaerobe	37° C	In peptonhaltiger Nährbouill. schwache Entwicklung. In Bouill. m. Kartoffelzusatz (Wrzorekscher Nährb.) findet Gasentwicklung statt
Bacillus oedematis maligni	Beweglich	Leicht färbbar. Nach Gram schwer und langsam färbbar	3—5 μ lange und 0,6—1 μ breite Bacillen mit runden Enden	Obligat-anaerobe	37° C	Ausgesprochene Trübung der Bouillon, mit Entwicklung stinkender Gase. Später wird die Bouillon wieder klar und es entsteht ein Bodensatz
Bacillus coli	Beweglich	Leicht färbbar. Nicht gramfest	Im Durchschnitt 2 bis 4 μ lange und ungef. 0,5 μ breite Bacillen mit abgerundeten Enden; weisen Vakuolen auf	Fakultativ-anaerobe	37° C	In peptonhaltiger Bouillon bedeutende u. gleichmäßige Trübung mit Sediment
Proteus typ. Zenkeri	Wenig beweglich	Leicht färbbar. Die Keime aus 48 Std. alten Kult. lassen sich bei der Behandl. nach Gram entfärben	Im Durchschnitt 1 bis 1,8 μ bis 4 μ lange und 0,6 μ breite Bacillen mit abgerundeten Enden	Fakultativ-aerobe	37° C	In peptonhalt. Bouillon gleichmäß. Trübung mit geringer staubförmig. Sediment. Nach einiger Zeit wird die Bouillon klar. Gute Entwicklung in der nach Tarozzi-Grixoni hergestellten Bouillon

Wenn man Reinkulturen dieses anaeroben Bacillus Meerschweinchen inokuliert, entsteht das typische Krankheitsbild des Oedema malignum (mit hämorrhagischer Entzündung und Gasentwicklung), welches ohne Zweifel von der Gasgänger zu unterscheiden ist.

Ich habe keine eigene Erfahrung hierüber, glaube aber, daß man, soviel aus den Untersuchungen einiger Autoren zu schließen ist, daß man den Bac. oedematis maligni und den diesem ähnlichen die Fähigkeit nicht absprechen kann, unter besonderen Umständen die sogenannten Gasinfektionen hervorzurufen, wie aus den Untersuchungen hervorgeht, die De Gaetano und Desimone ausgeführt haben, welche in einem Fall einen Mikroorganismus isoliert haben, dessen kulturelle und biologische Charaktere denjenigen der dem Bac. oedematis maligni ähnlichen Bacillen ähneln.

Kultur auf Agar	Kultur auf Gelatine	Kultur auf Milch	Kultur auf Kartoffeln	Sporenbildung
Punktförm., weiße, feuchte Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung: Körnige Kolonien mit gleichmäßigen oder wellenförmigen Rändern, umgeben von einem schwachen Hof. Bei Agartiefkulturen linsenförmige Kolonien mit starker Gasentwicklung und Zerstückelung des Agars	Unkonstante Verflüssigung der Gelatine (Macé). Aussehen der Kolonien wie auf Agar	Gerinnung innerhalb 24 bis 48 Std. zu großen und dicht. Klumpen	Entwickelt sich schlecht	Kann Sporen bilden, aber unter besonderen Verhältnissen (Achalme, Macé)
Entwicklung weißlicher Kolonien mit körniger Struktur und den Kolonien entsprechender Trübung	Verflüssigung d. Gelatine und Gasentwicklung	Milch zuerst geronnen und dann peptonisiert	Keine sichtbare Entwicklung von Kulturen	Leichte Sporenbildg. zentral in den Bac., nie in den Fäden
Die oberflächlichen Kolonien sind gelblich-weiß mit runden oder wellenartigen Rändern. Die tiefen Kolonien sind rund oder elliptisch, gelblich-braun In Glukoseagar Gasentwicklung	Keine Verflüssigung der Gelatine. Oberflächliche Kol. linsenförmig mit scharfen Umrissen, graue Farbe mit bräunl. Reflexen. Tiefe Kol. sehen aus wie weißliche opake Körner	Entwickelt sich in der Milch gut und bringt sie mehr oder minder rasch z. Gerinnen	Entstehung eines zuerst gelbl. u. spät. braunen Belages, dick mit feuchter Oberfläche	Keine Sporenbildg.
Oberflächliche Kolonien münzenförmig mit polizyklischen Umrissen. Tiefe Kolonien klein und mehr oder minder rundl. Deutliche Gasentwicklung und Zerstückelung des Nährbodens	Kleine, weißl.-graue, körnige Kol. mit unregelmäß. Rändern. Der Einstichlinie entlang Entwicklung der Gasbläschen.	Gerinnung d. Milch mit Entwickelg. von stinkenden Gasen	Dünnes, schwach gelbliches Häutchen	Keine Sporenbildg.

Coli-Bacillus und coliähnliche. Dieser in der Natur so sehr verbreitete fakultative Aërobe wurde allein und mit anderen vergesellschaftet in vielen Fällen von Gasinfektion (auch bei Nichtdiabetikern) nachgewiesen. Die Einimpfung dieses Mikroorganismus ist in bezug auf die Gasinfektion gewöhnlich negativ ausgefallen; nur Heyse ist es einmal gelungen, durch Einspritzungen von einer Reinkultur von einer Coli-Art die genannte Infektion hervorzurufen; dagegen konnte Muscatello durch Einspritzung von einer Mischkultur von Coli-Bacillen und Proteus eine typische Gasgangrän leicht herbeiführen. Fränkel schreibt dem Coli-Bacillus als Erreger der emphysematischen brandigen Infektion keine große Bedeutung zu, obwohl man, um gewisse Fälle zu erklären, welche ausschließlich durch Coli-Bacillen hervorgerufen wurden, annehmen muß, daß diese Keime unter besonderen Bedin-

gungen eine branderregende und gaserzeugende Eigenschaft annehmen können.

Proteus. Diese wurden in verschiedenen Fällen von Gasinfektion nachgewiesen; auch hier haben einige Autoren den *Proteus*-Arten jede ätiologische Bedeutung abgesprochen. Mir ist es gelungen, das Symptombild der septischen Gasinfektion dadurch hervorzurufen, daß ich eine Varietät des *Proteus Zenkeri* entweder allein, nachdem ich im betreffenden Gewebe nekrotische Veränderungen herbeigeführt hatte, oder zusammen mit dem *Proteus vulgaris* einimpfte.

Auch Lanerlongue und Achard haben bei Versuchstieren durch Einimpfung von *Proteus* echte Gasgangrän herbeigeführt. Ebenso wie die oben besprochenen Mikroorganismen sind die *Proteus* gewöhnlich Saprophyten und nehmen unter gewissen Umständen eine sehr ausgeprägte Virulenz an, so daß sie die Gasinfektion verursachen können.

Ich glaube somit aus den Beobachtungen und Untersuchungen anderer Autoren und aus meinen schließen zu dürfen, daß in der Aetiologie der sogenannten „Gasinfektion“ verschiedene Keimarten eine Rolle spielen oder spielen können, welche gewöhnlich Saprophyten sind und unter besonderen Bedingungen branderregende und gasentwickelnde Eigenschaften annehmen. Es ist interessant, sie zu kennen, ebenso wie es angebracht ist, sich ihrer zu erinnern, wenn man es mit einer Gasphlegmone oder einer Gasgangrän zu tun hat.

In solchen Fällen muß man mikroskopische und biologische Untersuchungen vornehmen, bevor man sich zu einem schweren chirurgischen Eingriff (z. B. einer Amputation) entscheidet. Wenn der *Vibrio septicus* nicht nachweisbar ist, ist die Prognose besser; man muß aber in jedem Fall nicht vergessen, wie große Schwankungen die Virulenz der anderen Keime aufweisen kann, und besonders diejenige des Welch-Fränkelschen *Bacillus*. Diese Virulenz prüft man am besten durch subkutane Inokulation bei Tieren. Bezüglich der Prognose muß man jedenfalls auch an die pyogenen Keime (besonders den *Streptococcus*) denken, welche sich mit dem gaserzeugenden vergesellschaften können.

Die Behandlung hat in der letzten Zeit eine wirkliche Umwandlung erfahren. *Maisonneuve* sagte 1851, man solle in den Fällen von Gasgangrän sofort, nachdem man die Diagnose gestellt hat, operativ eingreifen. *Salleron* bezeichnet 1858 diese Affektion als unheilbar. Heute sind die Meinungen sehr geändert, da man bekanntlich den septischen Prozeß von Anfang an dadurch coupieren kann, daß man in das befallene Gewebe tiefe Einschnitte macht und dann den Herd mit Antiseptics behandelt. Die bereits 1887 von *Braatz* angewendete Behandlung mit Wasserstoffsperoxyd hat gute Resultate gezeitigt. Auch die Spülungen mit Jodwasser haben sich als wirksam erwiesen. Die Amputation muß nur als extrema ratio für die Fälle reserviert werden, wo die Notwendigkeit dieser Operation aus eventuellen schweren Toxikämiesymptomen hervorgeht oder durch sorgfältige, aber rasch ausgeführte bakteriologische Untersuchungen bewiesen erscheint.

Ich glaube somit in dem Sinne schließen zu dürfen, daß die sogenannte „Gasinfektion“ beim Menschen keine spezifische, stets durch eine und dieselbe Bakterienart herbeigeführte Affektion, sondern einen Symptomenkomplex darstellt, welcher durch verschiedene Mikroorganismen (meistens Saprophyten) hervorgerufen werden kann, welche unter besonderen Bedingungen branderregende und gasentwickelnde Eigenschaften annehmen können.

Man muß immer den Zustand des Kranken sorgfältig untersuchen und in Betracht ziehen und stets mikroskopisch-biologische Untersuchungen ausführen, bevor man zu einem schweren chirurgischen Eingriff schreitet.

Literatur.

- Albrecht, Arch. f. klin. Chir. Bd. 67. 1902. H. 3.
 Anzillotti, Clinica Chirurgica. 1906. No. 11.
 Arloing, Compt. rend. soc. Biol. de Paris. 1887.
 Arx, Korresp. f. Schweiz. Aerzte. 1899.
 Babes, Compt. rend. soc. Biol. de Paris. 1909. No. 7.
 Boltini, Accad. med. Torino. 1871.
 Baup et Stanculean, Compt. rend. soc. Biol. de Paris. 1900.
 Braatz, St. Petersb. med. Wochenschr. 1887. No. 51.
 Bechmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1904.
 Bradec, Wien. klin. Rundsch. 1900.
 Buday, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24. 1898.
 Bunge, Fortschr. d. Med. 1894.
 Campenon, Congr. franç. de Chir. 1892.
 Cesaris Demel, Giorn. accad. med. Torino. 1898—1899.
 Chavigny, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
 Chaveau et Arloing, Bull. de l'Acad. de méd. 1884.
 Charrin, Bull. de la soc. anat. de Paris. 1884.
 Chiari, Prag. med. Wochenschr. Bd. 1. 1893.
 Cornevin, Journ. de méd. vétér. et de zootechnie. 1888.
 Corner et Singer, The Lancet. 1900. No. 4024.
 Courboulés, Thèse de Lyon. 1883.
 D'Agata, Il Tommasi. Vol. 4. 1909. No. 36.
 Dansauer, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 6.
 — —, Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 32. 1891.
 De Gaetano, Atti soc. Italiana di Chirurgia. 1905.
 — —, Il Tommasi. 1906.
 Del Vecchio, Riforma med. 1897. No. 274.
 De Curabon, Thèse de Lyon. 1902.
 De Simone, Il Tommasi. 1908. No. 30.
 Dies, Wien. klin. Wochenschr. 1900.
 Duprez, Arch. de méd. expér. T. 3. 1897.
 v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. Bd. 40.
 Dudgeon and Sargent, Transact. of the pathol. Soc. of London. Vol. 55. 1904.
 Ernst, Virchows Arch. Bd. 133. 1893.
 Foà et Bonome, Arch. ital. de Biol. Vol. 8. 1887.
 Fränkel, Hamburg u. Leipzig 1893.
 — —, Ergebnisse der allgemeinen pathologischen Anatomie. Wiesbaden 1902.
 Gaudiani, Ann. d'Igiene sperim. Vol. 4. 1908.
 Ghon und Sachs, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34—36. 1903—1904.
 Goebel, Jahrb. d. Hamburg. Staatskrank. Bd. 6. 1897.
 Grassberger, Jahrb. d. Wien. Krankenanst. Bd. 5. 1893.
 Grassberger und Schattenfroh, Münch. med. Wochenschr. Bd. 21. 1900.
 Guillemont, Philadelphia med. Journ. Vol. 2. 1808.
 Hallé, Arch. de méd. et chir. de l'enfance. T. 8. 1905.
 Hauser, Münch. med. Wochenschr. 1892.
 Hämig und Silberschmidt, Korresp. f. Schweiz. Aerzte. 1900.
 Hirschmann und Lindenthal, Wien. klin. Wochenschr. Bd. 13. 1900.
 Hibler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899.
 Howard, Journ. of exper. med. Vol. 5. 1900.
 Kamen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1904. H. 5 u. 6.
 Koch, Mitteil. a. d. Kais. Gesundh.-A. 1881.
 Kropac, Arch. f. klin. Chir. Bd. 72. 1904.
 Kwiatkowsky, Bonitschnaia gas. Botkina. 1889. p. 439.
 Jacobelli, Riforma med. Anno 20. 1904.
 Legrès, Arch. de méd. expér. 1903.
 Legrès et Lecène, Compt. rend. soc. Biol. de Paris. 1901. p. 680.
 Leclainche et Morel, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.
 Leyg, Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 32. 1891.

- Margarucci**, Policl. Sez. Chirurg. 1895.
Maisonneuve, Bull. de l'Acad. des sciences. 1853.
Menereul, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895.
Muscatello, Arch. per le sc. med. 1896.
Muscatello e Gangitano, Riforma med. 1898—1900.
Nepveau, Thèse de Paris. 1870.
Novy, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894.
Orion, Thèse de Paris. 1901.
Passini, Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 921.
Pasteur, Bull. de l'Acad. de méd. 1887.
Passow, Charité-Annalen. Jahrg. 1895.
Pende, Boll. soc. Lancisiana. 1907. Fasc. 2.
Picchi, Lo sperimentale. 1907. p. 173.
Pirogoff, Arch. de méd. milit. 1858.
Regnault, Rev. de chir. 1903.
Rist, Bull. de l'Inst. Pasteur. 1905.
Rizzo, Stab. tipogr. di Gennaro. Napoli. 1903.
Rodella, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903.
Rosenthal, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1909.
Rothfuchs, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 42.
Salleron, Arch. de méd. milit. 1858.
Sandler, Allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. 13. 1902.
Sanfelice, Ann. Ist. Igiene di Roma. 1891.
Schupfer, Policlinico. Sez. medica. 1905.
Silberschmidt, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 41. 1901.
Schrön, Giorn. accad. med. e nat. Napoli. 1891.
Stinelli, Gazz. intern. di med. Sett. 1908.
Trélat, Bull. de l'acad. de méd. 1884.
Trifaud, Rev. de chir. 1883.
Uffelheimer, Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Pathol. Bd. 31. 1902.
Umber, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 6. 1900.
Verneuil, Semaine méd. 1890.
Veillon et Zuber, Arch. méd. expér. 1898.
Welch, Johns Hopkins Hosp. Reports. Sept. 1900.
Welch and Nuttall, Bull. of the Johns Hopkins Hosp. Reports. Vol. 3. 1892.
Westenhoffer, Virchows Arch. Bd. 168. 1902.
Werner, Arch. f. Hyg. 1904. H. 3.
Wicklein, Virchows Arch. Bd. 175. 1891.

Nachdruck verboten.

Ueber Ratin II

Von **L. Bahr**, Laboratoriumsvorsteher, Kopenhagen.

Die Artikel, welche in dieser Zeitschrift im Jahre 1909 von **Mereshkowsky** und **Sarin** sowie **Xylander** über das im Bakteriologischen Laboratorium Ratin zu Kopenhagen hergestellte Präparat „Ratin II“ erschienen sind, lassen vermuten, daß ein Mißverständnis bezüglich dieses Präparates vorliegt oder vorgelegen hat.

Ich weise daher auf meine Abhandlung in dieser Zeitschrift (Bd. 52. Heft 4) hin, aus der nicht nur hervorgeht, weshalb das Ratinlaboratorium das Präparat Ratin II hergestellt hat, sondern auch wie dieses Präparat, nachdem praktische Erfahrungen damit gesammelt waren, zu einem reinen toxischen Präparat umgewandelt wurde. Es ist gewiß nicht überflüssig, nochmals zu betonen, daß Ratin II immer nur die Bestimmung gehabt hat, ein Supplementpräparat zu sein, das in denjenigen Fällen Verwendung finden sollte, in denen die Empfänglichkeit der Ratten gegenüber der Bakterienkultur Ratin (Ratin I) zu gering war, um eine totale Ver-

tilgung der schädlichen Nager oder eine zufriedenstellende Abnahme der Anzahl der Ratten zu erreichen.

Wenn das Laboratorium in den ersten Jahren das „Ratin II“ als eine auf toxischen Nährböden gezüchtete Bakterienkultur herstellte, so geschah dieses auf Grund von Laboratoriumsversuchen, welche erwiesen hatten, daß dadurch eine höhere Sterblichkeitsziffer als durch die Reinkultur Ratin erreicht wurde. In der Praxis zeigte es sich aber, daß dieses nicht stichhaltig war, indem die Ratten oft zu große Dosen per os aufnahmen und somit die toxische Wirkung zu sehr hervortrat, während die ansteckende Wirkung zu gering war. Aus diesen Gründen und weil das toxische Bakterienpräparat möglicherweise in einzelnen Fällen vielleicht schädlich für Haustiere sein könnte, ging man dazu über, Ratin II als ein Präparat mit toxischer Hauptwirkung herzustellen. Die Bakterien wurden jetzt nur hineingebracht, da man von dem Nutzen nicht absehen wollte, welchen diese in Ausnahmefällen (wenn zu geringe Mengen von den Ratten aufgenommen wurden, um einen toxischen Tod zu veranlassen) eventuell haben konnten. Als es sich aber nach späteren Laboratoriumsversuchen zeigte, daß die Bakterien langsamer oder schneller durch das toxische Substrat abgetötet wurden, und die praktischen Versuche das Resultat ergaben, daß die Bakterienwirkung ohne Bedeutung war, ging man dazu über, das Ratin II als ein bakterienfreies, toxisches Präparat herzustellen. Nachdem diese letzte Modifikation stattgefunden hatte, wurde Ratin II natürlich nicht mehr als Bakterienkultur bezeichnet. Wenn somit Mereshkowsky und Sarin sowie Xylander angeben, daß sie nicht imstande gewesen sind, Ratinbakterien aus Ratin II zu züchten, so ist der Grund hierfür wahrscheinlich darin zu suchen, daß ihre Untersuchungen während der Zeit stattgefunden haben, in der die in dem Präparate vorhandene große Menge toxischer Stoffe die im Anfang darin befindlichen lebenden und wirksamen Ratinbakterien bereits vernichtet hatte, und zu einem Zeitabschnitt, wo das Laboratorium Ratin selbst noch nicht konstatiert hatte, daß die Bacillen nach oft längerer Zeit zugrunde gehen.

Der Zweck und die Bestimmung des „Ratin II“ geht übrigens aus den 2 Broschüren hervor, welche das Ratinlaboratorium im Jahre 1906 und 1908 herausgegeben hat, und aus denen mit aller Deutlichkeit ersichtlich ist, daß Ratin II nur ein Supplementpräparat für die Bakterienkultur Ratin ist.

Was die Bedeutung der Supplementpräparate anbetrifft, so geht diese aus den in meiner Abhandlung erwähnten praktischen Versuchen zur Genüge hervor. Dieselben sind gewiß nicht unwesentlich oder ohne Bedeutung, ihre Einführung ist vielmehr ein großer Schritt vorwärts, dem allgemein erstrebten Ziele der totalen Vertilgung der Ratten entgegen. Daß die wissenschaftlichen und praktischen Versuche und die Resultate dieser das Laboratorium schließlich dazu geführt haben, die Supplementpräparate bakterienfrei zu machen, ist mithin kein Rückgang, weil deren praktischer Wert nicht unwesentlich größer ist, als derjenige der früheren bakterienhaltigen.

Mit der Bakterienkultur Ratin und dem Supplementpräparate (Ratin II, Ratinin) ist es dem Bakteriologischen Laboratorium Ratin gelungen, ein System zur rationellen Vertilgung der Ratten auszuarbeiten:

Das erste Glied in diesem Systeme ist die Bakterienkultur Ratin, welche dazu bestimmt ist, an von Ratten geplagten Stellen zu-

erst Anwendung zu finden, eine Infektionskrankheit zu bewirken und damit eine Ansteckung von Ratte zu Ratte.

Das zweite Glied (die bakterienfreien Supplementpräparate „Ratin II“ oder „Ratinin“) treten in Wirksamkeit an den Stellen, an denen das erste Glied (3 Wochen nach dem ersten Auslegen der Bakterienkultur) nicht totale Vertilgung oder zufriedenstellende Resultate gezeigt hat. Mit Hilfe dieses Systems sind ca. 80 Proz. der rattengeplagten Versuchsstellen in Dänemark total oder doch nahezu vollkommen von Ratten befreit worden.

Wenn Mereshkowsky und Sarin geäußert haben, daß Gefahr beim Gebrauch von Ratin II unseren Haustieren drohen könnte, ohne selbst auch nur einen einzigen Versuch mit Ratin II an Haustieren mitgeteilt zu haben, so glaube ich im Gegenteil, meine im Laboratorium und in der Praxis gewonnene Ansicht über die Unschädlichkeit des Ratin II mit Beweisen belegt zu haben. (Diese Zeitschrift. Bd. 52. Heft 4.)

Ich habe im Vorstehenden die praktische Bedeutung des Ratin II im Ratinsystem betont. (Das Laboratorium Ratin hat niemals mitgeteilt, daß Ratin II die Toxine des Ratinbacillus enthielt.) Es ist deshalb vollständig berechtigt, wenn das Bakteriologische Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen (Halle a. S.) seinerzeit Xylanders Untersuchungen über Ratin als unvollkommene und seine Schlüsse hinsichtlich der praktischen Bedeutung des Ratins als unberechtigt bezeichnet hat. Rein wissenschaftlich ist Xylander natürlich berechtigt, nur das eine Glied des Ratinsystems (die Bacillenkultur Ratin) zum Gegenstande seiner Untersuchungen zu machen, wenn er aber seinen Untersuchungen eine praktische Bedeutung zulegen will, wie er es (siehe Xylander: „Der Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel“, Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 28. 1908. p. 167) mit folgenden Worten getan hat: „Was nun schließlich die praktische Verwendbarkeit des Ratins zur Rattenbekämpfung anlangt, so wird man auf Grund der angestellten Versuche den Schluß ziehen müssen, daß man in der Praxis wahrscheinlich nur einen mittelmäßigen Erfolg haben wird, da man eben mit der erworbenen Resistenz bzw. Immunität einer größeren Anzahl der wilden Ratten zu rechnen hat“, dann hat er vergessen, hinzuzufügen, daß das Bakteriologische Laboratorium Ratin schon 2—3 Jahre vor Xylander seine Untersuchungsergebnisse in einem Artikel in dieser Zeitschrift (L. Bahr, Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 271—272) veröffentlicht und mitgeteilt hat, daß ein gewisser Prozentsatz der wilden Ratten Ratin gegenüber sich als immun erwiesen hat. Um nun speziell diese Ratten vertilgen zu können, hat das Laboratorium schon 1906 das zweite Glied des Ratinsystems (Ratin II etc.) eingeführt. Diese Tatsache hätte Xylander erwähnen müssen, weil — wenn er über die praktische Bedeutung des Ratin urteilen wollte — dieses zweite Glied nicht unerwähnt bleiben durfte, um so weniger, als Ratin II damals noch eine Bakterienkultur und Literatur darüber zugänglich war.

Nachdruck verboten.

Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtnergruppe.

Erwiderung auf den gleichnamigen Artikel Xylanders.

Von

L. Bahr,
Direktor des bakteriologischen Laboratoriums „Ratin“ in Kopenhagen.

Dr. H. Raebiger,
Leiter des bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer Halle a. S.

Dr. G. Grosso,
Bakteriologe am Jenner-Pasteur-Institut in Budapest.

In Heft 4 des 52. Bandes dieses Centralblattes für Bakteriologie hat Xylander unter vorstehendem Titel die Resultate unserer vergleichenden Untersuchungen über den *Bacillus paratyphosus* B, den *Bacillus enteritidis* Gärtner und den Ratinbacillus, welche wir in der Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasit. Krankheiten u. Hygiene der Haustiere, Heft 3/4 des 5. Bandes veröffentlicht haben, einer Kritik unterzogen und besonders auch den auf Grund späterer Untersuchungen geschriebenen Nachtrag zum Gegenstand seiner Erörterungen gemacht. In diesem Nachtrag zu unserem Artikel haben wir darauf hingewiesen, daß unter dem Namen „*Bacillus enteritidis* Gärtner“ Kulturen von verschiedenen Eigenschaften geführt zu werden scheinen und mithin die Frage entsteht, welche Kultur die Original-Gärtner-Kultur ist, und welche Stellung diese zu dem *Paratyphus* B- und dem Ratinbacillus einnimmt.

Xylander hat 4 Gärtner-Stämme untersucht, und zwar die Stämme von Ermengem, Gärtner-Institut, Gärtner-Drigalski und Gärtner-Gesundheitsamt und hinsichtlich der von uns hervorgehobenen Reagentien keine Verschiedenheiten gefunden. Ferner hat Xylander einige (im ganzen nur 4) dem Gärtner-Bacillus nahestehende Kulturen untersucht, und glaubt daraus folgendes schließen zu können: „Die Untersuchung der kulturellen Eigenschaften des Ratinbacillus und des Original-Gärtner-Stammes sowie der bei den verschiedensten Fleischvergiftungen gezüchteten Gärtner-ähnlichen Bakterien ergibt in allen Teilen vollkommene Uebereinstimmung, insbesondere Wachstum auf Nährböden, welche bernsteinsaures Ammoniak enthalten.“

Wir müssen dazu erwidern, daß wir an unseren früheren Behauptungen, betreffend die Gärtner-Kulturen, trotzdem festhalten müssen, da unsere weiteren, in der Zwischenzeit an Gärtner-Stämmen verschiedenster Herkunft ausgeführten Untersuchungen die Richtigkeit unserer Annahme erwiesen haben. Denn es besitzen z. B. der Ratinbacillus, der Gärtner-Bacillus aus Prag (Král) und der Gärtner-Bacillus aus Dresden (Klimmer) dieselben Eigenschaften gegenüber den von Xylander angeführten Zuckerarten (Tabelle II seines Artikels), und es wachsen ferner alle 3 Kulturen in Cibils-Aschelösung bei Zusatz von bernsteinsaurem Ammoniak; trotzdem vermag aber nur der Ratinbacillus in Cibils-Aschelösung unter Zusatz von schleimsaurem Ammoniak ($\frac{1}{2}$ Proz.) ausgezeichnet zu wachsen, die vorgenannten beiden Gärtner-Stämme dagegen nicht.

Die von uns benutzte Cibils-Aschelösung ist übrigens lediglich eine Lösung der in Cibils-Fleischextrakt enthaltenen Salze. Das Wesentlichste dieses Reagens besteht darin, daß es die in der Fleischbouillon

enthaltenen Salze, jedoch nicht das Eiweiß oder andere stickstoffhaltige Quellen enthält. Zu dieser Salzlösung haben wir eine eiweißfreie, stickstoffhaltige Quelle von bekannter chemischer Natur (z. B. bernsteinsaures, schleimsaures Ammoniak etc.) hinzugesetzt, wie sie zuerst C. O. Jensen bei seinen Coli-Untersuchungen verwendet hat. Wir betonen dies, weil Xyländer von Wachstum auf „Nährböden“ spricht, welche bernsteinsaures Ammoniak enthalten.

Hinsichtlich des Gärungsverhaltens in Bouillon mit Zusatz von Arabinose haben wir die interessante Tatsache feststellen können, daß nicht nur der bei unseren ersten Untersuchungen benutzte Gärtner-Stamm des Hygienischen Instituts der Universität Halle, sondern auch eine vom Bacteriological-Departement Lister Institute of Preventive Medicine (London) erhaltene Gärtner-Kultur nicht imstande ist, diese Zuckerart zu vergären. Auch unsere Haustedt-Kultur, die Bahr der Freundlichkeit des Herrn Dr. Trautmann-Hamburg verdankt, vergärt im Gegensatz zu Xyländers Haustedt-Stamm nicht Arabinose¹⁾.

Ueber das Agglutinationsphänomen schreibt Xyländer, daß wir demselben einen großen Wert nicht beimessen können, weil wir nach Anstellung zahlreicher Agglutinationsversuche zu der Ueberzeugung gelangt sind, daß sich die Agglutination zur Einteilung unserer Bakterien nicht eignet. Er vergißt aber, daß wir nach dieser Richtung hin auch die Arbeiten von Jensen und Trommsdorf zitiert haben, welche auf Grund ihrer Untersuchungen ebenfalls zu der Ansicht gelangt sind, daß der Agglutination zur Unterscheidung nahestehender Formen kein allzu-großer Wert beizumessen ist. Neuerdings bestätigt dies auch Lebram in seiner kürzlich in der Zeitschr. f. Hyg. etc., Bd. 64. Heft 3, veröffentlichten Arbeit: Ueber Agglutination von Typhusbacillen durch spezifisches Gärtner-Serum.

Wir sind aber in der Zwischenzeit, und zwar noch vor Erscheinen des Xyländerschen Artikels dieser Frage nochmals nähergetreten, und haben außer dem anfangs nur benutzten Gärtner-Stamm-Halle noch 10 andere, in den verschiedenen Instituten als „Gärtner“- bzw. „Originalgärtner“ bezeichnete Kulturen zu Agglutinationsversuchen herangezogen (vgl. Tabelle p. 233).

Aus der Tabelle geht hervor, daß von 11 mit dem Namen Gärtner- oder Original-Gärtner bezeichneten Kulturen, die wir von verschiedenen Laboratorien erhalten haben, nur 6 stark von Gärtner-Serum (des Instituts für Infektionskrankheiten Berlin), 1 schwach (1:100) und 4 Gärtner-Stämme überhaupt nicht agglutiniert wurden. Unter diesen 4 nicht agglutinierten Gärtner-Stämmen befand sich auch die „Original-Gärtner-Kultur“ des Kaiserlichen Gesundheitsamtes Berlin. Mithin besteht unsere Behauptung auch im Hinblick auf die „Original“-Gärtner-Kultur zu Recht, daß nämlich das Agglutinationsphänomen für die hier in Betracht kommenden nahestehenden Bakterienarten differentialdiagnostisch keinen zu großen Wert hat, besonders da die seitens der verschiedenen Laboratorien als echt bezeichneten Gärtner-Stämme auch bei der Agglutinationsprüfung voneinander abweichen.

Aus den Schlußsätzen des Xyländerschen Artikels geht hervor, daß er den Ratinbacillus als völlig identisch mit dem Gärtner-Bacillus und den Fleischvergiftern hinstellt.

1) Wir haben Cibils-Bouillon benutzt, Fleischbouillon läßt sich bekanntlich zu derartigen Untersuchungen nicht verwenden.

Als Sera wurden benutzt:

1 Paratyphus A- und

1 Paratyphus B-Serum des Reichserumsinstituts in Kopenhagen.

1 Gärtner-Serum vom Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.

Bezeichnung der Kulturen	Paratyphus-A-Serum	Paratyphus-B-Serum	Gärtner-Serum
1) Gärtner-Kultur II, Lister-Institut London	0	0	+
2) Gärtner-Kultur III, Lister-Institut London	0	0	0
3) Gärtner-Kultur Král	0	0	+
4) Gärtner-Kultur, Dresden (Klimmer)	0	0	+
5) Gärtner-Kultur, Morse. Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin	0	0	+
6) Gärtner-Kultur, van Ermengem. Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin	0	0	(+)
7) Original-Gärtner, Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin	0	0	0
8) Gärtner-Kultur, Hygienisches Institut Halle a. S.	0	0	0
9) Gärtner-Ratte, Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin	0	0	+
10) Gärtner-Fleisch, Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin	0	0	+
11) Gärtner-Stamm, Kaiserl. Gesundheitsamt Berlin	0	0	0

Zeichenerklärung: 0 = keine Agglutination, + = starke Agglutination, (+) = schwache Agglutination.

Demgegenüber ergibt es sich schon aus den vorläufigen Mitteilungen über unsere diesbezüglichen Untersuchungen, daß nicht einmal die unter dem Namen „Gärtner“ und „Original-Gärtner“ geführten Stämme völlig untereinander übereinstimmen. Man ist somit nicht berechtigt, den Ratinbacillus mit dem Gärtner-Bacillus gänzlich zu identifizieren.

Es kann nun auch kein Wunder nehmen, daß Xylanders Feststellung der Schutzkraft von Gärtner-Serum gegenüber der Infektion mit dem Bacillus enteritidis Gärtner und dem Ratinbacillus im Vergleich zu unseren Untersuchungen andere Resultate ergeben hat, weil eben Xylander mit einem anderen Gärtner-Bacillus und einem anderen Gärtner-Serum gearbeitet hat als wir.

Daß Xylander bei dem Verhalten des Ratinbacillus und Gärtner-Bacillus auf coffeinhaltigen Nährböden keine Unterschiede hat erkennen können, beruht vielleicht zum Teil darauf, daß er unter ganz anderen Verhältnissen gearbeitet hat als Grosso (dessen Mikrophotogramme z. B. aus Präparaten von Kulturen stammten, deren Nährböden nur 0,5 Proz. Coffein enthielten). In dieser Hinsicht ist ferner zu bemerken, daß wir auch die Alkalizität des von Xylander verwendeten Agars nicht kennen. Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Alkalizität eine große Rolle bei der Fadenbildung spielen kann, sogar auch bei sonst schwer fadenbildenden Bakterien (conf. Broll, „Zum Wachstum der ovoiden Bakterien etc.“, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 4. p. 137). Es ist demnach klar, daß bei solchen Versuchen die neutrale Reaktion des Agars streng beachtet werden muß, sonst haben wir es mit einer summierten Wirkung zu tun und nicht nur mit der Coffeinbeeinflussung. Wir haben bei unseren Versuchen stets mit derselben Sorte von Agar gearbeitet, den wir selbst sorgfältig hergestellt hatten, und haben bei Wiederholung der Versuche und genauer Durchmusterung zahlreicher Präparate immer wieder dieselben Beobachtungen gemacht, daß nämlich der Ratin-

bacillus keine ausgesprochene Fadenbildung zeigt. Xyländer hätte als Widerlegungsmaterial Photogramme seiner eigenen mikroskopischen Präparate beifügen sollen! (Unsere Präparate sind noch heutigen Tages aufbewahrt.)

Zur Prüfung der Unschädlichkeit der Ratinbacillen an Haustieren haben wir nicht nur Jahre hindurch umfangreiche Versuche angestellt, sondern auch seitens vieler anderer Versuchsansteller, wie z. B. O. Müller-Königsberg, Scharr-Berlin, Bergman-Malmö, Wladimiroff und Kamensky-St. Petersburg, van t'Hoff und Wedda-Rotterdam, Malvoz-Liège ist bestätigt worden, daß der Ratinbacillus für Haustiere, Milchkälber ausgenommen, als unschädlich zu betrachten ist. Dies geht auch aus den kürzlich von Bahr veröffentlichten, bei umfassenden Versuchen aus der Praxis gewonnenen Erfahrungen (Heft 4 des 52. Bd. dieses Centralbl.) hervor. Xyländer selbst hat in seinem Artikel in Heft 1 des 28. Bd. der Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte auf Grund seiner eigenen Versuche an Meerschweinchen, Kaninchen, Tauben und 1 Schwein dasselbe Ergebnis erzielt, was wir schon in unserer eingangs erwähnten Abhandlung betont haben. Demgegenüber ist der „Gärtner-Bacillus“ schon oft genug als für große und kleine Haustiere, sowie für Menschen gefährlich beschrieben worden, und es ist bekannt, daß er Krankheitsfälle veranlaßt hat, die zum Tode geführt haben. Als Stütze unserer Annahme von der Unschädlichkeit der Ratinbacillen für Menschen haben wir aber nicht nur den im Kopenhagener Ratin-Laboratorium ausgeführten freiwilligen Versuch einzelner Personen angeführt, sondern in unserer diesbezüglichen Abhandlung vor allem auf die während der letzten Jahre in der Praxis gemachten Erfahrungen hingewiesen, auf Grund deren wir bestätigen können, daß im Gegensatz zu den mit den Mäusetyphuskulturen gemachten Beobachtungen selbst während Massenauslegungen niemals irgendwelche, mit den Ratinkulturen in Verbindung zu bringende Krankheitsfälle unter den mit der Herstellung, Anrichtung und Auslegung beauftragten Personen festzustellen gewesen sind, und wir blicken in dieser Hinsicht auf Erfahrungen zurück, die wir im Verlaufe von nunmehr 6 Jahren gesammelt haben. Trotzdem haben wir darauf aufmerksam gemacht, daß auch für die Anwendung der Ratin-kulturen die gleichen Verhaltensmaßregeln vorgeschrieben werden könnten, wie sie durch den preußischen Ministerialerlaß vom 4. April 1905 für den Gebrauch der Mäusetyphuskulturen bekanntgegeben, und wie sie im übrigen von Anfang an den Ratinkulturen beim Versand freiwillig beigegeben worden sind.

Schließlich müssen wir betonen, daß der Xyländer gemachte Vorwurf, die Rattenvertilgung mit Ratin habe durch ihn eine unvollkommene Behandlung insofern erfahren, als er Ratin II nicht mit in das Bereich seiner Untersuchungen gezogen hat, vollständig zu Recht bestand, denn als Xyländer seine Versuche über den Ratinbacillus in den Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte veröffentlichte (Heft 1, Bd. 28, 1908), stellte auch Ratin II noch ein Bakterienpräparat dar. Das geht unter anderem auch einwandfrei aus den Untersuchungen Lebrams in Heft 3, Abt. I, Orig., Bd. 50 dieses Centralbl. vom 21. Mai 1909 hervor, der seine zu den vergleichenden Untersuchungen mit dem Gärtner-Bacillus benutzte Ratinkultur aus einer Originalbüchse Ratin II gezüchtet hat.

Abgeschlossen am 20. Dez. 1909.

Nachdruck verboten.

On the absence of spirochaetes in mouse tumours.

[From the Bacteriological Laboratory London Hospital.]

By **James McIntosh, M. D.**

It has been known for some time, that spirochaetes are not infrequently present in ulcerated human tumours of a carcinomatous nature, but these spirochaetes have always been looked on as being of a saprophytic type such as are frequently to be found on any ulcerated surface. In 1905 Borrel (1) described two types of spirochaetes in certain of his ulcerated and non-ulcerated mouse tumours, but he attached no aetiological significance to their presence. Gaylord (4) and Calkins (2) writing in 1906 independently, described the presence of small spirochaetes in several of their mouse tumours and were inclined to believe that their presence was of some aetiological importance. This however was disputed by Tyzzer (6) who found a large number of spirochaetes, in mice in which unsuccessful transplantations, with tumours containing spirochaetes, had been made a short time previously.

Deetjen (3) in 1908 also found similar spirochaetes in a considerable number of his tumours including subinoculations made from tumours sent him from the Imperial Cancer Research Fund. These spirochaetes were found not only in the tumour itself but in the surrounding fibrous capsule and in the blood. Other investigators however while working with the same strains of tumours failed to find any spirochaetes.

Recently I had the opportunity of examining some fourteen strains of the Imperial Cancer Research Fund mouse tumours, including ulcerated, non-ulcerated spontaneous and transplanted types. The tumours comprised 11 transplanted mammary carcinomata (adeno-, alveolar and haemorrhagic carcinomata) and 3 sarcomata of the mouse, a spontaneous and a transplanted carcinoma of the rat; all with the skin intact. In addition several specimens of three transplanted mouse carcinomata and one rat carcinoma in the ulcerated and therefore presumably contaminated condition; in all 34 separate tumours were examined.

Pieces of the tumours were taken, fixed in formalin and then stained by Levaditi's method for the demonstration of spirochaetes in the tissues. In spite of careful examination no spirochaetes were found in any of the tumours. Several of the ulcerated tumours, however, showed a considerable degree of bacillary infection. The complete absence of spirochaetes in certain strains of the Imperial Cancer Research Fund was very interesting as other observers had described the presence of spirochaetes in sub-transplantations made by them from these tumours obtained from London.

The most probable explanation of these different results are that not the tumours but the mice were infected with the spirochaetes previous to inoculation.

Wenyon (6) in 1906 described the presence of a very minute spirochaete in the blood of apparently normal mice; some time ago I had the opportunity of examining the blood of several mice infected with the *Spirochaeta Wenyoni* and these spirochaetes were practically identical in size and form with those described by Gaylord, Calkins

and Deetjen in their mouse tumours. Now however all are practically agreed that most spirochaetes found in spontaneous and transplanted mouse tumours are very closely related to if not identical with the spirochaete of Wenyon, even Gaylord (5) has himself recently stated that no less than 70 per cent. of his supposed normal mice were infected with spirochaetes. As Levaditi's silver method is admirably adapted for demonstrating spirochaetes our negative results in all probability have more significance than they otherwise would have, we cannot but consider that the spirochaetes found in mice with spontaneous or inoculated tumours have no causal relationship to these growths.

Bibliography.

- 1) Borrel, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1905. p. 770.
- 2) Calkins, Journ. of Inf. Diseases. 1907. p. 171.
- 3) Deetjen, Münch. med. Wochenschr. 1908. p. 1167.
- 4) Gaylord, Journ. of Infect. Diseases. 1907. p. 155.
- 5) Gaylord, Berlin. klin. Wochenschr. 1908. p. 2296.
- 6) Tyzzer, Proc. of the Soc. of exper. Biol. and Med. New York. Vol. IV. 1907. p. 85.
- 7) Wenyon, Journ. of Hyg. 1906. p. 580.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über Affenmalaria.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Leiter Med.-Rat
Prof. Dr. Nocht, Hamburg.]

Von **R. Gonder** und **E. Rodenwaldt**.

Wenn man sich zu der Auffassung bekennt, daß für das Eintreten des Schwarzwasserfiebers eine Malariainfektion als Grundlage vorhanden sein muß, so ist es ein naheliegender Gedanke, bei der Unmöglichkeit am lebenden Menschen wirksam zu experimentieren, die morphologisch der menschlichen so ähnliche Malaria der Affen zu Experimenten über das Wesen des Schwarzwasserfiebers heranzuziehen.

Die Gedankengänge, welche uns bei der Anstellung unserer Versuchsreihen leiteten, zu beweisen, sind wir bei unserem Material nicht in der Lage gewesen, weil es uns nicht gelang, die nötige Pathogenität des *Plasmodium kochi*, mit dem wir arbeiteten, zu erzielen; diese trat erst ein bei Ausschaltung der Milz aus dem Körper des Versuchstieres. Da aber, wie anderer Autoren Versuche und unsere eigenen zeigen, ohne Milz kein Schwarzwasserfieber eintreten kann, so war die Erreichung des Zieles der Versuche uns verschlossen. Indessen liegen die Prämissen, aus denen sich unser Arbeitsplan ergab, so nahe, daß es uns nicht zwecklos erscheint, auch den negativen Ausfall der Versuche bekanntzugeben; auch aus dem Negativen ist ja etwas zu lernen. Dann aber sind als Nebenergebnisse unserer Versuche eine Anzahl recht positiver Tatsachen hervorgetreten, welche allgemein, besonders aber für die Laboratoriumstechnik von Interesse sein dürfte, sie knüpfen sich an die Folgen der Entmilzung für die parasitäre Erkrankung des Versuchstieres. Um es kurz vorweg zu nehmen, die Entmilzung hat bei Affen mit *Plasmodium kochi* und ebenso bei Hunden mit *Babesia canis* zur Folge, daß die Parasiten, die normalerweise binnen

Kürze aus dem kreisenden Blut verschwinden, nach der Entmilzung monatelang in großer Anzahl mit dem Blut kreisen, so daß man die Stämme ohne Weiterübertragung lange Zeit in demselben Tier erhalten kann.

Ausgehend von der klinischen Beobachtung, daß fast regelmäßig bei Schwarzwasserkranken ein erheblicher Milztumor vorhanden ist, glaubten wir annehmen zu dürfen, daß der Ausfall einer normalen Funktion der Milz zur Ursache des Schwarzwasserfiebers wird. Es liegt nahe anzunehmen, daß die Milz als normale Untergangsstelle der Erythrocyten regulatorische Funktionen besitzt, in dem Sinne, daß das auf die zerfallenden Erythrocyten reaktiv gebildete Autolysin an Ort und Stelle durch ein Antilyysin paralytisch wird. Man kann ferner annehmen, daß bei der in Staffeln erfolgenden Ueberschwemmung der Milz mit Erythrocyten bei den einzelnen Malariaanfällen die Bildung des Autolysins so stark angeregt wird, daß die Bildung eines Antilyysins damit nicht Schritt halten kann. Man kann schließlich folgern, daß die Bildung des Antilyysins vollkommen versagen muß, wenn infolge einer Chinindosis eine Massenimpfung der Milz mit Erythrocyten erfolgt. Dann kommt das in Menge gebildete Autolysin allein zur Wirkung und wir haben eine Hämoglobinurie. Ausschaltung der Milz, so schlossen wir, würde die Bildung des Antilyysins vollkommen verhindern, Autolysine hingegen würden auch von anderen Organen gebildet werden.

Tatsächlich ist dem nicht so. Wie die Versuche von Joannowicz (Experimentelle Untersuchungen über den Ikterus, Zeitschr. f. Heilkd., Bd. 25, 1904), die uns zu Beginn unserer Arbeit nicht bekannt waren, ergeben, ist das Vorhandensein der Milz zum Zustandekommen einer Hämoglobinurie unerlässlich, bei ihrem Fehlen tritt auf die Einwirkung von Blutgiften nur Hämoglobinämie und gelegentlich hämorrhagische Diathese ein.

Wir können diese Ergebnisse dahin bestätigen, daß bei einem unserer entmilzten Versuchsaffen auf eine Dosis von 0,5 Chinin. muriaticum hämorrhagische Diathese im Darm, einmaliger Abgang von blutigem Stuhl nach der Injektion stattfand¹⁾.

War somit nach Ausschaltung der Milz die Richtigkeit des oben skizzierten Gedankenganges nicht zu erweisen, so scheint uns eine Reihe von Versuchen in vitro doch für das Vorhandensein einer antihämolysierenden Substanz in der Milz zu sprechen. Wir stellten zunächst fest, daß 0,25 ccm einer 1-proz. Lösung von Chinin. muriaticum 0,5 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von Affenblutkörperchen noch komplett löst, eine Menge von 0,2 ccm vermag es nicht mehr. Gewöhnlicher wässriger und durch Aetherextraktion entfetteter Milzextrakt von gesunden und malariakranken Affen haben beide keinerlei hämolysierende Eigenschaften. Beide Arten von Milzextrakt aber beeinflussen deutlich die Chininhämolysierung in hemmender Weise derart, daß 0,3 ccm des konzentrierten wässrigen Extrakts die hämolysierende Wirkung von 1 ccm einer 1-proz. Chininlösung aufhebt, 0,25 ccm des entfetteten Extrakts die hämolysierende Wirkung von 0,25 ccm einer 1-proz. Chininlösung. Inaktivierung der Extrakte ändert an dieser Wirkung nichts.

1) Der Chinintiter für komplette Hämolysierung beträgt nach nebenbei angestellten Versuchen für 5-proz. Schweineblutkörperaufschwemmung 1 ccm einer 1-proz. Lösung von Chinin. muriaticum, 0,5 ccm löst nicht mehr, für Hundebloodkörperaufschwemmung gleicher Konzentration 0,5 ccm einer 1-proz. Lösung von Chinin. muriaticum, 0,3 ccm löst nicht mehr.

Von den 5 bisher beschriebenen Plasmodien der Affen *Plasmodium kochi* (Kossel), *Plasmodium pitheci* (v. Prowazek und Halberstädter), *Plasmodium innui* (v. Prowazek und Halberstädter), *Plasmodium cynomolgi* (M. Mayer) und *Plasmodium brasilianum* (Gonder und v. Berenberg-Gossler) wählten wir das erste, weil es einerseits morphologisch dem *Plasmodium vivax* des Menschen am ähnlichsten erscheint, wie jenes für den Zeitablauf seiner Schizogonie 48 Stunden gebraucht und weil die Gattung *Mangabe* (*Cercocebus fuliginosus*), in der es am besten gedeiht, eine Affenart von besonderer Zahmheit und so für Laboratoriumszwecke besonders geeignet ist, während andere Affen (*Rhesus*, *Macacus*, *Cynocephalus*) weniger empfänglich und schwieriger zu behandeln sind.

Die Aehnlichkeit mit *Plasmodium vivax* hat den einen von uns (Gonder) veranlaßt, zweimal bei sich einen Uebertragungsversuch mit parasitenhaltigem Affenblut (zuletzt mit 2,5 ccm) anzustellen. Eine Uebertragung fand nicht statt. Ebenso wenig gelang es uns, eine Entwicklung des *Plasmodium kochi* in Stechmücken weiter zu beobachten, als in einem Fall im Magen von *Stegomyia fasciata* bis zur Ookinetenbildung, was nicht viel besagen will.

Es sei hier in Parenthese bemerkt, daß auch eine große Reihe von Versuchen, mit menschlicher Malaria beim Affen zu experimentieren, d. h. die Uebertragung menschlicher Malaria auf Affen uns, wie allen anderen Autoren, bisher fehlgeschlagen sind. Wir haben versucht, größere Mengen reich infizierten Blutes mit *Plasmodium immaculatum* sowie *vivax* unter Vermeidung jeder Abkühlung verschiedenen Affenspecies zu infundieren, stets mit negativem Erfolge. Auch entmilzte Affen, welche, wie wir weiter sehen werden, ihren eigenen Plasmodien gegenüber widerstandsunfähiger geworden, erwiesen sich den Plasmodien der menschlichen Malaria gegenüber als refraktär.

Die Pathogenität des *Plasmodium kochi* für die Affen scheint unter gewöhnlichen Umständen sehr gering zu sein. Auch eine starke Infektion, die bei Ueberimpfung durch Injektion infizierten Blutes nach einer Inkubationszeit von durchschnittlich 10—12 Tagen eintrat, schien die Affen nicht wesentlich zu schädigen, sie litten nicht in der Ernährung und ihre Spiellust ließ nicht nach. Die Parasiten bleiben bei diesen Tieren nur 4—5 Tage in ihrer Höchstzahl im Blut und verschwinden dann rasch im Verlaufe weniger Tage aus der Blutbahn; nur die Gametocyten machen davon eine Ausnahme, sie sind, wenn auch meist nur sehr spärlich, noch längere Zeit nachweisbar. Daß die Parasiten aber auch bei völlig negativem Blutbefund weiter im Körper vorhanden sind, ist daran ersichtlich, daß sie bei absichtlicher Schädigung des Tieres durch kalte Duschen oder Einspritzung von Pferdeserum sofort wieder im Blut auftreten und daß man mit der exstirpierten Milz solcher Affen sehr gut andere Affen infizieren kann. Die Parasiten halten sich also in inneren Organen, die Negativität des Blutbefundes ist kein Zeichen von Immunität. Immerhin beweist das Wiederauftreten der Parasiten im Blut nach Schädigung des Versuchstieres eine gewisse Pathogenität des *Plasmodium kochi*.

Bei malariakranken Affen konnte eine Abweichung vom Temperaturkurvenverlauf eines normalen Affen nicht konstatiert werden. Auch unter normalen Verhältnissen wechselte bei unseren Versuchsaaffen die Temperatur täglich und stündlich in sehr unregelmäßiger Weise und beim Vergleich der Temperaturkurven normaler und infizierter Affen

erwies sich die Temperatur der ersteren gelegentlich sogar als höher. Die durchschnittliche Temperatur während 14 Tagen betrug bei einem freien Affen 38,4°, bei einem infizierten 37,3°.

Alle diese Verhältnisse änderten sich nach und nach durch die Entmilzung. Es sei erwähnt, daß bei den Affen, die jede Narkose schlecht vertragen, die Exstirpation der Milz unter Schleichscher Lokalanästhesie sehr leicht auszuführen ist und daß die Wunde sehr gut und per primam heilt, wenn man die Tiere durch ein von den Achselhöhlen bis zu den Darmbeinkämmen reichendes Gipskorsett verhindert, mit den Fingern den Verband in Unordnung zu bringen.

Die Entmilzung erhöht die Pathogenität des *Plasmodium kochi* sehr deutlich. Das kam in erster Linie in der Temperaturkurve zum Ausdruck, welche naturgemäß die Erhebungen des Tertiantypus zeigte; es war eine deutliche Erhebung der Temperatur am 1., 3., 5. und 7. Tag, also stets nach Ablauf von 48 Stunden wie bei *Plasmodium vivax* zu erkennen. Ferner hatte die Entmilzung zur Folge: 1) eine Ueberschwemmung des Blutes mit Parasiten, 2) das Auftreten von Degenerationsformen im Blut, 3) ein Verbleiben der Parasiten im Blut während einer langen Reihe von Monaten. Dies Ergebnis steht in Parallele mit einer Beobachtung von Saigol, welcher einen überaus schweren tödlichen Verlauf der Malaria bei einem Menschen mit *Agenesia lienis congenita* beschrieb. Auch er sah eine Ueberschwemmung des Blutes mit Parasiten und beobachtete Degenerationsformen.

Die genannten Umstände, besonders das Verbleiben der Parasiten im Blut während einer Zeit von 9—11 Monaten, sind die gleichen, ob man nun einen malariefreien Affen splenektomiert und dann infiziert, oder ob man einen Affen mit latenter Infektion splenektomiert; stets treten die Parasiten nach einigen Tagen im Blute auf, vermehren sich enorm und bleiben so lange sichtbar, bis wahrscheinlich das Tier aus Lymphdrüsen neue Milzen gebildet hat. Da wir die Mehrzahl unserer Affen später an Tuberkulose verloren, konnten histologische Untersuchungen in dieser Richtung nicht ausgeführt werden. Indessen sind auch diese Affen noch Parasitenträger, auch bei ihnen kann man durch die oben genannten schädigenden Mittel die Parasiten zeitweise zum Wiedererscheinen bringen.

Die gleiche Wirkung der Entmilzung konnten wir bei einem mit *Babesia canis* infizierten Hunde beobachten, welcher die Krankheit überstanden hatte und diejenige Immunität besaß, die bei *Babesia* erreicht wird. Die Entfernung der Milz hatte zur Folge, daß die Babesien prompt im Blut wieder erschienen — steril war der Hund also nicht gewesen — und nun monatelang in seinem zirkulierenden Blut sichtbar blieben, so daß jederzeit neue Hunde von ihm infiziert werden konnten, wir also zur Erhaltung des *Babesia*-Stammes nur dieses einen Tieres benötigten. Der Wert dieser Tatsache für die Laboratoriumspraxis ist ohne weiteres klar.

Geht aus diesen Versuchen die Wichtigkeit der Milz als Abwehrorgan bei der Malariainfektion, sagen wir, ohne über die feineren Vorgänge etwas präsumieren zu wollen, als eines Filters deutlich hervor, so fällt damit gleichzeitig Licht auf die bekannte klinische Tatsache, daß bei besonders schwer verlaufender Malariainfektion der Milztumor vermißt wird.

Um nun noch kurz auf den Ausgangspunkt unserer Untersuchungen zurückzugehen, muß hier erwähnt werden, daß wir die entmilzten Affen in angemessenen Zwischenräumen mit steigenden Chinindosen (Urethan-chinin) subkutan gespritzt haben, und zwar bis zu Dosen von 0,5 g Chinin. muriaticum. Regelmäßig sind nach diesen Injektionen die Parasiten für mehrere Tage verschwunden; durch mehrere rasch nacheinander folgende kleinere Dosen gelang es sogar, Tiere vollständig auszuheilen, so daß sie neu infiziert werden mußten. Niemals ist jedoch bei den stärksten Dosen Chinin Hämoglobinurie eingetreten, wohl aber haben wir mehrfach bei stärkeren Dosen Eiweißausscheidung im Harn und einmal Abgang blutigen Stuhls beobachtet. Ganz besonders rasch schienen die Degenerationsformen der Chininwirkung zu unterliegen; es steht dies im Gegensatz zu den Angaben Saigols, der in seinem Fall jede Chininwirkung vermißte.

Fassen wir die positiven Ergebnisse unserer Versuche nochmals kurz zusammen, so ergibt sich folgendes:

1) Unsere Versuche, ebenso wie die Ergebnisse von Joannowicz, lassen es als sehr wahrscheinlich erscheinen, daß das Eintreten von Schwarzwasserfieber an das Vorhandensein der Milz gebunden ist.

2) Das Plasmodium kochi kann auf Menschen nicht übertragen werden, ebensowenig können die Plasmodien des Menschen auf Affen übertragen werden.

3) Die Entwicklungsdauer von einer Schizogonie bis zur folgenden beträgt bei Plasmodium kochi 48 Stunden.

4) Durch Splenektomie beim Versuchstier bekommt das Plasmodium kochi eine unter normalen Verhältnissen nicht ersichtliche Pathogenität, welche sich im Hervortreten einer deutlichen Temperaturkurve, in der Ueberschwemmung des Blutes mit Parasiten und ihrem Verbleiben in demselben für viele Monate äußert.

5) Den letzteren Effekt hat auch die Entmilzung bei einem mit Babesia canis latent infizierten Hunde.

6) Eine deutliche Chininwirkung auf Plasmodium kochi ist vorhanden.

Nachdruck verboten.

Zur Lehre von der Toxiinfektion.

[Aus der medizinischen Klinik der Medizinischen Hochschule für Frauen in St. Petersburg. Direktor: Prof. Dr. A. M. v. Lewin.]

Von Dr. Marie Scheremezinsky.

I.

In der Pathologie der Infektionskrankheiten sind die Fragen von der Empfänglichkeit und Unempfänglichkeit, von Immunität und Disposition untrennbar verbunden. Alles, was die Immunität verstärkt, vermindert die Disposition, und umgekehrt. Das Studium dieser beiden Erscheinungen hat aber bei weitem nicht in gleichem Maße die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt. Während die natürliche und ganz besonders die künstliche Immunität allseitig erforscht wird, ist die pathologische Physiologie der Disposition verhältnismäßig viel weniger studiert worden.

Jede Infektion setzt eine Störung der Immunität voraus, sei es einer sehr schwachen oder einer sehr stabilen, wobei in vielen Fällen der Organismus erst unter dem Einflusse der Bakterientoxine für die betreffenden Bakterien empfänglich wird. In diesen Fällen geht der Infektion eigentlich eine Intoxikation voraus, welche die Disposition dazu schafft. Eine solche disponierende Intoxikation kann aber nicht nur durch Bakterientoxine gesetzt werden, und wird auch in Wirklichkeit höchst wahrscheinlich nicht selten auch durch Gifte von nicht bakterieller Herkunft gesetzt. Dieser Umstand erlaubt uns, dieses toxische Anfangsstadium der Infektion einem experimentellen Studium zu unterziehen. Versuche in dieser Richtung haben auch schon manche wertvolle Ergebnisse geliefert.

Leo zeigte schon vor 20 Jahren, daß die Vergiftung mit Phloridzin die Disposition der Ratten für Milzbrand, welche gewöhnlich sehr gering ist, bedeutend zu steigern vermag. Noch eklatanter ist die Wirkung des Phloridzins auf die Disposition der weißen Mäuse für Rotz. Im Gegensatz zu grauen Mäusen sind die weißen gegen Rotz vollständig immun (Disposition = 0); nach Fütterung mit Phloridzin verschwindet diese natürliche Immunität gänzlich. Leo bringt diese Zerstörung der Immunität durch Phloridzin mit der Phloridzinglykosurie in Zusammenhang. Da sonstige Giftwirkungen des Phloridzins unbekannt sind, so ist diese Ansicht sehr wahrscheinlich.

Vaillard und Vincent haben weiter gezeigt, daß Tetanussporen, die gewöhnlich in den tierischen Geweben sehr spärlich auskeimen und nur durch mitübertragenes Tetanustoxin schädlich wirken, reichlich auskeimen und sich vermehren, wenn kleine Mengen von Milchsäure oder Trime-thylamin gleichzeitig mit ihnen eingeführt werden.

Nach Di Mattei kann die Einatmung mancher giftiger Gase (Kohlenoxyd, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Schwefelkohlenstoffdampf) die Immunität der Tauben gegen *Pneumococcus Fränkel* sowie gegen Milzbrand und Rauschbrand vernichten.

Die Wirkung der Gifte, mit denen die genannten Forscher experimentiert hatten, ist aber zu diffus und vielseitig, um mit deren Hilfe die Erscheinung der Disposition einer experimentellen Analyse zu-

gänglich zu machen. Dasselbe gilt auch vom Alkohol, unter dessen akuter und chronischer Wirkung Laitinen und Goldberg eine Steigerung der Disposition für Milzbrand bei Hunden, Tauben und Hühnern beobachten konnten.

Platania hat seine Aufmerksamkeit Giften mit mehr isolierter Wirkung, den Narcoticis, zugewendet. Chloroform machte Hunde für Milzbrand empfänglich. Chloral besitzt, nach Innocente und Zagari, keine solche Wirkung. Später fanden Klein und Coxwell ebenfalls, daß Chloroform-Aether-Narkose weiße Ratten und sogar Frösche gegen Milzbrandbacillen, und zwar nur gegen diese allein, empfänglich mache; die Empfänglichkeit anderen Bakterien gegenüber wird durch diese Narkose nicht gesteigert. Der Mechanismus dieser disponierenden Wirkung des Chloroforms ist unklar; jedenfalls ist sie nicht durch Verminderung der bakteriziden Eigenschaften des Blutes zu erklären (E. S. London).

An bestehender Immunität nehmen alle Zellen des Organismus, alle Gewebe und Organe in verschiedenem Maße teil. Ebenso kompliziert ist wahrscheinlich der Prozeß der Immunitätsstörung und der Dispositionsschaffung; es sind wahrscheinlich dabei ebenfalls die verschiedensten Organe und Gewebe in verschiedenem Maße beteiligt. Zum Studium von deren relativer Bedeutung ist es also wichtig, auch die disponierende Intoxikation möglichst auf bestimmte Organe resp. Gewebe beschränken zu können.

Die Gruppe der sogenannten Blutgifte ergibt eine bequeme Handhabung zum experimentellen Studium der toxischen Einwirkung auf das Blut als disponierenden Momentes für die Infektion. In dieser Gruppe begegnen wir einerseits Substanzen, welche die roten Blutkörperchen mit oder ohne Methämoglobinbildung zerstören, andererseits Substanzen, welche die weißen Blutkörperchen vermehren oder vermindern, wobei in anderen Organen und Geweben entweder gar keine, oder nur sekundäre Veränderungen entstehen.

Indem ich, auf Anregung von Prof. A. M. v. Lewin, an die Untersuchung der Wirkung der toxischen Blutzerstörung auf die Disposition herantrat, mußte ich zunächst die Tatsache beachten, daß die natürliche Immunität den Organismus nicht nur vor der exogenen Infektion, sondern auch vor der Autoinfektion durch Bakterien, welche die Körperhöhlen bewohnen und sicherlich ab und zu in die Gewebe und ins Blut hineingelangen, schütze. Dementsprechend zerfallen meine Versuche in zwei Serien: In der einen suchte ich das Blut zu schädigen und dann zu untersuchen, ob eine Autoinfektion eingetreten sei oder nicht. In der anderen Versuchsreihe suchte ich, nach Schädigung des Blutes, eine exogene Infektion mit Bakterien herbeizuführen, für welche der betreffende Organismus in normalem Zustande gar keine Disposition (natürliche Immunität) zeigte.

Aus der Gruppe der Blutgifte wählten wir, als das für unsere Zwecke bequemste, das Hydroxylamin (NH_2HO) als Chlorid. In großen Gaben tötet das Hydroxylamin jede Art von Protoplasma ab; in kleinen Gaben zerstört es vor allem die roten Blutkörperchen, indem es zugleich das Hämoglobin zu Methämoglobin reduziert und selbst zu HNO_2 oxydiert wird ($\text{NH}_2\text{HO} + \text{O}_2 = \text{HNO}_2 + \text{H}_2\text{O}$). Im Harn erscheint dabei Allantoin¹⁾. Subkutane Einspritzung von 1 ccm einer 1-proz. wässrigen

1) Kobert, Intoxikationen. 2. Aufl. Bd. 2. p. 784.

Lösung von Hydroxylaminchlorid vermindert gewöhnlich schon nach 24 Stunden die Zahl der roten Blutkörperchen ungefähr um 1 Million pro Kubikmillimeter.

Ich führe einige typische Versuche aus dieser Serie an:

I. Kaninchen, 1145 g, rote Blutkörperchen 5 000 000, Hämoglobin 13,6 (nach Fleischl-Miescher). 17. Nov. 0,01 Hydroxylamin subkutan eingeführt. 18. und 19. Nov. wurden die Einspritzungen wiederholt. Einige Stunden nach der 3. Einspritzung ergab die Blutkörperchenzählung 2 500 000, Hämoglobin 5,44. 20. Nov. noch 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. Einige Stunden später rote Blutkörperchen 1 500 000, Hämoglobin 3,5. Das Tier ist ganz schwach, liegt unbeweglich, nimmt keine Nahrung. 21. Nov. getötet. Starke Milz- und Leberschwellung, beide Organe dunkelbraun. Gallenblase von Galle überfüllt. Harn etwas blutig. Keine subpleurale und subperitoneale Blutungen. Größere Blutungen in den Nieren. Mikroskopisch auf Schnitten aus der Leber und der Milz viele zerstörte rote Blutkörperchen; in den Nieren außerdem zahlreiche Nekroseherde. Aus dem Herzblute sowie aus dem Gewebssaft der Leber und der Milz wurden Plattenkulturen auf Agar in Petri-Schalen angelegt. Schon bei einfacher mikroskopischer Durchmusterung der gefärbten Deckglaspräparate aus den genannten Organen waren nach Gram gefärbte Kokken darin zu sehen. Auf Agarplatten wuchsen nach 24 Stunden ziemlich zahlreiche, völlig uniforme Kolonien, die aus Kokken bestanden, welche auf schiefem Agar eine saftige, weiße Auflagerung bildeten, sich nach Gram färbten und die Gelatine verflüssigten. Ein Paar Tropfen einer Bouillonkultur, Mäusen subkutan beigebracht, erzeugten lokale Abscesse; einige Mäuse gingen sogar ein. Durch alle diese Eigenschaften wird dieser Mikroorganismus als *Staphylococcus albus* hinreichend charakterisiert.

II. Kaninchen von 1680 g, rote Blutkörperchen 5 000 000, Hämoglobin 12,5. 26. Nov. 1,5 ccm einer 1-proz. Lösung von Hydroxylamin subkutan eingespritzt. 27. Nov. rote Blutkörperchen 4 000 000, Hämoglobin 9,2. An demselben Tage erhält das Tier noch 1,5 ccm derselben Lösung und am nächsten Tage ebensoviel. 29. Nov. rote Blutkörperchen 1 800 000, Hämoglobin 6,0. 30. Nov. Tod. Bei der sofortigen Autopsie zahlreiche subseröse Blutungen am Magen, Darin und an den Lungen. Harn blutig. Gallenblase von sehr dicker Galle überfüllt. Leber und Milz vergrößert; letztere sehr dunkel, fast schwarz. Mikroskopische Veränderungen dieselben, wie im vorigen Fall. Bei der Aussaat in Petri-Schalen wuchs aus allen Organen ebenfalls der weiße *Staphylococcus*.

III. Kaninchen von 1070 g, rote Blutkörperchen 5 470 000, Hämoglobin 13,6. 21. Nov. erhält das Tier 0,01 Hydroxylamin subkutan. 22. Nov. rote Blutkörperchen 4 030 000, Hämoglobin 8,84. Nochmals 0,01 Hydroxylamin eingespritzt und am nächsten Tage ebensoviel. 24. Nov. wurde das Tier getötet. Die Autopsie bot dasselbe Bild, wie in beiden vorigen Fällen. Bei der Aussaat aus allen Organen wuchs der weiße *Staphylococcus*.

IV. Kaninchen von 1350 g, rote Blutkörperchen 4 700 000, Hämoglobin 13,3. 3. Dez. 0,01 Hydroxylamin subkutan eingespritzt. 4. Dez. ebensoviel. Rote Blutkörperchen 3 800 000, Hämoglobin 9,25. 5. Dez. nochmals 0,01 Hydroxylamin. 6. Dez. getötet. Bei der Autopsie unbedeutende subseröse Blutungen im Magen. Milz geschwollen, rotbraun; in der Harnblase blutiger Harn. Bei der Aussaat aus dem Herzblute, der Leber und der Milz wuchs der weiße *Staphylococcus*.

V. Kaninchen von 1000 g, rote Blutkörperchen 4 800 000, Hämoglobin 12,45. 5. und 6. Dez. erhält das Tier je 0,01 Hydroxylamin subkutan. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 3 200 000, Hämoglobin 9,5. 7. Dez. nochmals 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. 8. Dez. wurde das Tier getötet. Das Ergebnis der Autopsie und der bakteriologischen Untersuchung war ganz dasselbe, wie im vorigen Fall.

VI. Kaninchen von 1900 g, rote Blutkörperchen 5 900 000, Hämoglobin 13,5. 11. und 12. Dez. je 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 4 600 000, Hämoglobin 9,25. 13. Dez. noch 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. 14. Dez. Tier getötet. Autopsie und bakteriologische Untersuchung genau wie im vorigen Fall.

VII. Kaninchen von 1150 g, rote Blutkörperchen 5 200 000, Hämoglobin 13,25. 13. und 14. Dez. je 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 4 100 000, Hämoglobin 8,4. 15. Dez. Tier getötet. Autopsie und bakteriologische Untersuchung wie oben.

VIII. Kaninchen von 1700 g, rote Blutkörperchen 4 980 000, Hämoglobin 11,47. 14. und 15. Dez. je 0,01 Hydroxylamin. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 3 200 000, Hämoglobin 8,4. 16. Dez. Tier getötet. Autopsie und Aussaat wie oben.

II.

Eine andere Versuchsreihe diente dazu, um die Bedeutung der Blut-erkrankung für die Schwächung der natürlichen Immunität zu studieren. Es wurde versucht, durch Blutschädigung die Tiere für solche Mikroorganismen empfänglich zu machen, gegen welche sie in normalem Zustande völlig immun sind. Als Versuchstiere dienten ebenfalls Kaninchen. Die Schädigung des Blutes wurde vermitteltst Hydroxylamin bewerkstelligt. Als pathogener Mikroorganismus wurde der Friedländersche *Pneumobacillus* gewählt, gegen welchen das ausgewachsene Kaninchen als völlig immun betrachtet werden kann. Der Gang der Versuche ist aus folgenden typischen Beispielen zu ersehen:

I. Kaninchen von 1780 g, rote Blutkörperchen 5 300 000, Hämoglobin 13,8. 1. und 2. Jan. wurde je 0,015 Hydroxylamin subkutan eingespritzt. Unmittelbar nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 4 300 000, Hämoglobin 9,0. 3. Jan. wurde dem Tier eine Bouillonkultur des Friedländerschen *Pneumobacillus* in die Marginalvene des Ohres eingespritzt (eine Platinöse der eintägigen Bouillonkultur in 1 ccm sterilisierter physiologischer Salzlösung zerteilt). Nach 24 Stunden wurde das Tier getötet. Bei der Autopsie wurden dieselben durch das Hydroxylamin bedingten Veränderungen gefunden, die schon bei früheren Versuchen erwähnt worden sind, irgendwelche besondere Veränderungen, die vom *Pneumobacillus* abhängen könnten, waren nicht zu sehen. Bei der Aussaat aus dem Herzblute, der Leber und der Milz wuchsen in allen Schalen zahlreiche Kolonien, welche, nachdem sie abgeimpft und genauer bakteriologisch untersucht worden, alle charakteristischen Merkmale des Friedländerschen *Pneumobacillus* darboten. Auf Deckglaspräparaten aus allen Organen waren große Mengen derselben Bakterien zu sehen; bei zweckentsprechender Färbung war auch die Kapsel deutlich bemerkbar. Weder auf den Deckglaspräparaten noch kulturell waren irgendwelche andere Bakterien zu konstatieren.

Selbstverständlich wurde gleichzeitig ein Kontrollversuch angestellt, indem einem Kaninchen von annähernd gleichem Körpergewicht dieselbe Menge derselben Kultur, aber ohne vorherige Schädigung des Blutes, subkutan eingespritzt wurde. Das Tier wurde gleichzeitig mit dem obigen getötet, doch waren weder auf Deckglaspräparaten, noch auf den aus dem Herzblute und den Organen angelegten Petri-Schalen irgendwelche Bakterien gewachsen. Andere Kontrollversuche zeigten, daß auch bei längerer Versuchsdauer (bis 2 Wochen) bei den ohne Blutzerstörung infizierten Kaninchen weder klinische, noch anatomisch und bakteriologisch eine *Pneumobacillus*infektion nachzuweisen war.

II. Kaninchen von 1500 g, rote Blutkörperchen 5 250 000, Hämoglobin 12,6. 1. Jan. und 2. Jan. je 0,015 Hydroxylamin subkutan eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 4 000 000, Hämoglobin 8,5. 3. Jan. wurde das Tier genau so wie im Versuche I mit dem Friedländerschen *Pneumobacillus* infiziert. Nach 24 Stunden ging das Tier ein; bei der Autopsie waren nur die dem Hydroxylamin eigentümlichen Veränderungen zu sehen. Auf Deckglaspräparaten große Mengen der Friedländerschen Bacillen; die Aussaat aus dem Herzblute und aus den Organen auf Agarschalen ergab reichliche Kolonien desselben Bacillus.

Ein Kontrollversuch zeigte, daß der Tod des Tieres wirklich durch die Toxininfektion und nicht durch die Intoxikation allein bedingt worden war; denn ein Kaninchen von demselben Körpergewicht (1450 g), welches an demselben Tage, wie das vorige, die gleiche Menge Hydroxylamin bekommen hatte, zeigte zwar eine noch stärkere Schädigung des Blutes (vor der ersten Einspritzung 5 000 500 rote Blutkörperchen und 12,3 Hämoglobin; nach der zweiten 3 900 600 rote Blutkörperchen und 8,2 Hämoglobin), blieb aber leben.

III. Kaninchen von 2540 g, rote Blutkörperchen 5 250 000, Hämoglobin 13,9. 6. und 7. Jan. wurde je 0,025 Hydroxylamin eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 4 100 000, Hämoglobin 11,2. 8. Jan. um 10 Uhr morgens intravenöse Infektion mit der gleichen Dosis des *Pneumobacillus*, wie im vorigen Versuch. Um 8 Uhr abends ging das Tier ein. (Ein Kontrollkaninchen von demselben Körpergewicht — 2500 g vertrug dieselbe Menge Hydroxylamin ohne Schaden.) Bei der Autopsie die gewöhnlichen Hydroxylaminveränderungen. Auf Deckglaspräparaten, sowie in der Aussaat aus dem Blute und den Organen zahlreiche *Pneumobacillen*.

IV. Kaninchen von 2290 g, rote Blutkörperchen 5 100 000, Hämoglobin 13,25. 22. und 23. Jan. je 0,02 Hydroxylamin eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 3 200 000, Hämoglobin 7,25. 24. Jan. intravenöse Infektion genau so

wie im vorigen Versuch. 27. Jan. wurde das Tier getötet. Bei der Autopsie geringfügige subpleurale und subperitoneale Blutungen. Die Milz vergrößert und erweicht, sehr dunkel; Harn blutig. Auf der Pleura frische Fibrinauflagerungen. In den Lungen mehrere luftleere Herde entzündlicher Infiltration. Im Pericardium reichliche trübe Flüssigkeit. Auf Deckglaspräparaten, sowie in der Aussaat aus dem Herzblute und aus den Organen zahlreiche Pneumobacillen.

V. Kaninchen von 1172 g, rote Blutkörperchen 5100000, Hämoglobin 12,3. 22. und 23. Jan. je 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 3800000. Hämoglobin 8,75. 24. Jan. intravenös mit Pneumobacillus wie üblich infiziert. 25. Jan. spontan verendet.

VI. Kaninchen von 1200 g, rote Blutkörperchen 4800000, Hämoglobin 12,25. 22. und 23. Jan. je 0,01 Hydroxylamin eingespritzt. Nach der 2. Einspritzung rote Blutkörperchen 3700000, Hämoglobin 7,4. 21. Jan. mit einer Oese einer 24-stündigen Bouillonkultur des Pneumobacillus, wie oben infiziert. Nach 12 Stunden spontan verendet.

Das Ergebnis der sofortigen Autopsie und der bakteriologischen Untersuchung in beiden letzten Versuchen stimmte mit demjenigen in allen früheren Versuchen dieser Serie vollkommen überein.

Spezielle Versuche zeigten, daß, wenn die Schädigung des Blutes durch Hydroxylamin 24 Stunden nach der Einspritzung des Pneumobacillus beginnt, eine Infektion des Organismus mit Pneumobacillen nicht mehr stattfindet, offenbar weil bis zu dieser Frist die eingespritzten Pneumobacillen schon abgestorben sind und sich nicht mehr vermehren können.

VII. Kaninchen von 1500 g. 2. Febr. die übliche Menge der Pneumobacillen intravenös eingespritzt. 3. und 4. Febr. je 0,015 Hydroxylamin eingespritzt, 6. Febr. wurde das Tier, welches keinerlei krankhafte Erscheinungen darbot, getötet. Auf Deckglaspräparaten aus dem Herzblute und den Organen waren keine Mikroorganismen zu sehen. Bei der Aussaat desselben Materials wuchsen in allen Agarschalen nur spärliche Kolonien des weißen Staphylococcus, ganz wie in den Versuchen der ersten Serie.

III.

Die Einwirkung toxischer Veränderungen des Blutes auf die natürliche Immunität ist bisher wenig studiert worden.

Mya und Sanarelli stellten ihre Versuche analog den unserigen an. Sie vergifteten Tiere mit Acetylphenylhydrazin, welches ebenfalls ein Blutgift ist, und infizierten sie darauf mit Milzbrandbacillen und Pneumococcus. Auch sie fanden, daß die Zerstörung roter Blutkörperchen die relative natürliche Immunität, z. B. der Tauben und Ratten gegen Milzbrand, vermindert, wie es übrigens auch für andere schwächende Einflüsse (Aderlaß, Ermüdung, Inanition) erwiesen ist. Die absolute natürliche Immunität (z. B. der Meerschweinchen gegen Pneumococcus) zu zerstören, gelang ihnen nicht.

In den Versuchen Martels wurde die ziemlich bedeutende (doch nicht absolute) natürliche Immunität der Hunde gegen Milzbrandbacillen deutlich herabgesetzt unter der Wirkung von Pyrogallol, welches bekanntlich ebenfalls zur Gruppe der Blutgifte gehört und die roten Blutkörperchen ziemlich energisch zerstört. Leider ist aus der Martelschen Arbeit nicht zu ersehen, bis zu welchem Grade der Zerstörung des Blutes man gehen mußte, um dieses Resultat zu erreichen.

Enderlen untersuchte in vitro die bakterizide Wirkung des Hundebutes den Typhusbacillen gegenüber nach Zerstörung der roten Blutkörperchen mit Toluyldiamin, und fand, daß auch bei sehr weitgehender Zerstörung der roten Blutkörperchen die bakteriziden Eigenschaften eines solchen Blutes keinen Abbruch erleiden. Es ist aber kaum zu bezweifeln, daß die natürliche Immunität nicht ausschließlich von den bakteriziden Eigenschaften des Blutes abhängig ist; es ist also leicht verständlich, daß die Zerstörung der roten Blutkörperchen die relative natürliche Immunität herabsetzen oder — wie es in unseren Versuchen

geschah — auch die absolute vernichten kann, ohne die bakteriziden Eigenschaften des Blutes zu verringern.

Dasselbe gilt auch von den Untersuchungen von Bentivegna und Carini, welche zeigten, daß Vergiftungen mit Arsenik, Sublimat, Jod, welche toxische Leukocytose hervorrufen, die bakteriziden Eigenschaften des Blutes steigern. Denn da die letzteren, wie gesagt, nicht die Ursache der natürlichen Immunität sind, kann weder die Vermehrung noch die Verringerung der Leukocyten, soweit sie nur auf die bakteriziden Eigenschaften des Blutes wirkt, irgendeinen Einfluß auf die Immunität ausüben. Da aber die Schwankungen der Leukocytenzahl höchst wahrscheinlich durchaus nicht die bakteriziden Eigenschaften des Blutes allein beeinflussen, so ist es wohl möglich, daß sie auch zur natürlichen Immunität in einer gewissen Beziehung stehen. Eine experimentelle Untersuchung der Einwirkung der toxischen Hyper- und Hypoleukocytose auf die natürliche Immunität wäre demnach sehr erwünscht.

Indem wir die Untersuchungen der oben angeführten Autoren mit den unserigen verknüpfen, glauben wir uns zu folgenden Annahmen berechtigt:

Schädigungen der roten Blutkörperchen führt mit großer Leichtigkeit und Regelmäßigkeit zur Autoinfektion des Organismus. In unseren Versuchen an Kaninchen war diese Autoinfektion immer durch den weißen *Staphylococcus* verursacht. Damit ist aber natürlich noch nicht gesagt, daß auch beim Menschen, bei akuten Anämieen die Autoinfektion immer, oder auch nur meistens, durch diesen Mikroorganismus verursacht wird; es ist sehr wahrscheinlich, daß beim Menschen das häufigste Agens der Autoinfektion irgendein anderer Mikroorganismus, z. B. der *Kolibacillus*, ist. Die Autoinfektion mit dem weißen *Staphylococcus* scheint gewöhnlich keine tiefere Erkrankung nach sich zu ziehen, vielleicht deshalb, weil sie eben eine Autoinfektion ist, d. h. weil es sich um eine Infektion mit einem Mikroorganismus handelt, der als altgewohnter Bewohner des Körpers seine meiste Virulenz für das betreffende Individuum eingebüßt hat. Die Schädigung der roten Blutkörperchen eröffnet offenbar in diesem Falle dem Mikroorganismus, resp. den Mikroorganismen auf irgendeine Weise den Eintritt in das Blutgefäßsystem, ermöglicht ihnen das Leben und eine gewisse Vermehrung im Blut, vermag aber nicht deren abgeschwächte Virulenz zu steigern¹⁾.

Ferner untergräbt die Schädigung der roten Blutkörperchen die natürliche Immunität, und zwar nicht nur die relative, sondern auch die absolute, wie es die Immunität des Kaninchens gegen den Friedländerschen *Pneumobacillus* ist; es entsteht dabei eine oft tödliche Septikämie, manchmal mit Pleuritis und Pneumonie. Es genügt dazu unter Umständen eine verhältnismäßig nicht sehr bedeutende Läsion des Blutes, wie z. B. eine Verminderung der Zahl der roten Blutkörperchen um 25—20 Proz., sowie eine ebenso starke Abnahme des Hämoglobins. Es ist aber zu berücksichtigen, daß es sich hier um sehr akut entstehende Anämieen handelt, welche dem Organismus keine Zeit lassen, sich an die Veränderung des Blutes anzupassen.

1) Dasselbe gilt offenbar für die Autoinfektionen, welche bei experimentellem aseptischen Fieber beobachtet werden. S. Vera Barankejeff, *Zeitschr. f. klin. Med.* Bd. 68.

Ohne diese experimentellen Tatsachen auf die klinische Pathologie des Menschen vorschnell übertragen zu wollen, müssen wir dennoch bemerken, daß die große Leichtigkeit, mit der die Autoinfektion bei experimentellen Anämien eintritt, ein gewisses Licht auf diejenigen, meistens vorübergehenden, manchmal aber auch ziemlich andauernden Fieber wirft, welche nicht selten bei Chlorose, so wie bei der progressiven perniziösen Anämie beobachtet werden.

Literatur.

- Bentivegna und Carini, Lo Sperimentale. T. 54.
 Enderlen, Münch. med. Wochenschr. 1891. p. 235.
 Goldberg, Centralbl. f. Bakt. Abteil. I. Bd. 30. p. 696.
 Innocente und Zagari, Giorn. internaz. di scienz. med. 1892. p. 801. Zit. nach
 M. Hahn in Kolle und Wasserman, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 4. p. 307.
 Klein und Coxwell, Centralbl. f. Bak. Bd. 11. p. 464.
 Laitinen, Ztschr. f. Hyg. Bd. 34. p. 201.
 Leo, Ibid. Bd. 7. p. 505.
 London, E. S., Archiv. des scienc. biolog. de St. Pétersbourg. T. 7.
 Martel, Annal. Pasteur. 1900. p. 14.
 Mattei, Arch. f. Hyg. Bd. 10. p. 430.
 Mya und Sanarelli, Atti. R. Accad. di fisio-crit. di Siena. 1891. Zit nach Baumgartens Jahrb. Bd. 7. 1891. p. 517.

Nachdruck verboten.

Ueber die Reaktion der Leukocyten auf gewisse chemische Reize in der Haut und im Blute der weissen Maus.

(Aus dem Laboratorium der Königl. Militär-Veterinär-Akademie Berlin.
 Vorstand Oberstabsveterinär Tröster.)

Von **Richard Hock**,

Studierender der Königl. Militär-Veterinär-Akademie Berlin.

Metschnikoff war der erste, welcher den Gedanken von der intracellulären Verdauung, von der Phagocytose, aussprach und bewies. Derselbe stellte seinen Versuch so an, daß er Nahrungspartikelchen in in das Innere von Aktinien brachte. Er sah dann, daß solche feste Partikel, so wie sie in die Leibeshöhle des Versuchsobjektes hineingelangten, sofort von feinen Filamenten ergriffen wurden, mit welchen die Wandungen des Cöloms austapeziert sind. Kurz darauf fingen die Epithelzellen dieser Filamente an, Protoplasmafortsätze (Pseudopodien) auszustrecken, mit denen sie die Nahrung umgriffen und nach und nach sich vollständig einverleibten (Kraus und Levaditi, 7). Hieraus zog Metschnikoff den Schluß, daß die Dinge bei den Vertebraten ebenso liegen müßten wie bei niederen Tieren, und daß der Grund für die Heilung von Infektionen in der Aufnahme der Krankheitserreger in die Phagocyten, die in das betroffene Organ geeilt sind, und ihrer intraprotoplasmatischen Verdauung und Vernichtung innerhalb dieser Freßzellen zu suchen sei.

Leber hat die Chemotaxe in das Gebiet der Entzündung und Phagocytose eingeführt. „Er wies als erster nach, daß die jede Entzündung begleitende Diapedese der weißen Blutkörperchen auch durch andere Körper als Bakterien hervorgerufen wird, beispielsweise durch lösliche

Kupfer- und Quecksilbersalze. Ferner injizierte er abgetötete Staphylokokkenkulturen in die vordere Augenkammer, und stellte fest, daß auch unter diesen Umständen große Mengen von Leukocyten sich daselbst ansammelten“ (Kraus und Levaditi).

Um zu sehen, wie die Leukocyten noch auf andere chemische Reize reagieren, habe ich meine Versuche angestellt, und zwar verwende ich dazu saure, neutrale und alkalische Reagentien.

Metschnikoff teilt die Phagocyten nach zweierlei Gesichtspunkten ein; erstens nach ihrem morphologischen und funktionellen Verhalten; zweitens nach ihren Beziehungen zu dem umgebenden Gewebe. Von diesem letzteren Gesichtspunkte aus ist eine scharfe Trennung zu machen zwischen mobilen, frei sich bewegendenden Phagocyten und stabilen, fixen, an bestimmte Gewebe und Organe gebundenen. Zu den ersten gehören die Blut- und Lymphleukocyten, ohne daß freilich alle weißen Blut- und Lymphzellen als Freßzellen fungieren könnten und müßten.

Vom Standpunkte Metschnikoffs ist die Existenz resp. Verbreitung und Bedeutung fixer Phagocyten im Organismus doch beschränkt; den Hauptanteil an phagocytären Aeußerungen beanspruchen Wanderzellen.

Ferner unterscheidet Metschnikoff noch zwischen Mikrophagen und Makrophagen. Den Makrophagen obliege die Vernichtung von Zellen und Zelltrümmern, während die Mikrophagen hauptsächlich Bakterien gegenüber ihre Tätigkeit entfalten, ein Gesetz, das in den weitesten Grenzen gültig sei.

Kraus und Levaditi folgern, daß die Wanderzellen für die Immunität resp. die Abwehrbestrebungen des Körpers eine ungleich größere Bedeutung haben, als die fixen Phagocyten. „Denn die ersteren sind es, die an der Eintrittspforte einer Schädlichkeit in so überraschender Menge auftreten und bei der Entzündung mitwirken; sie liefern das Material für die mannigfachen im Verlauf von Infektionskrankheiten auftretenden Leukocytosen.“

Ich halte mich in meinen Ausführungen an die Ehrlichsche Einteilung der weißen Blutkörperchen, die hier kurz angegeben werden soll.

1. α -Granulation, massive Kugeln im Protoplasma, nur mit sauren Farbstoffen färbbar: oxy-, acido- oder eosinophil.
2. β -Granulation, saure und basische Farbstoffe: amphophil.
3. γ -Granulation, nur mit basischen Farbstoffen färbbar: basophil: Mastzellen, grob gekörnt.
4. δ -Granulation, ebenfalls basophil: feines Korn.
5. ϵ -Granulation, neutrale Farbstoffe: neutrophil [Grawitz (2)].

Reagieren nun bei der Einwirkung irgend eines chemischen Reizes, sei es, daß derselbe sich selbst sauer, alkalisch oder neutral verhält, alle diese Arten zugleich auf den Reiz, oder haben gewisse Reagentien ein spezifisches Anlockungsvermögen auf eine oder einzelne Arten der weißen Blutkörperchen? Einen Beweis, daß die Einwirkung eine spezifische sein muß, gibt uns der Rotzbacillus, der nur neutrophile Leukocyten um sich duldet. Warum sind ferner bei den sogenannten Sommerwunden der Pferde und bei tierischen Parasiten nur die eosinophilen Zellen im betroffenen Organismus vertreten?

Inwiefern Reagentien eine Affinität zu der einen oder zu der anderen Art haben, das zu ergründen, ist der Grundgedanke meiner Arbeit.

Als Versuchstier habe ich die weiße Maus gewählt.

Um zu Resultaten zu gelangen, habe ich chemische Reagentien dem Versuchstier in die Unterhaut gespritzt und zwar meistens in die Knie-

faltengegend. Dieser Ort eignet sich zu diesen Versuchen um so mehr, als er nicht nur leicht mit der Hohnadel zu erreichen ist, sondern auch in gesundem Zustande vollständig der weißen Blutkörperchen entbehrt, während in der Cutis Rundzellen (Lymphocyten), neutrophile und eosinophile Leukocyten, wenn auch nur in allerspärlichster Anzahl, anzutreffen sind.

Bevor ich jedoch das Reagens einspritzte, habe ich Blutzählungen vorgenommen, die sich aber nicht nur auf die Quantität der Leukocyten erstreckten, sondern auch das Zahlenverhältnis der einzelnen Arten im Auge hatten.

Die Zählung der weißen Blutkörperchen wurde mit dem Thoma-Zeiss'schen Zählapparat vorgenommen. Dem Versuchstier wurde ein Stück des Schwanzes abgeschnitten, um das hervorquellende Blut in die graduierte Mischpipette aufzusaugen, und zwar bis zum Teilstrich 0,5 oder 1,0. Alsdann wurde bis zum Teilstrich 11 0,5-proz. Essigsäure, vermischt mit etwas Safranin, um die Leukocyten sichtbarer zu machen, nachgesogen. Auf diese Weise hatte ich eine Verdünnung des Blutes von 1:10 resp. 1:20 erhalten. Nachdem das Gemisch kräftig durchgeschüttelt war, wurden einige Tropfen ausgeblasen, ein weiterer Tropfen wurde dann in die Zählkammer gebracht und mit dem dazu gehörigen Deckgläschen bedeckt. Alsdann brachte ich den Objektträger mit dem Blute auf den Objektisch des Mikroskops und ließ ihn einige Zeit stehen, damit sich die Blutkörperchen setzen konnten. Mit einem Trockensystem (DD-Zeiss) zählte ich dann jedesmal 1000 Felder. Die Rechnung

geschah dann folgendermaßen:
$$\frac{x \cdot 4000 \cdot 10 (20)}{1000} = n.$$

Um die prozentuellen Werte der einzelnen Leukocytenarten zu erhalten, stellte ich Ausstrichpräparate her. Ein absolut sauberes Deckgläschen, an dessen einem Rande ein Tropfen Blut aufgefangen war, wurde so auf einen sauberen Objektträger aufgesetzt, daß der spitze Winkel und die Blutseite des Deckgläschens der Hand zugekehrt waren. Alsdann schob ich das Deckgläschen in mäßig rascher Bewegung über den Objektisch hinweg und erhielt so gleichmäßig dünne Ausstriche.

Die so gewonnenen Präparate wurden nun gefärbt, und zwar nach Leishman oder Giemsa. Bei der ersten Färbemethode brachte ich auf das lufttrockene Präparat ungefähr 10 Tropfen der Farblösung, nach einer halben Minute setzte ich das Doppelte Aq. destill. hinzu, vermischte Farbstoff und Wasser etwas miteinander auf dem Objektträger und ließ dieses Gemisch 3 Minuten lang einwirken. Hierauf spülte ich den Objektträger mit Brunnenwasser ab und trocknete ihn mit Fließpapier.

Die zweite Färbung wurde nach der Scherischewski'schen Methode ausgeführt. Das lufttrockene, mit Alkohol-Aether fixierte Präparat wurde mit der Ausstrichseite nach unten auf eine Fornetsche Bank gelegt; dazu goß ich eine Farblösung in kochendem Zustand, die aus 36 Tropfen Farbe und aus 20 ccm einer 0,5-proz. wässerigen Glycerinlösung bestand. Nach 6 Minuten wurde das Präparat in gewöhnlichem Wasser abgespült und mit Fließpapier getrocknet.

Auf diese Weise erzielte ich schöne Färbungen. Um zu differenzieren, wurde zuweilen noch mit schwacher Essigsäure nachgespült.

Nach vollendeter Untersuchung des Blutes wurde dem Versuchstier das Reagens unter die Haut gespritzt. Falls das Tier nicht starb, wurden nach einem Tage nochmals dieselben Blutuntersuchungen vorgenommen. Alsdann wurde das Tier mit Chloroform getötet. Das Hautstück an

der Injektionsstelle wurde herausgeschnitten und in H. Stölzners Fixierungsflüssigkeit (4,5 Proz. Rohrzucker, gesättigte wässrige Sublimatlösung) gebracht, 24 Stunden darin belassen und dann in Jod-Alkohol gelegt, um die Quecksilberniederschläge zu entfernen. Nach 24-stündigem Aufenthalte in absolutem Alkohol wurde dieser mit Chloroform vertauscht; hierin blieb das Präparat so lange, bis es untersank. Schließlich brachte ich das Hautstück 2 Stunden in mehrmals gewechseltes Paraffin und bettete es in demselben Medium ein. Hierauf stellte ich auf dem Mikrotom 5—15 μ -Schnitte her, brachte dieselben auf warmes Wasser, fing sie mit Objektträgern auf und legte dieselben 24 Stunden in einen Brutschrank von 37° C. Nach dem Trocknen im Wärmeofen entfernte ich das Paraffin mit Xylol und dieses wieder mit Alkohol.

Zum Färben der Schnitte benutzte ich ebenfalls Giemsa-Lösung und verfuhr nach derselben Weise wie schon angegeben, nur mit dem Unterschiede, daß ich den Farbstoff hier 10 Minuten lang einwirken ließ. Nach dem Färben brachte ich die Schnitte in absoluten Alkohol, bis sie Rosaschimmer angenommen hatten; das fand gewöhnlich schon nach einigen Sekunden statt. Hierauf brachte ich das Präparat wieder in Xylol, um es dann in Kanadabalsam einzubetten.

Zur Kontrolle habe ich noch andere Färbemethoden angewendet, von denen ich nur die Assmannsche hervorheben möchte: Auf das Präparat werden 40 gtt. Färbeflüssigkeit (Methylenblau-Eosin (May-Grünwald) aufgetropft, und damit wird 3 Minuten lang fixiert. Dazu kommen alsdann bei Blutausschichten 20 ccm Aq. dest. + 5 gtt. einer 1‰ Natrium carbonicum-Lösung. Hiermit wird in einer gedeckten Schale 10 Minuten lang nachgefärbt, worauf das Präparat mit Fließpapier abgetrocknet wird.

Bei Schnitten kommen zu dem Aq. dest. 5 gtt. einer 1/2-proz. Essigsäurelösung. Auch hier wird 10 Minuten lang nachgefärbt. Darnach kommt das Präparat in absoluten Alkohol, bis es Rosaschimmer angenommen hat. Das weitere Verfahren ist dasselbe wie bei der Färbung nach Scherischewski.

Bevor ich zur Erklärung meiner Ergebnisse schreite, halte ich es für angebracht, einiges über das Blut der weißen Maus vorzuschicken.

H. Hirschfeld (1) berichtet folgendes über die Leukocyten im Mäuseblut:

„Triacidfärbung. Auffällig ist die große Zahl einkerniger Zellen. Man muß nach den Multinukleären suchen. Unter diesen sind erstens feingranulierte Zellen, an welchen ich häufig einen Ringkern gesehen habe. Die Granula liegen dicht und sind rot gefärbt. Zweitens findet man Zellen mit violetter, vollkommen homogenem Protoplasma ohne Spuren einer Granulation oder sonstigen Struktur. An den zahlreichen Mononukleären fällt es auf, daß man soviel freie große Kerne sieht. Andererseits findet man kolossal große Elemente, deren Protoplasma die Masse des in der Mitte liegenden Kernes vielmal übertrifft. Das Protoplasma erscheint nicht homogen mit blauem Farbenton wie gewöhnlich, sondern granuliert und rötlich tingiert. Ich glaube diese Bilder auf leukocytolytische Vorgänge zurückführen zu müssen, wie sie Botkin beschrieben hat. Die Zellen des Mäuseblutes haben wahrscheinlich eine besondere Disposition zu diesem Vorgang, der sich immer erst eine gewisse Zeit, nachdem das Blut den Körper verlassen, einstellt. Bei der Entnahme des Blutes verfuhr ich so, daß ich dem schnell getöteten Tier das Herz herauschnitt. Hierbei verstreicht zwar eine gewisse Zeit,

aber jedenfalls nicht mehr, als wenn ich das beim Schlachten herausströmende Carotidenblut in einem Gefäß auffange und dann die Präparate anfertige. Ich habe aber bei keinem Tier so zahlreiche, wahrscheinlich auf Leukocytolyse beruhende Bilder zu Gesicht bekommen, als bei der weißen Maus.

Färbung mit sauren Farben und Farbgemischen. Die Granula der Polynukleären sind rot.

Färbung mit basischen Farben. Die basophilen Granula der größeren Lymphocyten und die γ -Granula sind gefärbt.

Im Blute der weißen Maus gibt es also:

1. Polynukleäre eosinophile Zellen. Dieselben haben von den eosinophilen Zellen der bisher von mir untersuchten Tiere die feinsten Granula, etwa von der Größe der menschlichen Neutrophilen.

2. Polynukleäre neutrophile Zellen ohne Granula mit völlig homogenem Protoplasma.

3. Lymphocyten und Mastzellen.“

Dieser Befund Hirschfelds ist jedoch nicht vollständig; ich habe ihm deshalb noch einiges hinzuzufügen. Obwohl derselbe multinukleäre granulierende Zellen anführt, hat er es doch unterlassen, diese Art von Zellen seiner Zusammenstellung der Leukocyten der Maus anzugliedern. Es ist daher nicht ersichtlich, zu welcher Kategorie von Zellen er diese Art rechnet. Ferner ist auch nicht zu ersehen, weshalb Hirschfeld die Lymphocyten und die Mastzellen, womit er jedenfalls die Basophilen meint, in so engen Zusammenhang bringt.

Meine Untersuchungen über die weißen Blutkörperchen des zirkulierenden Blutes der Maus haben folgendes Resultat gezeitigt.

Im Mäuseblute gibt es:

1. Polymorphkernige, granulierende Neutrophile.
2. Polymorphkernige Neutrophile ohne Granula.
3. Lymphocyten.
4. Basophile.
5. Eosinophile.

Großen Schwankungen ist die Zahl der weißen Blutkörperchen ausgesetzt. Meine Zählungen haben ergeben, daß im Durchschnitt 8000 Leukocyten im Kubikcentimeter Blut beim gesunden Tiere vorhanden sind.

Für den Menschen hat E. Grawitz die absoluten Zahlen der einzelnen Leukocytenarten wie folgt angegeben:

- Neutrophile ca. 65—70 Proz.
Lymphocyten ca. 25 Proz.
Übergangs-eosinophile Formen ca. 5—10 Proz.

Für das Blut der Maus sind diese Zahlen nicht zutreffend. Die prozentuellen Werte, die ich gefunden habe, verhalten sich ungefähr folgendermaßen:

- Neutrophile ca. 40 Proz.
Lymphocyten ca. 30 Proz.
Basophile ca. 29 Proz.
Eosinophile ca. 1 Proz.

Wie Hirschfeld schon erwähnt, ist die große Zahl einkerniger Zellen bei der Maus auffällig. Diese setzen sich zusammen aus Lymphocyten und basophilen Leukocyten. Beide Arten sind etwas größer als ein rotes Blutkörperchen; sie besitzen einen kugeligen Kern, welcher sich intensiv färbt. Bei den Basophilen liegen in dem schmalen Protoplastmastreifen grobe, basophil gefärbte Granula, an der Peripherie dicht, während sie um den Kern einen Hof lassen.

Die Lymphocyten besitzen ein homogenes, basophil gefärbtes Protoplasma.

Diesen beiden Sorten halten die Neutrophilen so ziemlich das Gleichgewicht. Sie sind gewöhnlich etwas kleiner als die des Menschen. Während das Protoplasma der menschlichen Neutrophilen eine sehr dichte, äußerst feine Granulation zeigt (Grawitz), so liegen die Granula derselben Art von Zellen bei der Maus etwas weiter auseinander. Die Granulation ist etwas gröber als bei denen des Menschen. Ein weiterer Unterschied besteht ferner in der Färbung der Granula. Die mit Leishman-Lösung gefärbten Neutrophilen des Menschen zeigen eine tief braunrote Granulation, während dieselben Granula der Maus einen rotgelben Ton angenommen haben.

Der bei Menschen tief blau gefärbte, bei der Maus jedoch mehr ins Rötliche schimmernde Kern zeigt die verschiedensten Konfigurationen, wie Kleeblatt-, Hufeisen-, E-, T-, Y-Formen; Ringkerne, die im menschlichen Blute sehr spärlich auftreten, sind hier häufiger vertreten.

Ferner findet man im Blute der Maus Zellen, deren polymorpher Kern sich ebenso färbt wie bei der vorigen Art, deren homogenes, schwach basisches Protoplasma jedoch keine Granulation besitzt.

Die eosinophilen Zellen der Maus sind kleiner als die des Menschen; ihr Kern, der gewöhnlich aus zwei Teilen besteht, die wie zwei Taubeneier nebeneinander liegen, färbt sich fast immer hellblau.

Die Granula sind etwa halb so groß wie die des Menschen, liegen nicht so dicht und färben sich intensiv mit Eosin.

„Nach Sacharoff stellt die Entstehung der eosinophilen Granulation des Blutes einen Prozeß der Phagocytose dar, indem aus den Erythrocyten herausfallende Elemente von Kernsubstanz durch die Leukocyten aufgenommen werden. [Die Granula bestehen nach Sacharoff aus Paranuklein (runde Granulation) oder degeneriertem Nuklein (stäbchenförmige Granulation) (Grawitz) (2)].

Auch St. Klein (3) bringt die eosinophilen Zellen in nahe Beziehung zu den roten Blutkörperchen resp. zum Hämoglobin, und ist der Ansicht, daß diese allenthalben, d. h. im Knochenmark sowohl wie in den Geweben dadurch entstehen, daß gewöhnliche (neutrophile) Leukocyten Hämoglobin in sich aufnehmen und dadurch andere Granulationen bilden. Die Eosinophilie ist nach Klein eine physiologische Funktion der Leukocyten, dazu bestimmt, überschüssige Blutfarbstoffe in sich aufzunehmen und zu transportieren, eine Auffassung, die auch von Freiberg und Hermsen, wie Klein angibt, ausgesprochen ist (Grawitz).

Leider fehlen uns Angaben, wie die Leukocyten imstande sind, die roten Blutkörperchen in Granula umzuwandeln.

Schließlich wären vom Blute der Maus noch zu erwähnen die Uebergangsformen, denen von Ehrlich eine besondere Stellung eingeräumt worden ist, und die Mastzellen.

„In jedem Präparate wird es aber Zellen geben, deren genaue Bestimmung schwer ist. Einen großen Teil der Schuld daran tragen die Färbungen. Die Einwirkung der Farbstoffe ist je nach ihrer Färbekraft so verschieden, daß man sehr leicht dieselbe Zelle bei der einen Färbung zu der Art, bei der anderen zu einer anderen Art rechnen kann“ (Grawitz, Marwedel). Doch eins sei hier noch hervorgehoben: War die Färbung auch noch so schlecht, die eosinophilen Granula waren immer tadellos gefärbt. Bei den Zählungen wurden nur solche Zellen

zu einer bestimmten Art gerechnet, deren Zugehörigkeit untrüglich war. Zu erwähnen wären noch die Trümmer von Leukocyten, auf die schon Botkin hingewiesen hat, und die in jedem Blutpräparate, sei es auch noch so sorgfältig angefertigt, vorhanden sind.

1. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 5120 Leukocyten im Kubikmillimeter vorhanden.
 Neutrophile ca. 50 Proz.
 Lymphocyten ca. 30 Proz.
 Basophile ca. 17 Proz.
 Eosinophile ca. 3 Proz.

Um eine Veränderung in der Haut nach Einspritzung von Reagentien nachweisen zu können, habe ich zunächst die gesunde Haut auf ihren Gehalt an weißen Blutkörperchen geprüft. Ich habe dabei gefunden, daß solche nur in spärlicher Anzahl extravaskulär vorhanden sind. Meistens stößt man auf Rundzellen (Lymphocyten?). Stellenweise treten neutrophile Zellen auf. Sie liegen gewöhnlich zwischen Muscularis und Stratum granulosum der Cutis. Ein Einfluß der Behandlung ist wohl der, daß diese neutrophilen Zellen denen des Blutes an Größe nachstehen. Eine Granulierung ist meistens schwer zu erkennen.

Auch eosinophile Zellen sind vertreten, deren Granulation deutlich sichtbar ist.

2. Versuch.

Im Blute dieser Maus kann ich 5000 Leukocyten pro Kubikmillimeter feststellen. Im gefärbten Ausstrichpräparate verhalten sich die prozentualen Zahlen etwa folgendermaßen:

Neutrophile ca. 46 Proz.
 Basophile ca. 50 Proz.
 Eosinophile ca. 4 Proz.

Die Basophilen zeichnen sich hier ganz besonders aus durch ihre groben Granulationen.

Um zu sehen, wie das Blut auf einen einfachen mechanischen Reiz reagiert, d. h. welche weißen Blutkörperchen dabei auswandern, habe ich dieser Maus in Wasser ausgekochtes Hollundermark unter die Haut gebracht. Das Hollundermark wendete ich deshalb hier an, um die Leukocyten in die Maschen desselben ausgewandert zu sehen.

Nach 24 Stunden wurde das Blut wieder auf seinen Gehalt an weißen Blutkörperchen untersucht: Es waren jetzt 9120 im Kubikmillimeter; also rund um 4000 vermehrt. Im gefärbten Ausstrichpräparate konnte ich eine Vermehrung der Neutrophilen auf Kosten der anderen feststellen:

Neutrophile ca. 60 Proz.
 Basophile ca. 30 Proz.
 Lymphocyten ca. 9 Proz.
 Eosinophile ca. 1 Proz.

Hierauf tötete ich die Maus mit Chloroform, schnitt das betreffende Hautstück mit dem Hollundermark heraus und behandelte es in der oben angegebenen Weise.

Nach der Färbung der Schnitte konnte ich eine deutliche Einwanderung von Leukocyten in die Maschen des Markes nachweisen. Dieselben bestehen aus Rundzellen (Lymphocyten?) und polymorphkernigen Neutrophilen. Auch einige Eosinophile waren zu sehen.

3. Versuch.

Das Blut dieser Maus enthält 5360 Leukocyten im Kubikmillimeter. Die prozentuellen Werte sind folgende:

Neutrophile ca. 46 Proz.
 Basophile ca. 40 Proz.
 Lymphocyten ca. 10 Proz.
 Eosinophile ca. 4 Proz.

Dieser Maus werden 2 ccm Oleum Terebinthinæ in die Kniefalte subkutan gespritzt.

Bei der Blutzählung am folgenden Tage ist die Zahl der Leukocyten auf 8320 pro Kubikmillimeter gestiegen. Während die Zahl der Lymphocyten zugenommen hat, sind die Neutrophilen zurückgegangen.

Neutrophile ca. 26 Proz.
 Lymphocyten ca. 51 Proz.
 Basophile ca. 23 Proz.

Am folgenden Tage wird das Blut wieder gezählt. Die Anzahl der Leukocyten ist auf 8800 gestiegen:

Neutrophile ca. 20 Proz.

Lymphocyten ca. 80 Proz.

Am nächsten Tage sind die Leukocyten wieder zurückgegangen. Es sind nur noch 6400 pro Kubikmillimeter vorhanden:

Neutrophile ca. 51 Proz.

Lymphocyten ca. 39 Proz.

Basophile ca. 10 Proz.

Nach der Tötung der Maus mit Chloroform wird das Hautstück an der Injektionsstelle herausgeschnitten, behandelt und gefärbt: Dicht an der Grenze zwischen Muscularis und Subcutis als auch besonders an der Grenze zwischen Cutis und Muscularis haben sich Rundzellen und polymorphkernige Neutrophile angesammelt. Bei den Neutrophilen sind teils Granula nachzuweisen, teils nicht.

Auch eosinophile Zellen sind vertreten: Den himmelblau gefärbten, geteilten Kern umgibt ein heller Hof, und darum liegen die hellroten Granula. Diese Zellen liegen nur in der Subcutis.

In der ganzen Cutis sind Teile von Kernen in Gestalt größerer und kleinerer Körperchen nachzuweisen, ein Umstand, der wohl auf leukocytolytische Vorgänge zurückzuführen ist und mit dem Namen Karyorhexis oder Pyknose (Schütz) belegt werden muß.

4. Versuch.

Das Blut dieser Maus enthält 7440 Leukocyten pro Kubikmillimeter.

Neutrophile ca. 40 Proz.

Lymphocyten ca. 50 Proz.

Basophile ca. 10 Proz.

Diesem Versuchstiere werden 2 Tropfen Glycerin unter die Haut gespritzt.

Nach 24 Stunden waren 10 480 Leukocyten im Kubikmillimeter Blut zu zählen.

Davon waren:

Neutrophile ca. 20 Proz.

Lymphocyten ca. 70 Proz.

Basophile ca. 10 Proz.

In den Schnittpräparaten sieht man eine Anhäufung von Rundzellen, vermischt mit vielen eosinophilen Leukocyten. Neutrophile sind nur spärlich vertreten. Sämtliche Zellen liegen sowohl in der Cutis wie in der Unterhaut.

5. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 7040 Leukocyten pro Kubikmillimeter.

Neutrophile ca. 30 Proz.

Lymphocyten ca. 40 Proz.

Basophile ca. 30 Proz.

Diesem Versuchstiere werden 2 cmm 10-proz. Essigsäure in die Kniefalte gespritzt.

Bei der Blutzählung nach 48 Stunden sind nur noch 3480 Leukocyten im Kubikmillimeter vorhanden. Davon sind:

Neutrophile ca. 28 Proz.

Lymphocyten ca. 52 Proz.

Basophile ca. 20 Proz.

In den gefärbten Schnittpräparaten zeigt sich eine Infiltration von Leukocyten in das Unterhautbindegewebe. Sie besteht in der Hauptsache aus neutrophilen Zellen. Acidophile und Rundzellen treten in geringerer Zahl auf.

6. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 7600 Leukocyten pro Kubikmillimeter.

Neutrophile ca. 50 Proz.

Lymphocyten ca. 30 Proz.

Basophile ca. 20 Proz.

Diesem Versuchstiere werden 2 cmm 10-proz. Acidum hydrochloricum unter die Haut gespritzt.

Nach 24 Stunden ist die Zahl der Leukocyten auf 10 000 pro Kubikmillimeter gestiegen.

Neutrophile ca. 90 Proz.

Lymphocyten ca. 7 Proz.

Basophile ca. 3 Proz.

In der Haut und Unterhaut sieht man eine starke Anhäufung neutrophiler Zellen. Eosinophile sind in ziemlicher Zahl vorhanden. Auch Rundzellen lassen sich nachweisen.

7. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 4780 Leukocyten pro Kubikmillimeter nachzuweisen.

Neutrophile ca. 20 Proz.

Lymphocyten ca. 50 Proz.

Basophile ca. 30 Proz.

Diesem Versuchstiere werden 2 cmm einer konzentrierten Sodalösung unter die Haut gespritzt.

Bei der Blutzählung nach 24 Stunden ist die Zahl der Leukocyten auf 5840 pro Kubikmillimeter gestiegen. Davon sind:

Neutrophile ca. 50 Proz.

Lymphocyten ca. 30 Proz.

Basophile ca. 20 Proz.

In den gefärbten Schnittpräparaten sieht man eine Anhäufung neutrophiler Zellen. Doch auch eosinophile Zellen sind in nicht geringer Anzahl vorhanden. Diese liegen sehr häufig in kleinen Gruppen zu dreien und mehreren zusammen. Eine Anhäufung von Rundzellen ist hier weniger nachzuweisen.

8. Versuch.

Das Blut dieser Maus enthält 9200 Leukocyten pro Kubikmillimeter.

Neutrophile ca. 65 Proz.

Lymphocyten ca. 25 Proz.

Basophile ca. 10 Proz.

Nach 48 Stunden ist die Anzahl der Leukocyten auf 15 680 pro Kubikmillimeter gestiegen.

Neutrophile ca. 70 Proz.

Lymphocyten ca. 15 Proz.

Basophile ca. 15 Proz.

In den gefärbten Schnittpräparaten kann man in der Cutis sowie in der Subcutis nur eine Anhäufung von Rundzellen nachweisen.

9. Versuch.

Diese Maus wird von 2 Bienen gestochen. Sie stirbt nach 1 Stunde.

An den Stichstellen der präparierten Haut kann man ziemlich viele eosinophile Zellen nachweisen.

Besonders in der Leistendrüse, die beim Schneiden der Haut gerade getroffen wurde, kann man eine starke Ansammlung dieser Zellen bemerken.

Wie diese Zellen in die Drüse hineingelangt sind, läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen. Stutz (4) behauptet, daß eosinophile Zellen nur auf dem Blutwege, nicht durch die Lymphbahnen in die Lymphdrüsen und Follikel gelangen können. Er zieht daraus den Schluß, daß eosinophile Zellen mit dem lymphatischen Apparate nichts zu tun haben, und nimmt an, daß aus den gewöhnlichen Leukocyten in der Schleimhaut des Darmes selbst eosinophile Zellen werden.

In meinem Versuche läßt sich nur nachweisen, daß in der Nähe der Lymphknoten sich mehr eosinophile Zellen finden, als in größerer Entfernung von demselben.

Neutrophile Zellen treten nur spärlich auf.

In den Ausstrichpräparaten, die vor dem Tode dieser Maus noch gemacht wurden, sind außer wenigen spärlichen Lymphocyten und neutrophilen Leukocyten nur Zerfallsprodukte von Leukocyten nachzuweisen.

10. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 9280 Leukocyten pro Kubikmillimeter:

Neutrophile ca. 46 Proz.

Lymphocyten ca. 30 Proz.

Basophile ca. 20 Proz.

Eosinophile ca. 4 Proz.

Diesem Versuchstiere werden 2 cmm Tinct. lign. Guajaci unter die Haut gespritzt.

Nach 24 Stunden war die Anzahl der Leukocyten auf 10 960 pro Kubikmillimeter gestiegen. Davon waren:

Neutrophile ca. 78 Proz.

Basophile ca. 12 Proz.

Lymphocyten ca. 7 Proz.

Eosinophile ca. 3 Proz.

Am nächsten Tage war die Zahl der Leukocyten erheblich zurückgegangen. Es waren jetzt nur noch 3450 Leukocyten pro Kubikmillimeter nachzuweisen:

Neutrophile ca. 95 Proz.

Basophile ca. 4 Proz.

Eosinophile ca. 1 Proz.

Am folgenden Tage zeigte sich wieder eine kleine Steigerung der Leukocytenzahl.
4480 waren jetzt im Kubikmillimeter:

Neutrophile ca. 60 Proz.

Basophile ca. 25 Proz.

Lymphocyten ca. 15 Proz.

Am nächsten Tage stieg die Zahl der Leukocyten wieder etwas. Im Kubikmillimeter waren 4800:

Neutrophile ca. 50 Proz.

Lymphocyten ca. 30 Proz.

Basophile ca. 20 Proz.

In den gefärbten Schnittpräparaten sieht man eine Anhäufung von Rundzellen und neutrophilen Leukocyten.

Hinzugefügt sei noch, daß sich hier viele rote Blutkörperchen extravaskulär finden.

11. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 11 200 Leukocyten pro Kubikmillimeter nachzuweisen.

Neutrophile ca. 60 Proz.

Basophile ca. 30 Proz.

Lymphocyten ca. 10 Proz.

Diesem Versuchstiere wird Eiter eines an Druse erkrankten Pferdes unter die Haut gebracht.

Am nächsten Tage wird das Blut dieser Maus wiederum auf seinen Gehalt an Leukocyten untersucht; es läßt sich nachweisen, daß die Zahl derselben auf 18 600 gestiegen ist. Die Neutrophilen sind in einer solchen Menge vorhanden, daß die spärliche Zahl der Lymphocyten kaum in Betracht kommt:

Neutrophile ca. 99 Proz.

Lymphocyten ca. 1 Proz.

Vom zweiten auf den dritten Tag stirbt diese Maus.

Im gefärbten Schnittpräparat sieht man in der Unterhaut nur neutrophile Leukocyten, je mehr man sich jedoch der Cutis nähert, in desto größerer Anzahl nehmen die eosinophilen Zellen zu. Ganz besonders sei noch hervorgehoben, daß diese sich besonders da finden, wo ein Erguß von roten Blutkörperchen sich zeigt.

Das läßt sich jedoch nicht nur hier, sondern auch beinahe in allen anderen Fällen nachweisen, daß gerade da, wo Blutung stattgefunden hat, sich eosinophile Zellen in größerer oder großer Anzahl finden.

Ich kann mich deshalb der Ansicht von St. Klein (3) u. a. nicht verschließen, daß die eosinophilen Granula eng mit dem Zerfall von roten Blutkörperchen und vielleicht auch des Muskelfarbstoffes im Zusammenhang stehen.

St. Klein (3) schreibt hierüber:

„Nur in einer Richtung hat sich diese Lehre entwickelt, und zwar haben wir eine ganze Reihe von Zuständen kennen gelernt, in denen sich mit größerer oder geringerer Konstanz eine Vermehrung der eosinophilen Zellen im Blute nachweisen läßt; gleichfalls wissen wir jetzt, daß nur alte Entzündungsprodukte zuweilen ausschließlich oder vorwiegend aus diesen Zellen bestehen, wobei das Blut oft, wenn auch nicht immer, eine ausgesprochene Eosinophilie zeigt; endlich finden wir eine Reihe krankhaft veränderter, ja sogar normaler Gewebe, in denen jene Zellen reichlich zu finden sind. Jedoch trotz dieser Menge wissenschaftlichen Materials ist der Zusammenhang dieser Erscheinungen und ihre Ursache unaufgeklärt geblieben.“

St. Klein (3) berichtet über eine blutige Flüssigkeit im Pleuraraum:

„In dieser blutigen Flüssigkeit — wir betonen ausdrücklich diese blutige Beschaffenheit derselben — stieg die Zahl der eosinophilen Leukocyten sehr rasch bis zu einer auffallenden Höhe. Aber auch hier war anfangs ein Zeitpunkt vorhanden, in welchem die Zahl der eosinophilen Zellen eben zu steigen im Begriff war. Es liegt deshalb die Vermutung nahe, daß die Zahl dieser Zellen im Beginn des Krankheitsprozesses noch kleiner war, resp. eben nur so groß, wie im normalen Blute, oder wie in einem gewöhnlichen Pleuraexsudat. Der Entwicklungsgang der Eosinophilie dürfte sich hier folgendermaßen gestalten: Im Beginn der Entzündung oder in nächster Folge des Extravasats wandern aus dem Blute neutrophile Leukocyten aus oder es erscheinen sogar nur die kleinen Lymphocyten und gelangen in das Exsudat; erst später, unter dem Einfluß der weiter zu besprechenden Faktoren, erscheinen hier die eosinophilen Leukocyten in stets wachsender Menge. Somit dürften wir letztere als sekundäre Elemente auffassen.“

Betreffs des Verhaltens des Blutes schreibt derselbe weiter:

„Anfangs stand die Eosinophilie des Blutes weit hinter der des Exsudats zurück, obwohl letzteres eine sehr intensive Eosinophilie darbot; mit der Zeit aber stieg die Bluteosinophilie immer und stufenweise höher. Es schien somit letztere in gewisser

Abhängigkeit von der Zeit des Bestehens der Eosinophilie des Exsudats zu sein; es dürfte deshalb auch die Bluteosinophilie als sekundäre, von Exsudateosinophilie abhängige Erscheinung aufgefaßt werden. Eben dasselbe schreibt Harmsen.“

St. Klein folgert daraus, daß erstens die Bluteosinophilie mit der Eosinophilie des Pleuraexsudats mit dem Vorhandensein von Blut im Pleuraraum in Zusammenhang zu bringen sei. Daß die eosinophilen Leukocyten nicht alle aus dem Blute stammen, beweist er damit, daß im Blute ja gar nicht so viele eosinophile Leukocyten vorhanden waren wie im Exsudat. Er vermutet, deshalb, daß die eosinophilen Zellen entweder aus der krankhaft veränderten Pleura in das Exsudat gelangten, oder sich in demselben entwickelt haben. Und diese letztere Vermutung hält er für die wahrscheinlichere.

An einer anderen Stelle berichtet derselbe:

„Bekanntlich verarbeiten die Leukocyten die absorbierten Erythrocyten zu dem Hämoglobin verwandten Farbstoffen und legen dieselben in verschiedenen Organen ab. Da aber die eosinophilen Granula Eisen, d. i. denjenigen Bestandteil, den wir fast nur in den Erythrocyten finden, enthalten, so müssen wir vermuten, daß die Leukocyten, wenigstens in Fällen von Pleuritis haemorrhagica und von Pleuraextravasaten, nachdem sie die Erythrocyten absorbiert, letztere nicht nur in Pigment, sondern auch in eosinophile Granula zu verwandeln imstande sind.“

St. Klein schreibt weiter:

„Die ganze Frage resumierend, können wir unsere Ansichten über die Eosinophilie folgendermaßen zusammenfassen: Die Gegenwart von eosinophilen Leukocyten in Entzündungsherden oder überhaupt in krankhaft veränderten Geweben ist kein Symptom irgendeiner spezifischen Reizung, sondern die Folge von Blutextravasaten oder von Imbibition der Gewebe mit mehr oder weniger modifiziertem Hämoglobin. Diese Leukocyten, welche ihre Existenz ausschließlich dem Hämoglobin verdanken, sind keineswegs irgendwelche neue Gebilde, die vor dem Bluterguß im Organismus nicht vorhanden waren, sondern es sind dies gewöhnliche und wahrscheinlich neutrophile Leukocyten, die, indem sie Blutkörperchen resp. Hämoglobin in sich aufgenommen haben, statt der früheren Granulation eine neue erhalten haben.“

Den Boden zu diesem Prozeß geben ausschließlich die Gewebe und höchstwahrscheinlich in manchen Fällen noch Entzündungsprodukte ab. Die Gewebseosinophilie ist in betreff der Lokalisation durch keine Gesetze gebunden, überall da, wo Blut durchströmt und extravasieren kann, ist die Möglichkeit zur Entstehung von Eosinophilie gegeben. Von diesem Boden her können die eosinophilen Leukocyten in das Blut übergehen, in demselben eine Anhäufung dieser Zellen hervorrufend. Es ist daher die Eosinophilie des Blutes stets eine sekundäre Erscheinung.

Die Eosinophilie ist somit keine pathologische Erscheinung in strengem Sinne, sondern die Folge einer rein physiologischen Funktion der Leukocyten. Dieser Funktion der Leukocyten verdankt auch eine gewisse, oft schwankende Menge eosinophiler Leukocyten in den normalen Geweben überhaupt und speziell im Blute und im Knochenmark ihre Gegenwart.

Einen diagnostischen Wert, den man den eosinophilen Zellen bis dahin zugemutet hat, haben sie daher nicht; nur in einer Beziehung haben sie dennoch diesen Wert nicht verloren, insofern sie nämlich in besonders beträchtlicher Menge in Prozessen, die mit Blutergüssen zu verlaufen pflegen, auftreten, so daß ihre Anwesenheit direkt auf Extravasate hinweist und uns zum Nachforschen über die Ursache letzterer zwingt.“

Eine Eosinophilie im Blute habe ich allerdings nicht nachweisen können.

Was die neutrophilen Zellen in diesem Präparate betrifft, so lassen sich in ihnen keine Granula nachweisen. Den polymorphen Kern umgibt ein homogenes, graubraun gefärbtes Protoplasma.

Dissert. Gustav Stutz (4):

„A. Schmidt hält schon wegen der Massenhaftigkeit des Vorkommens der eosinophilen Zellen in der Schleimhaut die lokale Bildung eosinophiler Zellen bei Asthma für wahrscheinlicher, als ihre Abstammung aus dem Blute. Alsdann wäre die Vermehrung dieser Zellen im Blute der Asthmatiker das Sekundäre.“

Schmidt, welcher die Schleimhaut des Respirationstraktus systematisch untersucht hat, kommt zu folgendem Resultat: Die eosinophilen Zellen sind bei einzelnen Zuständen kolossal häufig, so kolossal, daß sie unmöglich aus dem Blute ausgewandert sein können.“

Stutz (4) schreibt unter anderem: „Bei leichten Reizzuständen und bei allen Entzündungen finden wir die eosinophilen Zellen in vermehrter Menge, und zwar in einem Grade, welchen wir als wenig bis mäßig viele bezeichnen.“

In der normalen Darmschleimhaut finden wir in der Regel zahlreiche eosinophile Zellen.

Wenn eosinophile Zellen vorhanden waren, so lagen sie stets in dem wesentlichsten Teile der Mucosa, der Tunica propria.“

Ueber einen Fall, in welchem sich sehr viele eosinophile Zellen in der Schleimhaut finden, schreibt derselbe weiter:

„Dazu ist der Darm sehr hyperämisch, in jedem Schnitte liegen große Gefäßquerschnitte. In diesen finden sich unter den zahllosen roten Blutkörperchen eine ganze Anzahl weißer, aber es ist uns nicht gelungen, auch nur ein einziges mit eosinophiler Körnung zu finden. Also sind die eosinophilen Zellen im Gefäßsystem der Schleimhaut nicht vermehrt und ihr Vorhandensein in der Schleimhaut aus ihrem Vorhandensein im Blute jedenfalls nicht erklärlich.“

„. . . muß die oben schon erwähnte Tatsache angeführt werden, daß bei denjenigen Prozessen, bei denen nach unseren jetzigen Kenntnissen Leukocyten aus den Gefäßen auswandern, die eosinophilen Zellen nicht vermehrt in der Darmschleimhaut auftreten (Entzündung und Eiterung).“

Stutz kommt zu dem Schluß, daß eosinophile Zellen mit größter Wahrscheinlichkeit in der Schleimhaut gebildet werden können, zumal da nach neueren physiologischen Ansichten die Darmschleimhaut ebenfalls als Bildungsstätte der Leukocyten angesehen werden muß.

Stutz schreibt seinen eosinophilen Zellen amöboide Bewegung zu.

S. Bettmann (5) schreibt:

„Was nun die chemische Zusammensetzung der eosinophilen Granulation betrifft, so waren ältere Beobachter zu dem leicht verzeihlichen Fehlschlusse gelangt, daß diese eigentümlich glänzenden Granula Fettkörper seien; einzelne wollten der Frage ihrer chemischen Struktur überhaupt nicht näher treten, da sie die Körnchen für gar nichts Präexistentes, sondern für morphologische Kunstprodukte erklärten, die erst durch den Färbungsprozeß ausgefällt worden seien. Diese Anschauung ist gewiß nicht richtig; zeigt uns doch die Beobachtung des frischen ungefärbten Blutpräparates das deutliche Vorhandensein der Körner. Die meisten chemischen Untersuchungen nun faßten die Frage ins Auge, ob eine Beziehung zwischen den eosinophilen Granulationen und dem Blutfarbstoffe besteht; die intensive Färbbarkeit durch Eosin, welche jene Körnchen mit den roten Blutkörperchen teilen, legte rein äußerlich die Vermutung in dieser Richtung nahe. Es ist nun festgestellt worden, daß jene Granulationen keineswegs Hämoglobin enthalten, daß sie aus eiweißartiger Substanz bestehen (Weiss), und daß sie „verstecktes“ Eisen enthalten (Barker u. a.). Aber auch der positive Eisennachweis wäre für die Annahme nicht sonderlich zu verwerten, daß die Körnchen dem Blutfarbstoffe verwandt seien; auch das Nuklein der Zellkerne kann Eisen enthalten. Uebrigens hat v. Noorden das Verhalten von Eisenpigment (Hämosiderin) sowohl in den neutrophilen wie in eosinophilen Zellen studiert (Asthmasputum liefert dazu geeignetes Material), ohne daß sich Anhaltspunkte für einen Uebergang solchen Pigmentes in Granulationen ergeben hätten.“

Die chemische Untersuchung hat also die Frage nach der Bedeutung und Entstehung der eosinophilen Granulationen nicht gelöst. Sie gibt uns nur den Hinweis, daß diesen Granulationen unter den verschiedenen Körnelungen des Blutes die komplizierteste Zusammensetzung zukommt.“

Einen Beweis, daß die eosinophilen Granulationen nicht aus den roten Blutkörperchen entstehen können, hat S. Bettmann hierdurch nicht geliefert. Er sagt nur, daß den eosinophilen Granulationen „die komplizierteste Zusammensetzung“ zukommt.

Schließlich modifiziert er seine Ansicht dahin, daß er sagt: „. . . aber was auch immer die Grundsubstanz der eosinophilen Granula sein mag, sie ist etwas Verarbeitetes, Umgewandeltes, ehe sie zum eosinophilen Granulum wird; dieses ist als solches in der Zelle entstanden.“

Derselbe schreibt an einer anderen Stelle: „Gewöhnlich sehen wir dabei die lokale Eosinophilie der des Blutes vorangehen, oder wenn es sich nur um geringfügige Affektionen handelt, kann sogar die Vermehrung im Blute ganz ausbleiben.“

Weiter sagt er:

„Da nun Ehrlich keine morphologischen Uebergangsformen zwischen diesen neutrophilen und den eosinophilen Zellen anerkennt, und da im Blute eine Vermehrung der neutrophilen Zellen keineswegs mit einer Zunahme der eosinophilen einhergeht, sondern der Vermehrung der einen Sorte eher eine Verminderung der anderen entspricht, so nimmt Ehrlich an, daß diese beiden Zellarten eine verschiedenartige hemotaktische Reizbarkeit besitzen; sie werden für ihn zwei verschiedene Kästen von Zellen, die sich unabhängig voneinander entwickeln und verschiedenartigen Gesetzen gehorchen.“

S. Bettmann (5) schreibt weiter:

Nun gestattet dieses Nebeneinander von Blut und eosinophilen Zellen noch keinen Schluß auf eine Beziehung zwischen beiden. Daß es experimentell nicht gelungen ist,

Eiterzellen dadurch eosinophil zu machen, daß man sie mit Blut vermischt in den Brutschrank stellte, ist bedeutungslos. Wichtiger ist, daß sie der Resorption und Verarbeitung von Hämoglobin, das Tieren unter die Haut gespritzt wurde, die eosinophilen Zellen augenscheinlich gar keine Rolle spielen (Vidal). Und am wesentlichsten ist der Punkt, daß ja schon lange histologische und chemische Untersuchungen eine Beziehung der eosinophilen Zellen zu den Erythrocyten nachweisen wollten und daß dieser Nachweis nicht erbracht werden konnte. Wenn selbst der Satz sicher stände, daß eosinophile Zellen immer da erscheinen, wo eine Blutung erfolgt ist, so könnte die chemotaktische Theorie immer noch behaupten, daß eben das Blut resp. sein Umwandlungsprodukt, die anlockende Substanz geliefert haben. Und wenn gar die Hypothese zur Gewißheit wurde, daß sich die eosinophilen Granula aus einem vom Blute gelieferten Materiale herausbildeten, so sind damit die Kleinschen Folgerungen bezüglich der diagnostischen Bedeutung der Gebilde noch nicht erledigt. Der schwächste Punkt der Kleinschen Hypothese ist der, daß der Autor nicht sagen kann, unter welchen Bedingungen nach einer Blutung eine Eosinophilie entsteht. Denn der Satz steht zur Genüge fest, daß häufig genug Blutungen irgendwelcher Art nicht zur Eosinophilie führen. Gerade die histologischen Untersuchungen haben dies reichlich erhärtet. Zudem läßt auf der anderen Seite die grobe klinische Erfahrung, die allein Klein seinen Ausführungen zugrunde legen kann, bei ausgesprochener Eosinophilie häufig genug jede Blutung vermissen.

H. F. Müller und H. Rieder (6) schreiben:

Bezüglich der eosinophilen Zellen im zirkulierenden Blute finden sich folgende Angaben von Ehrlich:

„Bei allen akuten Leukocytosen sind nur die mono- und polynukleären Formen vermehrt, während die eosinophilen Zellen dementsprechend scheinbar verringert sind.“

„Eine Vermehrung der eosinophilen Zellen deutet stets auf chronische Veränderungen der blutbereitenden Organe hin.“

Derselbe schreibt an einer anderen Stelle:

„Vor allem kann behauptet werden, daß die große Mehrzahl der im Knochenmark befindlichen eosinophilen Zellen morphologisch sich von den eosinophilen Zellen, wie sie im normalen bzw. nicht leukämischen zirkulierenden Blut sich befinden, deutlich unterscheiden. Die Unterschiede sind solche in der Beschaffenheit des Zelleibs (Größe), wie der Zellkerne und ihrer vitalen Aeußerungen.“

„Von diesen eosinophilen Zellen, wie sie im normalen Blute kreisen, unterscheiden sich sehr viele des Knochenmarks in auffälliger Weise. Ihre Größe überschreitet diejenige der im normalen Blut zirkulierenden eosinophilen Zellen bedeutend; ebenso finden wir beträchtliche Unterschiede in der Kernfigur. Während wir bei den eosinophilen Zellen nicht leukämischer, wie wir an unseren zahlreichen Präparaten stets beobachten konnten, immer nur die zierlich gegliederte, polymorphe Kernfigur, ungefähr wie bei gewöhnlichen polymorphkernigen (neutrophilen) Leukocyten finden, weisen die viel größeren Elemente des Knochenmarks plumpe Kernformen auf, ring-, hufeisen-, zwerch-sackförmige oder ovale Kerne . . .“

„Wir können demnach die im strömenden normalen Blute vorhandenen eosinophilen Zellen und die früher beschriebenen des Knochenmarks nicht als identische Zellen anerkennen. Sie sind vielmehr auseinanderzuhaltende Arten eosinophiler Zellen, weil die in Rede stehenden großen Zellen des Knochenmarks nie im normalen Blut gefunden werden. Diese großen Zellen sind also gar nicht dazu bestimmt, ins (normale) strömende Blut zu gelangen. Dem Gesagten zufolge gehören die großen eosinophilen Zellen des Knochenmarks, welche sich scharf von denen des normalen kreisenden Blutes trennen lassen, in die Kategorie der Markzellen (Cellules medullaires Cornils). Cornil hat mit Recht diese von den gewöhnlichen Leukocyten des zirkulierenden Blutes getrennt, und Müller hat sich in seiner letzten Arbeit diesem Einteilungsmodus angeschlossen.“

An einer anderen Stelle schreiben dieselben:

„Es ist aber gar nicht nötig, auf Neubildungsvorgänge im Knochenmark zu rekurrieren, um daraus die eosinophilen Zellen des normalen zirkulierenden Blutes abzuleiten. Vergleicht man die verschiedene Beschaffenheit des Zellkörpers und der Zellkerne der eosinophilen Zellen des nicht leukämischen Blutes und vieler eosinophiler Zellen des Knochenmarks, erwägt man, welche ungeheure Menge eosinophiler Zellen im gesamten lymphoiden Mark aufgestapelt ist, im Vergleich zu der geringen Menge eosinophiler Zellen im normalen Blut, so kann man sich der Ansicht nicht verschließen, die große Menge der im Knochenmark vorhandenen eosinophilen Zellen sei weniger der Ausdruck einer Neubildung dieser Zellen (bei der geringen Menge dieser Zellen im Blut, der ungeheuren Menge im Knochenmark ist vornherein gar nicht anzunehmen, daß alle diese Zellen zur Beschickung des Blutes gebildet werden), als vielmehr der Ausdruck der Ablagerung eosinophiler Zellen im Knochenmark. Das Knochenmark wäre somit

in bezug auf die grobgranulierten Zellen des Blutes mehr als eine Ablagerungstätte zu betrachten, in welcher diese Zellen anderen, vorläufig nicht näher zu bezeichnenden Zwecken dienen.“

„... Die geringe Menge der im normalen strömenden Blut vorhandenen eosinophilen Leukocyten kann mit großer Wahrscheinlichkeit auf im strömenden Blut sich abspielende Vorgänge der „Reifung“ der feingranulierten Zellen bezogen werden, und wir können uns auf Max Schultze berufen, welcher die Uebergangsformen zwischen den fein- und grobgranulierten Blutzellen im strömenden Blut nachwies.“

12. Versuch.

Dieser Versuch ist derselbe wie der vorhergehende. Er wird deshalb hier angeführt, weil das Resultat desselben scheinbar nicht ganz mit dem vorhergehenden übereinstimmt.

Im Blute dieser Maus konnte ich vor der Impfung 12000 Leukocyten zählen. Die Neutrophilen waren auch hier in der Ueberzahl gegenüber den Lymphocyten. Nach 2 Tagen wird das Blut wieder gezählt; ich kann jetzt 19200 Leukocyten pro Kubikmillimeter feststellen. Die Lymphocyten sind beinahe vollständig verschwunden, an ihre Stelle sind auch Neutrophilen getreten.

Dieser Maus war zwischen der ersten und zweiten Blutzählung ebenfalls Eiter eines an Druse erkrankten Pferdes unter die Haut gebracht worden.

Das Schnittpräparat zeigt nicht dieselbe Eosinophilie, wie das vorher erwähnte. Eosinophile Zellen sind nur in geringer Menge nachzuweisen. Auch sieht man nicht die Blutergüsse, wie im vorhergehenden Präparat. Die Gefäße sind sehr erweitert und führen viele weiße Blutkörperchen mit sich, manche Gefäße sind direkt vollgepfropft von denselben.

Nebenbei sei noch erwähnt, daß hier die Streptokokken, die ja die Druse der Pferde herbeiführen, in ausgezeichneter Weise zu sehen sind. Sie bilden lange Fäden und bevorzugen den Teil der Haut, welcher unmittelbar unter dem Stratum granulosum sich befindet.

13. Versuch.

8000 Leukocyten pro Kubikmillimeter. Neutrophile und Lymphocyten sind in gleichen Mengen verteilt.

Dieser Maus werden 2 Tropfen Oleum camphoratum forte unter die Haut gespritzt. Am nächsten Tage haben sich die Leukocyten um 4000 pro Kubikmillimeter vermehrt. Im gefärbten Ausstrichpräparat sind beinahe nur Zellen mit neutrophilen Granulis festzustellen.

Im Schnittpräparat befinden sich viele Eosinophile und Rundzellen. Es treten auch Zellen in ziemlicher Anzahl auf, deren Protoplasma dieselbe Tinktion hat, wie die eosinophilen Granula, die jedoch keine Granula enthalten. Diese Zellen liegen meist in der Subcutis, während die granulierten meistens in der Cutis ihren Platz haben.

14. Versuch.

Das Blut dieser Maus enthält 9000 Leukocyten pro Kubikmillimeter: 80 Proz. Neutrophile, 20 Proz. Lymphocyten.

Dieser Maus werden 5 Tropfen „Liquor kalii arsenicosi“ unter die Haut eingespritzt. Der Tod tritt nach 1 Stunde ein. In der Haut ist nichts nachzuweisen.

15. Versuch.

Das Blut dieser Maus enthält 5920 Leukocyten pro Kubikmillimeter: Ungefähr 80 Proz. Neutrophile und 20 Proz. Lymphocyten.

Dieser Maus werden 5 Tropfen „Liquor natrii kakodylici“ unter die Haut eingespritzt. Dieses Versuchstier stirbt nach 10 Stunden.

In den gefärbten Schnittpräparaten zeigen sich die wenigen eosinophilen Zellen, die nachgewiesen werden können, in anderer Form als in den übrigen Schnittpräparaten und im Blut: Die Zellen sind größer, die Granula sind größer und liegen dichter beisammen. Der Kern dieser Zellen ist intensiv gefärbt; er ist rund, wie der Kern der Lymphocyten. Bei einigen dieser Zellen läßt sich bei stärkerer Vergrößerung nachweisen, daß sich der Kern aus lanzettförmigen Teilen zusammensetzt, die sich im Zentrum mit der Spitze treffen, nach Art einer Rosette.

Die Mehrzahl der Zellen in diesem Präparat machen Rundzellen aus.

Die vorhergenannten Zellen möchten wohl mit den „eosinophilen Myelocyten“ Ehrlichs identisch sein. Im Knochenmark befindet sich eine Unmasse eosinophiler Leukocyten mit einem Kern, während in allen anderen Geweben die eosinophilen Zellen denen des Blutes gleich sind: z. B. Schleimhaut des Digestionstraktus [Klein (3)].

16. Versuch.

Im Blute dieser Maus sind 13000 Leukocyten pro Kubikmillimeter: Die Neutrophilen vor den Lymphocyten wieder in der Ueberhand.

Diese Maus erhält 5 Tropfen „Tinctura jodi“ unter die Haut. Vor der Tötung ist die Zahl der Leukocyten auf 15200 gestiegen. In den gefärbten Ausstrichpräparaten sieht man die Neutrophilen überwiegen; Eosinophile sind spärlich vertreten.

In den Schnittpräparaten ist eine Häufung von Neutrophilen und von Rundzellen nachweisbar.

17. Versuch.

Diese Maus hat in ihrem Blut 7500 Leukocyten pro Kubikmillimeter: Neutrophile in der Ueberzahl, dann Lymphocyten und einige eosinophile Zellen.

Diesem Versuchstier werden 10 Tropfen einer 0,1-proz. Chromsäurelösung unter die Haut gespritzt.

Am nächsten Tag ist die Zahl der Leukocyten auf 10400 pro Kubikmillimeter angewachsen: Die Neutrophilen sind vor den Lymphocyten in der Ueberzahl.

In den gefärbten Schnittpräparaten sieht man geringe Blutergüsse. An Leukocyten sind nur Rundzellen vermischt mit Eosinophilen nachzuweisen.

18. Versuch.

Diese Maus hat im Kubikmillimeter Blut 11520 Leukocyten.

Neutrophile ca. 50 Proz.

Basophile ca. 40 Proz.

Lymphocyten ca. 10 Proz.

Diesem Versuchstier werden 4 Tropfen 75-proz. Milchsäure unter die Haut gespritzt.

Nach 25 Stunden sind im Blute dieser Maus nur noch 6080 Leukocyten. Davon sind:

Neutrophile ca. 70 Proz.

Basophile ca. 20 Proz.

Lymphocyten ca. 8 Proz.

Eosinophile ca. 2 Proz.

In den gefärbten Schnittpräparaten sieht man außer den gewöhnlichen Rundzellen Eosinophile in großer Anzahl. Diese liegen zu beiden Seiten der Muscularis.

Zusammenfassung.

Meine Versuche haben ergeben, daß nach Einspritzungen sich die Leukocyten im zirkulierenden Blute fast immer vermehren, und zwar waren es fast immer die neutrophilen Zellen oder die Lymphocyten. Die eosinophilen Leukocyten sah ich nie vermehrt im Blute auftreten, obgleich sie doch häufig ein großes Kontingent der Leukocyten in der Haut stellten.

Ich habe Fälle beschrieben, wobei weder vor der Einspritzung noch nach derselben eosinophile Zellen im Blute aufgetreten sind. Daraufhin kann ich wohl den Schluß ziehen, daß die eosinophilen Zellen, die ich dann in der Haut angetroffen habe, nicht aus dem Blute stammten. Deshalb kann ich auch nicht behaupten, daß es einen spezifischen Anziehungsstoff auf die Leukocyten des Blutes gibt.

Ich habe saure, alkalische und neutralreagierende Reize einwirken lassen; es hat sich keine spezifische Funktion der Leukocyten gezeigt.

Vertreten waren immer die Rundzellen, was nicht zu verwundern ist, da sich ja auch in der Haut lymphatisches Gewebe findet.

Daß gerade häufig da, wo Blut extravasirt ist, eosinophile Zellen auftreten, habe ich schon bei Anführung meiner Versuche erwähnt. Es

bleibt jetzt nur noch die Frage offen, wie es kommt, daß bei Blutextravasaten auch keine eosinophilen Zellen auftreten können, obgleich neutrophile und Rundzellen in großer Anzahl vorhanden sind.

Literatur.

- 1) Hirschfeld, H., Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Leukocyten.
- 2) Grawitz, E., Klin. Pathol. des Blutes.
- 3) Klein, St., Die Herkunft und die Bedeutung der Eosinophilie der Gewebe und des Blutes. (Centralbl. f. inn. Med. 1888. Heft 4/5.)
- 4) Stutz, Ueber eosinophile Zellen in der Schleimhaut des Darmkanals. [Diss.] Bonn 1895.
- 5) Bettmann, Die praktische Bedeutung der eosinophilen Zellen. (Volkmanns Sammlung klin. Vorträge. No. 266. 1900.)
Grünwald, W., Eine neue Art von Elementarkörnchen im Blute. (Centralbl. f. inn. Med. 1899.)
Grouven, Ueber die eosinophilen Zellen der Schleimhaut des Respirationstraktus. [Diss.] Bonn 1895.
- 6) Müller u. Rieder, Ueber Vorkommen und klinische Bedeutung der eosinophilen Zellen im zirkulierenden Blute des Menschen. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 48. 1891.)
Brandenburg, Ueber die Reaktion der Leukocyten auf die Guajak tinktur. (Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 6.)
Arneth, Die neutrophilen weißen Blutkörperchen bei Infektionskrankheiten.
- 7) Kraus u. Levaditi, Handb. d. Immunitätsforsch. Bd. 2. 1909.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkungsweise der Meerschweinchenleukocyten auf tierische Milzbrandbacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Von **E. Weil** und **K. Nunokawa**.

In mehreren Untersuchungen, die von Nunokawa, Toyosumi, Tsuda und Verfasser im Archiv f. Hygiene. Bd. 71 mitgeteilt wurden, und die sich mit der Leukocytenbakterizidie beschäftigten, konnte gezeigt werden, daß in den polynukleären Leukocyten mit Hilfe einer geeigneten Technik gegenüber den meisten Mikroorganismen wirksame Stoffe nachweisbar sind, aus deren verschiedenem Verhalten gegen die verschiedenen Keime gewisse Schlüsse auf ihre Infektiosität, Virulenzsteigerung etc. gezogen werden konnten. Es ergab sich bei den meisten Bakterien eine ziemlich gute Uebereinstimmung zwischen ihrem Verhalten im Reagensglas und Tierkörper, was auch nicht wundernehmen darf, da ja die Leukocyten Zellen darstellen, welche eine isolierte Existenz führen können, und deren Wirken innerhalb und außerhalb des Körpers möglicherweise nur quantitativ different sein kann. Eine Ausnahme bildete nach den Versuchen von Tsuda der Milzbrandbacillus, welcher von den Leukocyten des Meerschweinchens in erheblichem Maße abgetötet wurde, obzwar dieses Tier der Milzbrandinfektion sehr leicht zugänglich ist. Der Rückschluß vom Reagensglas auf den Tierkörper würde also in diesem Falle einen Fehlschluß bedeuten.

Durch die von verschiedenen Forschern ausgeführten neueren Untersuchungen wissen wir, daß der Milzbrandbacillus durch seinen Aufenthalt

in tierischen Säften sich mit einer Kapsel umgibt, welche ihn vor der Phagocytose schützt. Gruber und Futaki, dann Preisz halten den gekapselten Milzbrandbacillus außerdem noch für resistent gegenüber der Säftebakterizidie. Schon die wenigen Versuche, die Tsuda anstellte, konnten ihn nicht von der Richtigkeit dieser Annahme überzeugen und eigens zu diesem Zwecke angestellte Experimente von Toyosumi führten zu einer Ablehnung derselben. Zu gleicher Ansicht gelangte auch Fiscoeder im Gegensatz zu Gruber und Preisz.

Die genauere Untersuchung der Frage, ob die in den tierischen Säften auftretenden Veränderungen des Milzbrandbacillus tatsächlich die Ursache seiner Infektiosität sind, schien uns von Wichtigkeit und war die Veranlassung, die Versuche von Tsuda und Toyosumi zu erweitern. Wir wollten einerseits prüfen, wie sich verschiedene Milzbrandstämme, virulente und avirulente, verhielten und dann über die Wirkungsweise der Leukocyten Aufschluß erlangen, welche ja die tierischen, gekapselten Bacillen nicht phagocytieren. Wir haben 5 Milzbrandstämme verwendet, von welchen zwei, der Stamm Lissa (von Tsuda genauer beschrieben) und der Stamm Paltauf, welcher ohne Tierpassagen jahrelang im Institut fortgezüchtet wird, avirulent sind, der Stamm Buchner geringe, der Stamm Gruber, von diesem Autor freundlichst zur Verfügung gestellt, und der Stamm Sobernheim hohe Virulenz aufweisen. Wir haben uns nur auf die Leukocyten des Meerschweinchens beschränkt, weil dieses Tier der Infektion mit virulenten Milzbrandbacillen widerstandslos erliegt. Die Leukocyten wurden aus der Bauchhöhle gewonnen und die bakteriziden Versuche derart ausgeführt, wie sie in der Publikation von Weil und Toyosumi beschrieben wurden. Da es uns hier nicht auf die Feststellung ankam, ob Kulturbacillen stärker abgetötet werden als die tierischen, welche Frage schon durch die Untersuchungen von Toyosumi und Fiscoeder erledigt war, sondern nur darauf, auf welche Weise die gekapselten Bakterien unterliegen, haben wir nur letztere geprüft. Diese stammten stets aus dem Tierkörper (Kaninchen, Meerschweinchen, Maus), wurden entweder dem lebenden oder getöteten infizierten Tiere entnommen. Durch mikroskopische Präparate haben wir uns von ihrem Aussehen und ihrer Phagocytenresistenz überzeugt. Die Einsaat wurde meist auf die Art vorgenommen, daß ein Tropfen bakterienhaltiges Exsudat in ein steriles Bouillonröhrchen mit ca. 6 ccm Inhalt gegeben und hiervon ein Tropfen in jedes Röhrchen eingesät wurde¹⁾. Es wurde stets der ganze Inhalt zur Platte verarbeitet, und zwar nach 6-stündigem Aufenthalt bei 37°. Um die Phagocytose und die vitale Sekretion von bakteriziden Stoffen mit aller Sicherheit auszuschließen, haben wir zunächst nur mit abgetöteten Leukocyten (3maliges Einfrieren und Wiederauftauen) gearbeitet. Untersucht wurden 1) die abgetöteten Leukocyten samt der Extraktionsflüssigkeit, die wir in den Protokollen als Vollextrakte bezeichnen, 2) die zentrifugierte Extraktionsflüssigkeit, als Abguß, und 3) die extrahierten, abgetöteten Leukocyten in frische Flüssigkeit aufgeschwemmt, als Rückstand bezeichnet. Die sonstige Versuchsanordnung geht aus den Protokollen hervor.

1) Die Einsaat beträgt dann ungefähr 5—10 000.

Tabelle I (Stamm Paltauf).

1) Serum-Vollextrakt	85	300	150	ϕ
2) Serum 56° Vollextrakt	82		900	ϕ
3) Rückstand im Serum	72	400	320	
4) Rückstand im Serum 56°	120			
5) Abguß des Serum-Vollextrakt	23	400	600	
6) Abguß des Serum 56° Vollextrakt	4 000			
7) Kochsalz-Vollextrakt	20 000	400	8 000	25
8) Rückstand in Kochsalzlösung	20 000	15 000	10 000	
9) Abguß des Kochsalz-Vollextrakt	500	3 000	7 000	
10) Serum	6 000	800	600	85
11) Serum 56°	4 000		10 000	1 500
12) Kochsalzlösung	3 000	40 000	15 000	15 000
13) Exsudatflüssigkeit	53	80	400	2
14) Exsudatflüssigkeit 56°	27		800	7
15) Einsaat	10 000	10 000	10 000	4 000
	Kultur- bacillen	Mäuse- bacillen	Mäuse- bacillen	Mäuse- bacillen

Tabelle II (Stamm Lissa).

1) Serum-Vollextrakt	86	96	600
2) Rückstand im Serum	400	450	1 200
3) Abguß vom Serum-Vollextrakt	26	7 000	5 000
4) Kochsalz-Vollextrakt	6 000	10 000	8 000
5) Rückstand in Kochsalzlösung	12 000	6 000	12 000
6) Abguß vom Kochsalz-Vollextrakt	5 000	12 000	8 000
7) Serum	8 000	15 000	20 000
8) Kochsalzlösung	5 000	12 000	12 000
9) Exsudatflüssigkeit		400	1 500
10) Einsaat	6 000	7 000	6 000
	Mäusebacillen der I. Passage	Mäusebacillen der II. Passage	Mäusebacillen der III. Passage

Tabelle III (Stamm Buchner).

1) Serum-Vollextrakt	2	160	15	2
2) Rückstand im Serum	ϕ	220	20	5
3) Abguß vom Serum-Vollextrakt	7	150	257	18
4) Kochsalz-Vollextrakt	7 000	150	6 000	800
5) Rückstand in Kochsalzlösung	7 000	1 200	4 000	800
6) Abguß vom Kochsalz-Vollextrakt	2 500	800	6 000	250
7) Serum	25 000	30 000	30 000	8000
8) Kochsalzlösung	50 000	30 000	5 000	8000
9) Exsudatflüssigkeit		20 000	6 000	35
10) Einsaat	15 000	20 000	5 000	7000
	Mäuse- bacillen	Mäuse- bacillen	Mäusebac. d. I. Passage	Mäusebac. d. II. Pass.

Tabelle IV (Stamm Sobernheim).

1) Serum-Vollextrakt	vereinzelt	ϕ	350	ϕ	74
2) Rückstand im Serum	ϕ	ϕ	10 000	ϕ	122
3) Abguß vom Serum-Voll- extrakt	2 000	400	20 000	vereinzelt	1 000
4) Kochsalz-Vollextrakt	10 000		3 000	1 000	1 500
5) Rückstand in Kochsalz- lösung	20 000		20 000	1 000	2 000
6) Abguß vom Kochsalz- Vollextrakt	5 000		500	200	25 000
7) Serum	30 000	6000	100 000	30 000	30 000
8) Kochsalzlösung	60 000		100 000	10 000	50 000
9) Exsudatflüssigkeit	20 000		40 000	5 000	20 000
10) Einsaat	10 000	1200	15 000	15 000	7 000
	Bacillen aus Kaninchen- ödem	Kaninchen- ödem	Meerschw.- bacillen	Mäuse- bacillen	Mäuse- bacillen

Rückstand des Serum-Voll- extrakt im Serum auf- geschwemmt davon und 6 Std. bei 37° gehalten	11) Rückstand i. Serum	ϕ	116
	12) Abguß	20 000	30 000
Serum-Volleextrakt 6 Std. bei 37° gehalten	13) Rückstand i. Serum	ϕ	83
	14) Abguß	15 000	15 000
	15) Einsaat für 11) 12) 13) 14)	7 000	8 000
		Meerschw.- bacillen	Mäuse- bacillen

Tabelle V (Stamm Gruber).

1) Serum-Volleextrakt	ϕ	ϕ	ϕ
2) Rückstand im Serum	ϕ	ϕ	ϕ
3) Abguß vom Serum-Volleextrakt	ϕ	ϕ	ϕ
4) Kochsalz-Volleextrakt	32	4 000	5 000
5) Rückstand in Kochsalzlösung	28	6 000	5 000
6) Abguß vom Kochsalz-Volleextrakt	42	1 000	5 000
7) Serum	5 000	20 000	5 000
8) Kochsalzlösung	20 000	40 000	7 000
9) Exsudatflüssigkeit		vereinzelt	ϕ
10) Einsaat	7 000	12 000	5 000
11) wie Tab. IV, 11	vereinzelt	ϕ	ϕ
12) wie Tab. IV, 12	vereinzelt	ϕ	ϕ
13) Einsaat 11) und 12)	10 000	8 000	5 000
		Mäusebacillen	

Die in Tabelle I mitgeteilten Versuche wurden mit dem avirulenten Stamm Paltauf ausgeführt. Die zur Einsaat verwendeten Bakterien stammten aus der Peritonealhöhle von Mäusen, welche der intraperitonealen Infektion mit einer starken Oese Agarkultur innerhalb 24 Stunden erlagen. Die in der Bauchhöhle vorhandenen Milzbrandbacillen wiesen keine Kapseln auf. Die Versuche zeigen, daß das Meerschweinchenserum, was bei Milzbrand selten der Fall ist, bakterizid wirkt, die Bakterizidie wird bei 56° zwar abgeschwächt, aber nicht vollkommen aufgehoben, ähnlich wie die Bakterizidie des Kaninchensersums. Die Leukocyten töten jedoch den Milzbrandbacillus sowohl im Serum als auch in Kochsalzlösung. Die Wirkung der Abgüsse und Rückstände wollen wir zusammenfassend bei allen Stämmen besprechen.

Tabelle II zeigt die analogen Versuche mit dem avirulenten Stamm Lissa; auch hier kam es im Tierkörper nur bei wenigen Exemplaren zur Ausbildung von Kapseln. Während das Meerschweinchenserum hier unwirksam ist, was wir schon durch die zahlreichen Versuche von Tsuda und Toyosumi wußten, entfalten die Leukocytenextrakte meist nur im Serum, nicht aber in Kochsalzlösung bakterizide Wirkung. Darin können wir ebenfalls die Experimente von Tsuda vollinhaltlich bestätigen. Es handelt sich hierbei um die Mitwirkung eines Serum-Immunkörpers, den wir bei einem von uns untersuchten Subtilis-Stamme beschrieben und als leukotaktischen Immunkörper bezeichnet haben.

Während für die beiden beschriebenen avirulenten Stämme die Leukocytenbakterizidie nichts Auffälliges wäre, ja ihr Vorhandensein die Avirulenz bedingen könnte, so sind die folgenden, mit virulenten Keimen angestellten Versuche von größerem Interesse. Tabelle III gibt die Versuche mit Stamm Buchner wieder. Hier kommt es zur Ausbildung von typischen, gekapselten, phagocytoseresistenten Exemplaren im Peritoneum der Maus. Wir sehen jedoch auch hier eine starke Keimtötung, und zwar dort, wo die Leukocytenextrakte mit Serum, und eine geringere, wo sie mit Kochsalz hergestellt wurden. Dieser Stamm wurde auf seine

weitere Tiervirulenz nicht geprüft, sondern aus der Fähigkeit der starken Kapselbildung auf dieselbe geschlossen.

In Stamm Gruber und Sobernheim verfügen wir jedoch über zwei hochvirulente Stämme, welche in ganz geringer Dosis Mäuse und Meerschweinchen in kurzer Zeit töten. Die in Tabelle IV und V enthaltenen Versuche zeigen jedoch, daß auch gegenüber diesen Stämmen die Leukocytenbakterizidie nichts zu wünschen übrig läßt, daß sie sicherlich nicht der gegen die avirulenten Stämme nachsteht. Da Stamm Gruber ausnahmsweise von aktivem Meerschweinchenserum etwas beeinflußt wurde, so haben wir hier auch stets Proben mit inaktiviertem Serum angestellt.

Wir sehen also, daß die Leukocyten des Meerschweinchens Stoffe besitzen, welche alle von uns untersuchten Milzbrandstämmen, gleichgültig, ob dieselben virulent oder avirulent sind, in beträchtlichem Maße abtöten. Wenn wir die Wirkungsweise der Meerschweinchenleukocyten in den bisher mitgeteilten Versuchen einer Besprechung unterziehen wollen, so können wir zunächst soviel mit Sicherheit sagen, daß dieselben nicht durch Phagocytose wirken können, denn einerseits unterliegen die gekapselten Bacillen nicht der Phagocytose, andererseits sind die Leukocyten abgetötet. Bei Ausschluß der Phagocytose kann für die Leukocytenbakterizidie nur die Abgabe keimfeindlicher Stoffe in Betracht kommen. Diese kann bei lebenden Leukocyten als vitale Sekretion im Sinne von Gruber und Futaki gedacht werden. Bei abgetöteten Leukocyten kann man zunächst nur an eine Auslaugung der Leukocytenstoffe durch die Aufschwemmungsflüssigkeit denken. Wir sehen nämlich in unseren Versuchen, daß auch die abgetöteten extrahierten Leukocyten, die in allen Versuchen, um sie von der anhaftenden bakteriziden Aufschwemmungsflüssigkeit zu befreien, gewaschen wurden, noch sehr starke bakterizide Fähigkeiten aufweisen. So wirken dieselben bei Stamm Sobernheim stets stärker als die Abgüsse. Zur Erklärung der Bakterizidie der Rückstände können wir uns vorstellen, daß durch die gewaltsame Extraktion beim Gefrieren nur ein Teil der Leukocytenstoffe in Lösung geht, der übrige aber an den Leukocytentrümmern haftet und langsamer während der mehrstündigen Versuchsdauer ausgelaugt wird und zur Wirkung gelangt. So sehen wir in der Tat, daß gegenüber Stamm Gruber die extrahierten Rückstände während 6 Stunden noch bakterizide Stoffe abgeben (Tabelle V, 12), Stamm Sobernheim verhält sich jedoch ganz anders, indem hier die Abgüsse der extrahierten Rückstände wirkungslos (Tabelle IV, 12), dahingegen die zweimal extrahierten Rückstände, in frisches Serum aufgeschwemmt, noch immer starke Bakterizidie aufweisen (Tabelle IV, 13). Der Schluß, daß hier die einmal extrahierten Leukocyten keine Stoffe mehr abgeben, wäre aber nicht vollkommen gerechtfertigt, denn wir sehen, daß in einem Versuche der Abguß des Serum-Vollextraktes, der frisch wirksam ist, seine bakteriziden Fähigkeiten verliert, wenn er durch 6 Stunden mit den abgetöteten Leukocyten in Kontakt war (Tabelle IV, 14). Daraus muß man schließen, daß die abgetöteten Leukocyten nach einiger Zeit Substanzen abgeben, welche die Bakterizidie hemmen, und zwar handelt es sich wahrscheinlich um Nährstoffe. Beim Stamm Gruber würden dieselben deshalb die Bakterizidie nicht verdecken, weil dieser Stamm gegen die bakteriziden Leukocytenstoffe vielleicht empfindlicher ist. Wir werden im Verlaufe unserer Ausführungen sehen, daß noch eine andere Erklärung für die Wirkung der Leukocytentrümmer möglich ist.

Was die Bakterizidie der Abgüsse betrifft, so zeigt sich, daß die Serumabgüsse meist wirksamer sind als die Kochsalzabgüsse, was hauptsächlich in der Mitwirkung des leukotaktischen Serum-Immunkörpers seine Erklärung finden dürfte. Auffallend ist in manchen Versuchen der Umstand, daß die Kochsalz-Vollextrakte weniger bakterizid sind als die entsprechenden Abgüsse. Die Ursache davon dürfte ebenfalls darin gelegen sein, daß aus den toten Leukocyten allmählich Nährstoffe in Lösung gehen, welche die Bakterizidie stören. Die Abgüsse sind jedoch wegen der kurzdauernden Extraktion bei niedriger Temperatur frei von diesen die Bakterizidie hemmenden Stoffen.

So oft freies Exsudat in der Bauchhöhle vorhanden war, wurde die Exsudatflüssigkeit, die durch Zentrifugieren von den Leukocyten befreit war, untersucht. Gegen Stamm Buchner und Sobernheim versagt sie, tötet aber Stamm Gruber, Paltauf und Lissa ab.

Da nach unseren bisherigen Versuchen die absolute Widerstandlosigkeit des Meerschweinchens gegen Milzbrand zu den diesen Tieren zur Verfügung stehenden bakteriziden Mitteln in vollem Widerspruch steht, so wurde, um diesen Widerspruch zu lösen, eine Reihe weiterer Experimente angestellt in der Erwartung, die Milzbrandbacillen gegenüber den Meerschweinchenleukocyten resistent zu machen. Es wäre nämlich, manchen Erfahrungen entsprechend, immerhin möglich, daß man durch Tierpassagen dieses Ziel erreichen könnte. Zu diesen Versuchen wurden die beiden virulenten Stämme (Gruber, Sobernheim) benutzt. Die Passagen wurden ohne Zwischenschaltung der Kultur vorgenommen;

Tabelle VI (Stamm Gruber).

	wenige Leukocyten!				
1) Serum-Vollextrakt	25 000	200	47	123	0
2) Serum 56° Vollextrakt		20	1	132	24
3) Rückstand im Serum	8 000	120	42	98	3
4) Abguß vom Serum-Vollextrakt	3 000	54	28	76	200
5) Kochsalz-Vollextrakt	20 000	2 000	4 000	10 000	7 000
6) Rückstand in Kochsalzlösung	20 000	2 000	10 000	3 000	7 000
7) Abguß vom Kochsalz-Vollextrakt	20 000	1 000	10 000	205	4 000
8) Serum	150	30 000	5 000	25 000	20 000
9) Serum 56°		40 000	20 000	40 000	
10) Kochsalzlösung	20 000	30 000	18 000	40 000	20 000
11) Exsudatflüssigkeit		1 300	4 000	30 000	10 000
12) Exsudatflüssigkeit 56°		250	200	30 000	10 000
13) Einsaat	10 000	18 000	8 000	4 000	7 000
	Bac. d. I. Meerschw.-passage	Meerschw.-bacillen der II. Passage	Meerschw.-bacillen der III. Pass.	Meerschw.-bacillen der IV. Passage	Meerschw.-bacillen der V. Passage

Tabelle VII (Stamm Sobernheim).

1) Serum-Vollextrakt	0	0	0
2) Rückstand im Serum	0	0	62
3) Abguß vom Serum-Vollextrakt	105	0	46
4) Kochsalz-Vollextrakt	5 000	0	3 000
5) Rückstand in Kochsalzlösung	4 000	1 200	2 500
6) Abguß vom Kochsalz-Vollextrakt	150	1	1 200
7) Serum	30 000	15 000	50 000
8) Kochsalzlösung	50 000	10 000	12 000
9) Exsudatflüssigkeit	30 000	20 000	25 000
10) Einsaat	10 000	15 000	12 000
	Meerschw.-bac. d. I. Passage	Meerschw.-bac. d. II. Pass.	Meerschw.-bac. d. III. Pass.

die Infektion erfolgte intraperitoneal und die zur Weiterinfektion verwendeten Bakterien stammten aus der Peritonealhöhle der sterbend getöteten oder frisch gestorbenen Meerschweinchen (s. Tabelle VI u. VII).

Das Ergebnis dieser Versuche ist insofern ein negatives, indem die Tierpassagen den Milzbrandbacillus nicht vor der Leukocytenbakterizidie schützen. Eine Gewöhnung an die Leukocytenstoffe tritt hier wohl deshalb nicht ein, weil die Milzbrandbacillen bei ihrer hohen Infektiosität mit den Leukocyten gar nicht in Berührung kommen. Es scheint überhaupt unmöglich, Bakterien gegen Leukocytenstoffe widerstandsfähig zu machen, was bei den aktiven Serumstoffen meist leicht gelingt.

Da in den bisherigen Versuchen der bakterizide Effekt durch abgetötete Leukocyten und deren Extrakte erzielt war, so war es immerhin möglich, daß sich lebende Leukocyten anders verhalten. Denn während es sich bei den durch Gefrieren abgetöteten Leukocyten um einen passiven Uebergang der bakteriziden Stoffe durch die geschädigten Zellen handeln kann, konnten sich lebende Leukocyten dadurch unterscheiden, daß sie die bakteriziden Stoffe nicht abgeben, indem die gekapselten Milzbrandbacillen keinen Reiz auf sie ausüben. Obzwar dies nach den Versuchen von Toyosumi nicht zu erwarten war, haben wir doch eine Reihe von vergleichenden Untersuchungen zwischen Leukocytenextrakten und lebenden Leukocyten angestellt.

Tabelle VIII (Stamm Gruber).

1) Serum-Volleextrakt (3 Std.)	ϕ	500	45	84	66
2) Serum-Volleextrakt (6 Std.)	ϕ	50	38	79	48
3) Lebende Leukocyt. in Serum 56° (3 Std.)	2 500	800	250	96	54
4) Lebende Leukocyt. in Serum (6 Std.)	2 500	800	100	73	27
5) Serum 56° (3 Std.)	12 000	10 000	10 000	4 000	10 000
6) Serum (6 Std.)	15 000	30 000	10 000	6 000	12 000
7) Exsudatflüssigkeit (3 Std.)	12 000		10 000	220	7 000
8) Exsudatflüssigkeit (6 Std.)	5 000		25 000	400	600
9) Einsaat, Mäusebacillen	12 000	10 000	10 000		

Tabelle IX (Stamm Sobernheim).

1) Serum-Volleextrakt (3 Std.)	ϕ	400	ϕ
2) Serum-Volleextrakt (6 Std.)	ϕ	400	ϕ
3) Lebende Leukocyten in Serum (3 Std.)	ϕ	10 000	ϕ
4) Lebende Leukocyten in Serum (6 Std.)	ϕ	10 000	ϕ
5) Serum (3 Std.)	10 000	400 000	10 000
6) Serum (6 Std.)	30 000	∞	40 000
7) Exsudatflüssigkeit (3 Std.)			2 000
8) Exsudatflüssigkeit (6 Std.)			20 000
9) Einsaat, Mäusebacillen	4 000	40 000	3 000

In einigen Versuchen wirken in der Tat die abgetöteten Leukocyten besser als die lebenden, in den anderen tritt aber diese Differenz nicht auf; auch tritt die Leukocytenbakterizide bereits nach 3 Stunden in demselben Grade auf wie nach 6 Stunden. Also können wir den Schluß ziehen, daß auch die lebenden Leukocyten den virulenten gekapselten Milzbrandbacillus vernichten.

Da jedoch der gekapselte Milzbrand der Phagocytose nicht unterliegt, so ist die Frage zu entscheiden, auf welche Weise die Leukocyten ihre bakteriziden Fähigkeiten entfalten. Dies konnte dadurch geschehen, daß die Leukocyten an die sie umgebende Flüssigkeit spontan ihre bakteriziden Stoffe abgeben nach Art einer vitalen Sekretion. Trifft dies zu, so mußten die Flüssigkeiten, in welchen die Leukocyten längere Zeit aufgeschwemmt waren, bakterizid wirken. Die Versuchsanordnung, die in Tabelle X wiedergegeben ist, gestaltete sich folgendermaßen. Zu-

nächst wurden die Leukocyten in Serum (1) auf die gewöhnliche Weise auf Bakterizidie geprüft. Dann wurde eine zweite Leukocytenserum-aufschwemmung nach $3\frac{1}{2}$ Stunden zentrifugiert und Abguß (2) und Bodensatz (3) untersucht. In Probe 2 mußte sich zeigen, ob die Leukocyten ihre Stoffe während des $3\frac{1}{2}$ -stündigen Aufenthalts im Serum abgegeben haben. Die Leukocyten wirkten in diesen Versuchen $3\frac{1}{2}$ Stunden auf die Milzbrandbacillen ein.

Tabelle X.

	Gruber	Sobernheim	Gruber	Sobernheim	Gruber	Sobernheim	Gruber	Sobernheim
1) Leukocyten in Serum	23	0	82	0	122	86	43	0
2) Abguß nach $3\frac{1}{2}$ Std.	2 000	3 000	2 000	800	6 000	15 000	1 500	600
3) Leukocyt. vom Abguß in frisches Serum aufgeschwemmt	150	0	1	0	84	0	62	0
4) Exsudatflüssigkeit	200	6 000			800	20 000	4 000	2 000
5) Serum	5 000	4 000	3 000	6 000	8 000	35 000	12 000	1 500
6) Einsaat I	4 000	1 500	6 000	15 000	6 000	8 000	4 000	800
7) Einsaat II f. d. Abguß u. d. Leukoc. d. Abg.	4 000	5 000	6 000	8 000	7 000	10 000	8 000	1 000
	Mäusebac.	Meerschw.-Bac.	Mäusebacillen					

Diese Versuche zeigen klar, daß die Leukocyten nur ausnahmsweise und in geringer Menge in die sie umgebende Flüssigkeit bakterizide Stoffe abgeben. Dies stimmt mit den Ermittlungen von Gruber und Futaki überein, nach welchen die Leukocyten des Meerschweinchens in den Flüssigkeiten, in welchen die weißen Blutkörperchen des Huhnes und Kaninchens wirksame Stoffe abgeben, keine bakteriziden Stoffe sezernieren. Da aber nach unseren Versuchen die Meerschweinchenleukocyten in diesen Flüssigkeiten doch wirksam sind, und zwar ohne Phagocytose, so muß die Anwesenheit der Milzbrandbacillen die Ursache für die Abgabe der keimfeindlichen Stoffe darstellen. Aehnlichen Verhältnissen sind wir anlässlich früherer Untersuchungen bei Schweinerotlauf begegnet, auf welche wir hier verweisen. Wir hatten dabei die Vorstellung geäußert, daß die Schweinerotlaufbacillen eine Affinität zu den Leukocytenstoffen besitzen, vermöge welcher sie die Fähigkeit erlangen, den Leukocyten ihre wirksamen Stoffe zu entziehen. Es kann auf diesem Wege zu einer Leukocytenbakterizidie ohne Phagocytose und ohne spontane Abgabe von bakteriziden Stoffen kommen. Diese als Aphagozidie bezeichnete Wirkung kann auch bei den eben angeführten Versuchen eine Rolle spielen. Es war nun, diesem Gedankengange folgend, festzustellen, ob die Milzbrandbacillen tatsächlich eine Affinität zu den Leukocytenstoffen besitzen. Von Typhusbacillen, Choleravibrionen aus Heubacillen wußten wir dies bereits aus früheren Versuchen. Die Behandlung der Leukocytenextrakte wurde mit bei 65° abgetöteten Bakterien vorgenommen und zwar bei Typhus und Cholera mit $\frac{1}{3}$ Kultur pro Röhrchen, bei Milzbrand mit dem Bodensatz der zentrifugierten Exsudatflüssigkeit, und zwar mit einer Menge, welche der bei Typhus und Cholera ungefähr entsprach. Die Einwirkung dauerte ungefähr 1 Stunde bei 37° . Das übrige geht aus dem Versuchsprotokoll hervor.

Tabelle XI.

1) 0,7 Abguß d. Kochsalzextraktes m. Milzbrandbacillen behandelt + 0,7 Serum 56°	10 000	10 000	15 000
2) Dasselbe mit Typhusbacillen behandelt	10 000	40 000	3 000
3) Dasselbe mit Cholera behandelt	10 000	40 000	5 000
4) 0,7 Abguß d. Kochsalzextraktes + 0,7 Serum 56°	250	900	800
5) Rückstand des Kochsalzextraktes 0,7 + Milzbrandbac. + 0,7 Serum 56°		8 000	800
6) Dasselbe + Typhusbacillen		400	3 000
7) Dasselbe + Choleravibroide		15 000	3 000
8) Rückstand + Serum 56° mit Milzbrand behandelt		900	48
9) Serum	15 000	40 000	30 000
10) Serum mit Milzbrand behandelt		60 000	30 000
11) Serum behandelt mit Milzbrandbacillen ohne Einsaat	ϕ	ϕ	ϕ
12) Einsaat	7 000	30 000	8 000
	Meersch.-Bac. St. Gruber	Meersch.-Bac. Gruber	Behandlung u. Einsaat wie vorher
13) Anmerkung	Behandlung mit Meersch.-Bac. Gruber	Behandlung mit Meersch.-Bac. St. Sobernheim	

Diese Versuche zeigen, daß die abgetöteten gekapselten Milzbrandbacillen die Leukocytenextrakte unwirksam machen, indem sie die bakteriziden Stoffe binden. Diese Bindung unterscheidet sich jedoch von der Bindung der Serumimmunkörper an Bakterien dadurch, daß ihr jede Spezifität fehlt, denn wir sehen, daß auch Cholera und Typhus die für Milzbrand bakteriziden Substanzen binden. Da jedoch Pettersson festgestellt hat, daß auch die Bakterizidie der Leukocytenstoffe ein komplexer Vorgang ist, so würden unsere Versuche nicht gegen die Spezifität dieser Stoffe sprechen, da durch die Bakterienbehandlung der spezifische und nicht spezifische komplementartige Anteil gebunden sein könnte. Wir möchten jedoch darauf hinweisen, daß es Werbitzki nicht gelungen ist, die Komplexität der Wirkung der Leukocytenstoffe zu erweisen. Unsere daraufhin angestellten Versuche haben kein sicheres Resultat ergeben, so daß wir diesbezüglich noch kein Urteil abgeben können. Sollte sich jedoch die Feststellung Petterssons nicht als allgemeingültig erweisen, so wäre zwischen der Serum- und Leukocytenbakterizidie eine große Differenz darin gelegen, daß letzterer jegliche durch Bindung nachweisbare Spezifität abzusprechen ist.

Im Anschluß an diese Versuche ergab sich die Notwendigkeit, zu prüfen, ob abgetötete Bakterien auch lebenden Leukocyten die bakteriziden Stoffe entziehen.

Tabelle XII.

1) Lebende Leukocyten in 0,7 Serum + Milzbrandbac. abget.	15 000
2) Dasselbe + Typhusbacillen abgetötet	20 000
3) Dasselbe + Cholera abgetötet	15 000
4) Leb. Leukoc. + 0,7 mit Milzbrandbac. behandelt. Serum	1 500
5) Serum	40 000
6) Serum mit Milzbrandbacillen behandelt	60 000
7) Dasselbe ohne Einsaat	ϕ
8) Einsaat	7 000
	Meersch.-Bac. St. Sobernheim.

Wir sehen, daß dies auch hier der Fall ist, und zwar wiederum in nicht spezifischer Weise, indem denselben Effekt nicht nur Milzbrand-

bacillen, sondern auch Typhus und Cholera ausüben. Die Ausführung dieser Versuche stößt insofern auf Schwierigkeiten, da man zur Kontrolle der Leukocytenwirkung die Leukocyten nicht in normalem, sondern in mit Bakterien erschöpftem Serum aufschwemmen muß. Aus diesem Grunde versagt öfters die Leukocytenwirkung infolge Fehlens des oft zur Wirkung unentbehrlichen leukotaktischen Immunkörpers, was auch die Ursache ist, daß nicht alle derartigen Experimente gelingen.

Es scheint uns also auf Grund dieser Ermittlungen die Annahme nicht ohne Berechtigung zu sein, daß die Leukocyten des Meerschweinchens die gekapselten Milzbrandbacillen deshalb abtöten, weil letztere den Leukocyten ihre bakteriziden Stoffe entziehen, und zwar infolge der Affinität, welche die Milzbrandbacillen zu den Leukocytenstoffen besitzen. Wahrscheinlich spielt diese Affinität auch bei der Bakterizidie der Extrakt-rückstände eine wesentliche Rolle.

Nachdem durch diese Untersuchungen der Beweis erbracht wurde, daß das Meerschweinchen der Schutzstoffe gegen den Milzbrandbacillus nicht entbehrt, und daß alle jene Momente, welche nach den neueren Untersuchungen (Gruber und Futaki, Preis) für eine große Widerstandsfähigkeit der tierischen Milzbrandbacillen zu sprechen schienen, keine Gültigkeit haben, so stehen wir vor der rätselhaften Frage, warum das Meerschweinchen der Milzbrandinfektion widerstandslos erliegt. Dieses Rätsel wird um so größer, wenn wir in Betracht ziehen, wie viele Keime im Reagenzglase abgetötet werden, und wie wenige eine tödliche Infektion veranlassen. Wenn wir den Stamm Sobernheim berücksichtigen, so tötet nach unseren Experimenten der vierte Teil der in der Peritonealhöhle angesammelten Leukocyten 5—10 000 tierische Milzbrandbacillen ab. Ganz anders verhalten sich aber die Milzbrandbacillen im Tierkörper.

Tabelle XIII.

Die Tiere werden intraperitoneal mit Bouillon vorbehandelt und nach 18 Stunden intraperitoneal mit tierischen Bacillen aus dem Bauchhöhlenexsudat infizierter Meerschweinchen infiziert.

Meerschweinchen I.	Infiziert mit 2500 Meerschweinchenbacillen.	Nach 40 Std. im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Bacillen.	Stirbt nach 48 Std. mit typischem Befund.
Meerschweinchen II.	Infiziert mit 4200 Meerschweinchenbacillen.	Stirbt nach 60 Std. typisch.	
Meerschweinchen III.	Infiziert mit 207 Meerschweinchenbacillen.	Stirbt nach 50 Std. mit typischem Befund.	
Meerschweinchen IV.	Infiziert mit 200 Meerschweinchenbacillen.	Stirbt nach 60 Std. typisch.	
Meerschweinchen V.	Infiziert mit 800 Meerschweinchenbacillen.	Stirbt nach 56 Std. typisch.	
Meerschweinchen VI.	Infiziert mit 750 Meerschweinchenbacillen.	Stirbt nach 60 Std. mit typischem Befund.	

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die gesamten Leukocyten der Bauchhöhle nicht einmal 200 Bacillen abtöten. Diese so auffällige Differenz zwischen Reagenzglas und Tierkörper könnte man vielleicht damit erklären, daß der Milzbrandbacillus im Tierkörper den Leukocyten leicht entgeht, oder auf eine ähnliche Weise; warum spielen aber diese Momente beim Heubacillus, der sich im Reagenzglase ebenso wie der Milzbrandbacillus verhält, keine Rolle? Während der Heubacillus im Reagenzglas und Tierkörper in gleicher Weise der Leukocytenwirkung verfällt, verhält sich der Milzbrandbacillus im Tierkörper ganz anders. Dieses Ueberwinden der Leukocyten kann dadurch erfolgen, daß der

Milzbrandbacillus dieselben fernhält und dadurch mit ihnen gar nicht in Berührung kommt; da wir aber wissen, daß selbst bei angesammelten Leukocyten nur wenige Exemplare eine Infektion veranlassen, so ist es wahrscheinlicher, daß er von den Leukocyten nicht angegriffen wird, daß er sich vor den Leukocytenstoffen schützt. Dies kann entweder darin bestehen, daß der gekapselte Bacillus, wie Gruber und Futaki annehmen, die Leukocyten im Tierkörper nicht zur Abgabe reizt, oder darin, daß die Leukocytenstoffe im Tierkörper von den Milzbrandbacillen ausgeschaltet werden. Jedenfalls muß der Milzbrandbacillus im Tierkörper über eine ganz besondere Eigenschaft verfügen, um gegenüber den Schutzmitteln des Organismus Sieger zu bleiben, und diese Eigenschaft nennen wir seine Aggressivität.

Wir möchten im Anschluß an diese Untersuchungen noch eine Frage erörtern, die von allgemeinem Interesse und nicht unwichtig zu sein scheint. Die Meinungsverschiedenheiten, ob die Immunität auf Säfte- oder Zellwirkung beruht, bestehen noch fort; doch wird in neuerer Zeit den Leukocyten im allgemeinen etwas mehr Bedeutung zugeschrieben. Soviel scheint sicher zu sein, daß die Rolle, die man der Phagocytose für die Keimzerstörung zugeschrieben hat, weit überschätzt wurde. Denn es kann bei stärkster Phagocytose eine Keimvernichtung fehlen, es kann aber auch, wie diese und frühere Versuche ergeben haben, das Gegenteil eintreten. Besonders letztere Tatsache hat unsere Aufmerksamkeit auf eine besondere Form der Leukocytenbakterizidie gelenkt, die wir als Aphagozidie bezeichnet und deren Wesen wir im vorangehenden erörtert haben. Daß die Leukocyten erst auf besondere Reize hin ihre wirksamen Stoffe abgeben, ist durch die sehr interessanten Untersuchungen von Schneider gezeigt worden, welcher gefunden hat, daß gegenüber bestimmten Mikroorganismen die Leukocyten weder in konzentriertem Serum noch in physiologischer Kochsalzlösung ihre bakteriziden Substanzen abgeben, sondern erst dann, wenn sie in 5-proz. Serum aufgeschwemmt werden. Auch Gruber und Futaki haben bewiesen, daß die Unterhautgewebsflüssigkeit einen Reiz für die Abgabe der Leukocytenstoffe gegen Milzbrand abgibt. Während letzteres Reizmoment für die Leukocytenwirkung im Tierkörper eine Rolle spielen kann, haben die Untersuchungen von Schneider mehr theoretisches Interesse. Unsere Feststellungen, nach welchen die Affinität der Bakterien zu den Leukocytenstoffen den Reiz für die Abgabe derselben darstellt, kommen ausschließlich für den Tierkörper in Betracht. Wenn die Mikroorganismen nicht über besondere Mittel verfügen, die Leukocyten fernzuhalten oder den Leukocytenstoffen zu widerstehen, so kann es unter den geschilderten Bedingungen zu einer Leukocytenwirkung kommen, die als Säftewirkung imponiert und doch ausschließlich den Leukocyten zuzuschreiben ist. Aus dem Grunde würde man fehlgehen, wenn man alle extracellulär sich abspielenden keimfeindlichen Vorgänge als unabhängig von den Leukocyten erklären würde. Insbesondere dort, wo die Säfte extra corpus nicht bakterizid sind, im Organismus aber extracellulär Keime zugrunde gehen, wird man diese Umstände berücksichtigen müssen. So wäre es unserer Ansicht nach verfehlt, das extraleukocytäre Zugrundegehen der Milzbrandbacillen im Unterhautzellgewebe des Huhnes als reine Säftebakterizidie anzusehen, da ja die Säfte des Huhnes nicht bakterizid sind, die Leukocyten aber sehr starke keimfeindliche Fähigkeiten aufweisen und am Infektionsort stets in großer Menge anwesend sind. Auch bei anderen Mikroorganismen wird man, wenn eine starke Leukocyten-

bakterizide besteht, unter ähnlichen Bedingungen der Aphagozidie eine Bedeutung zuschreiben müssen.

Zusammenfassung.

1) Die Leukocyten des Meerschweinchens enthalten Stoffe, denen die Fähigkeit zukommt, die frisch aus dem infizierten Tiere gewonnenen gekapselten Milzbrandbacillen in beträchtlichem Maße abzutöten.

2) Virulente und avirulente Stämme unterliegen in gleichem Maße der Bakterizidie.

3) Durch Tierpassagen erlangen die Milzbrandbacillen keine Widerstandsfähigkeit gegen die bakteriziden Leukocytenstoffe.

4) Die Leukocytenstoffe bedürfen zu ihrer bakteriziden Wirkung bei manchen Milzbrandstämmen der Mithilfe des leukotaktischen Serumimmunkörpers, bei manchen aber sind sie ohne denselben wirksam.

5) Die lebenden Meerschweinchenleukocyten geben spontan an die sie umgebende Flüssigkeit keine oder nur geringe Mengen bakterizider Substanzen ab; trotzdem werden tierische Milzbrandbacillen von den lebenden Leukocyten abgetötet, ohne daß es zu Phagocytose kommt. Demnach müssen die Milzbrandbacillen den Reiz für die Abgabe der keimfeindlichen Stoffe darstellen.

6) Die Milzbrandbacillen binden die gegen sie wirksamen Leukocytenstoffe, jedoch in nicht spezifischer Weise, denn auch Typhusbacillen und Choleravibrionen üben denselben Effekt aus. Jedenfalls aber geht daraus hervor, daß Bakterien eine Affinität zu den Leukocytenstoffen besitzen.

7) Diese Affinität scheint auch die Ursache der Bakterizidie der lebenden Leukocyten gegen tierischen Milzbrand zu sein, indem dieselbe die Leukocyten zur Abgabe der bakteriziden Stoffe zwingt. Es handelt sich hierbei um die bereits früher beschriebene aphagozide Leukocytenwirkung.

8) Da diese Form der Bakterizidie in den Säften vor sich geht, so kann sie mit reiner Säftewirkung verwechselt werden. Man wird demnach bei allen in den Säften sich abspielenden keimfeindlichen Prozessen den Einfluß der Leukocyten erst dann ausschließen können, wenn man die Aphagozidie ausschließen kann. Dieselbe kann insbesondere bei jenen Mikroorganismen eine Rolle spielen, welche extra corpus nicht vom Serum, wohl aber von den Leukocyten abgetötet werden, und welche im Tierkörper extracellulär zugrunde gehen (Milzbrand-Huhn).

9) Da nach unseren Untersuchungen das Meerschweinchen gegen Milzbrand wirksame Schutzkräfte besitzt und da es sich doch hochempfänglich erweist, so muß der Milzbrandbacillus die Fähigkeit besitzen, sich vor den Leukocyten des Meerschweinchens zu schützen. Diese Eigenschaft nennen wir seine Aggressivität.

Literatur.

- Fischoeder, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 51.
 Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6.
 Nunokawa, Arch. f. Hyg. Bd. 71.
 Pettersson, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 46.
 Preisz, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 49.
 Schneider, Arch. f. Hyg. Bd. 70.
 Toyosumi, Arch. f. Hyg. Bd. 71.
 — Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 51.
 Tsuda, Arch. f. Hyg. Bd. 71.
 Weil u. Toyosumi, Arch. f. Hyg. Bd. 71.
 Weil, Arch. f. Hyg. Bd. 70 u. 71.
 Werbitzki, Arch. f. Hyg. Bd. 70.

*Nachdruck verboten.***Seconde contribution à l'étude de l'Anaphylaxie.**Par le Dr. **A. Fonteyne**, Assistant à l'Université de Gand.**Mélanges de sérums hétérologues in vitro à volume égal.**

Les différentes manipulations auxquelles on a soumis le sérum pour lui enlever les anticorps créant l'état d'hypersensibilité, les expériences in vivo que je viens de décrire, n'ayant donné aucun résultat probant, je me suis finalement adressé au simple mélange in vitro de sérums hétérologues.

Les divers mélanges de sérums sont employés pour rechercher les phénomènes de l'anaphylaxie. Nous avons pris les mélanges suivants :

- 1^o. Sérum lapin-cheval.
- 2^o. „ cheval-cobaye.

Nos animaux d'expérimentation sont toujours les cobayes.

Ce qui fait que dans la 1^{re} série d'expériences (lapin-cheval) nous opérons avec un mélange de 2 sérums hétérologues, alors que dans la 2^e série un sérum homologue a été mélangé avec sérum hétérologue de cheval.

Ces mélanges de sérum sont mis au froid pendant huit jours et l'expérimentation se fait comme à l'ordinaire.

1^o. Sérum lapin-cheval.

À priori, l'injection de ce mélange de sérum hétérologue semble devoir donner naissance aux phénomènes anaphylactiques avec tout leur cortège de manifestations bruyantes comme l'injection d'un seul sérum hétérologue.

C'est ce qui n'arrive pas. Les phénomènes sont beaucoup moins intenses et tous les animaux sensibilisés et soumis à réinjection survivent.

Le liquide injecté n'est donc pas un simple mélange de 2 sérums hétérologues, c'est une combinaison des 2 sérums.

Il ne donne pas lieu aux mêmes phénomènes que chaque sérum aurait donné, mais à des phénomènes pas nouveaux, mais moins intenses.

Que s'est-il passé dans ce mélange? De quelle façon les deux sérums se sont-ils modifiés? Au point de vue chimique la composition reste la même, et nous nous trouvons devant un mélange. Mais au point

de vue biologique nous sommes en présence d'une combinaison qui renferme un nombre d'antigènes anaphylactiques ou moins énergiques ou moins nombreux.

Cobaye 77 est préparé par une injection préparatoire de 0,5 c. c. du mélange des sérums susmentionnés dans le péritoine.

15 jours plus tard je lui injecte $\frac{1}{4}$ de c. c. du même sérum dans le cerveau:

10 min. après l'injection l'animal a les poils hérissés, il est mou.

$\frac{1}{2}$ h. après il a les poils hérissés, il est mou, en boule, et présente une légère dyspnée.

1 h. après l'injection l'animal va bien, et survit.

Cobaye 78 a été injecté une 1^{re} fois dans la péritoine avec 0,5 c. c. du sérum.

15 jours plus tard je lui fais une injection intra-cérébrale de $\frac{1}{4}$ de c. c.

10 min. après l'animal a les poils hérissés, il est mou, et présente une paraplégie des membres postérieurs.

$\frac{1}{2}$ h. après il a toujours les poils hérissés, il est mou, en boule, et présente de la dyspnée, toutes ces manifestations se sont dissipées une heure après l'injection et l'animal survit.

Cobaye 79, sensibilisé par une injection sous-cutanée de 1 c. c. de sérum sous la peau.

15 jours après il est réinjecté sous la peau avec 5 c. c. du même sérum.

10 minutes après l'injection l'animal est en boule, et ne présente pas d'autres symptômes.

Sérum lapin et sérum cheval mélangés à volume égal et ayant digéré pendant huit jours:

Cobayes no.	Injection pré- paratoire	Réinjection après 15 jours	Symptômes			
			après 10 m.	après $\frac{1}{2}$ h.	après 1 h.	après 2 h.
77	intrapéritonéale 0,5 c. c.	intracérébrale $\frac{1}{4}$ c. c.	poils hérissés mou, pas en boule	poils hérissés en boule, mou	bien	survit
78	intrapéritonéale 0,5 c. c.	intracérébrale $\frac{1}{4}$ c. c.	poils hérissés paraplégie du train postérieur, mou	poils hérissés en boule, mou, dys- pnée	bien	survit
79	sous-cutanée 1 c. c.	sous-cutanée 5 c. c.	en boule	bien	bien	survit

Les symptômes anaphylactiques provoqués par l'injection d'un mélange de 2 sérums hétérologues se distinguent de ceux produits par l'injection d'un seul sérum hétérologue:

1^o Par leur peu d'intensité.

2^o Par la lenteur de leur entrée en scène. L'animal en effet après une injection d'épreuve intracérébrale avec le mélange de 2 sérums, reste 20 minutes sans présenter de manifestation.

3^o Par leur peu de durée, ou leur fugacité. Une $\frac{1}{2}$ h. après l'injection tous les phénomènes ont disparus.

Un mélange de 2 sérums hétérologues donne chez le cobaye une hypersensibilité atténuée, dans sa forme, dans sa durée et dans sa gravité.

Ce mélange physique devient une combinaison biologique: Il s'est opéré un travail de digestion intime, réduisant qualitativement ou quantitativement les antigènes anaphylactiques.

2^o. Mélange de sérum de cheval et de sérum de cobaye.

Mais l'expérience devient bien plus intéressante quand au lieu de faire un mélange de 2 sérums hétérologues, l'on mélange un sérum étranger avec un sérum homologue comme cela est réalisé dans le mélange cobaye-cheval, injecté à des cobayes. Si nous injectons ce mélange extemporanément c. a. d. au moment de sa préparation et que nous réinjectons un mélange frais 15 jours après nous voyons apparaître les

phénomènes anaphylactiques avec toute leur intensité et aller jusqu'à produire la mort de l'animal.

Si au contraire nous expérimentons avec ce même mélange après 8 jours de digestion, il n'apparaît plus aucune manifestation anaphylactique.

a) Mélange de sérum de cobaye avec sérum de cheval à volume égal et employé à frais.

Cobaye 84, sensibilisé par une injection sous-cutanée de 1 c. c. du mélange.

15 jours après je lui injecte $\frac{1}{4}$ de c. c. d'un nouveau mélange frais des 2 mêmes sérums; 10 minutes après l'animal est mou et en boule, il a les poils hérissés.

$\frac{1}{2}$ h. — il présente de la dyspnée et est couché.

$\frac{3}{4}$ h. — la dyspnée est beaucoup plus intense.

1 h. après l'animal est beaucoup plus malade.

2 h. après sa respiration est saccadée, son état est désespéré.

3 h. après il est mort.

Cobaye 85 sensibilisé par une injection intrapéritonéale de 0,5 c. c.

15 jours après je lui injecte dans le cerveau $\frac{1}{4}$ de c. c. du même mélange frais.

10 min. après la réinjection l'animal a de la dyspnée, les poils hérissés, et est en boule.

1 h. dyspnée augmente pendant l'heure qui suit, l'animal est de plus en plus mou et se couche.

2 h. après l'animal va mieux, il se relève, tous les symptômes s'amendent et il survit.

Cobaye 87, préparé par une injection intrapéritonéale de 1 c. c.

15 jours plus tard il est réinjecté sous la peau avec 5 c. c. du même mélange frais. 10 min. après l'animal est mou; se met bientôt en boule.

$\frac{1}{2}$ h. après il présente une dyspnée légère après $\frac{1}{4}$ d'h. elle diminue et 1 h. après l'injection d'épreuve l'animal va bien.

b) Mélange de sérum de cobaye avec du sérum de cheval à volume égal et employé après 8 jours de digestion.

Cobaye 80 préparé par une injection intrapéritonéale de 0,5 c. c. du mélange en expérience.

15 jours une réinjection intracérébrale de $\frac{1}{4}$ de c. c. du même mélange ne donne lieu à aucune manifestation anaphylactique.

Cobaye 81 reçoit une injection préparatoire de 0,5 c. c. et est réinjecté 15 jours après dans le cerveau avec $\frac{1}{4}$ de c. c. du même mélange.

Il ne présente aucun trouble.

Cobaye 82 reçoit une 1^{re} injection sous-cutanée de 1 c. c. du mélange.

Réinjecté 15 jour après sous la peau avec 0,5 c. c. du même mélange, il ne présente aucun symptôme anaphylactique.

Sérum de cheval et sérum de cobaye mélangés à volume égal et ayant digéré pendant huit jours :

Cobayes no.	Injection préparatoire	Réinjection après 15 jours	Symptômes					
80	intrapéritonéale 0,5 c. c.	intracérébrale $\frac{1}{4}$ c. c.	rien					
81	intrapéritonéale 0,5 c. c.	intracérébrale $\frac{1}{4}$ c. c.	"					
82	sous-cutanée 1 c. c.	sous-cutanée 5 c. c.	"					
Injection des mêmes sérums immédiatement après leur mélange								
84	sous-cutanée 1 c. c.	intracérébrale $\frac{1}{4}$ c. c.	10 m. après en boule, mou	$\frac{1}{2}$ h. se couche	$\frac{3}{4}$ h. dyspnée plus forte	1 h. plus mal	2 h. respiration saccadée très malade	3 h. survit
85	intrapéritonéale 0,5 c. c.	intracérébrale $\frac{1}{4}$ c. c.	dyspnée, poils hérissés	même état	dyspnée	se couche	mieux	"
87	intrapéritonéale 0,5 c. c.	sous-cutanée 5 c. c.	mou	en boule	dyspnée légère	rien	rien	"

Ces 2 séries d'expérience montrent:

1° Que les mélangés de sérum employés extemporanément se conduisent au point de vue anaphylactique tout à fait comme un seul sérum hétérologue alors que le mélange est fait d'un sérum homologue et d'un sérum hétérologue. Le sérum étranger donne des manifestations anaphylactiques comme s'il était seul en jeu.

2° Le mélange d'un sérum de cobaye avec un sérum de cheval ayant digéré pendant huit jours ne donne lieu à aucune manifestation anaphylactique.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über direkte Einwirkung des Chinins und Methylenblaus auf Protozoen.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
Leiter Med.-Rat Prof. Dr. B. Nocht.]

Von Dr. German Anschütz,

Sanitäts-Inspektor des Gesundheitsamtes in Buenos Aires (Argentinien).

Mit 1 Tafel.

In den folgenden Zeilen soll über die Einwirkung des Chinins (Chininchlorhydrat) sowie Methylenblaus (Methylenblau medic.) allein oder bei gleichzeitiger Anwendung beider Substanzen auf Protozoen berichtet werden.

Zu unseren Versuchen haben wir Chininchlorhydrat in verschiedenen Verhältnissen wie 1 : 100, 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 6000, 7000 gelöst in isotonischer physiologischer Kochsalzlösung oder bei freilebenden Protozoen im Leitungswasser (Hamburg) angewendet.

In einer Reihe von Versuchen haben wir die Protozoen vorher mit Zitronensäure oder Alkali und dann mit Chinin mit den entsprechenden Kontrollen behandelt. —

Einwirkung des Chinins auf Plasmodium Kochi (Laveran).

Uns standen reichlich infizierte Mangabeaffen (*Cercocebus fuliginosus*), die Dr. Gonder zu seinen Malariauntersuchungen früher benutzt hatte, zur Verfügung.

Die Versuche wurden derart angestellt, daß mittels einer Platinöse zu einem gleich großen Blutstropfen ein Tropfen der betreffenden Chininlösung hinzugefügt und durchgemischt wurde. Im nativen Deckelglaspräparat (hängender Tropfen) kann man bald die Wahrnehmung machen, daß die normalen Blutkörperchen in die Tiefe des Präparates absinken, während die infizierten Blutkörperchen mehr an der Oberfläche schweben. Sie sind auch wesentlich vergrößert und geben leicht ihr Hämoglobin ab. Infolge dieser letzten Eigenschaft werden die befallenden Blutkörperchen unter Chinineinfluß wohl spezifisch leichter und schweben dann an der Oberfläche, während man sonst erwarten würde, daß gerade die infizierten Blutzellen als die spezifisch schwereren Gebilde zu Boden sinken.

Bemerkenswert ist, daß bei Anwendung von Chinin und Methylenblau in vielen anscheinend normalen Blutkörperchen eigenartige granuliert

mäandrische oder baumartig verzweigte Figuren auftreten, deren Bedeutung unbekannt ist.

Der Parasit (größerer Schizont oder Gamet) erleidet zunächst unter Chinineinfluß eine Vergrößerung seiner Gestalt (Aufblähung), und das Pigment führt je nach dem Grade der inneren Zerstörungen lebhaft Brown'sche Molekularbewegungen aus. Später kann man besonders bei den größeren Formen beobachten, daß der Zelleib des Parasiten an der Peripherie sich mehrfach einschnürt, teilweise randständig in Tröpfchen zerfällt (Molecularform), die zuweilen von dem zentralen Teil abrücken und dann mit ihm noch durch feine plasmatische Brücken in Zusammenhang stehen (Chinin 1:100, 250) (Fig. 1—5). Fertigt man von solchen tropfenförmig zerteilten Parasiten Ausstrichpräparate nach der alten Trockenmethode an, so entstehen wohl die allbekanntesten Bilder von zerrissenen Chininformen der Malariaparasiten, die von Manna-berg, Ziemann, Schaudinn und anderen eingehend beschrieben worden sind. Schaudinn gibt an, daß vegetative Formen der Malariaparasiten am leichtesten von Chinin beeinflusst werden und daß die Veränderungen sich zunächst in Zerreißung und Verzerrung des Protoplasmas äußern. Mehr Klarheit in das Wesen der Chininwirkung auf die Malariaparasiten in vivo bringt das Studium von nativen Präparaten, denen neben Chinin auch Methylenblau zugesetzt worden ist.

In diesen Fällen bemerkt man nach einiger Zeit, bei entsprechender Vergrößerung (Homog. Immers. $\frac{1}{12}$ Okular 8—12), daß das Protoplasma des Parasiten eine tropfige Entmischung erleidet. In dem aufgeblähten Zelleibe tauchen winzige Hohltröpfchen auf, die einen matten Glanz besitzen. Diese Hohlgebilde, die wohl von besonderen Verbindungen von Proteiden und Lipoiden gebildet werden, werden Kavula, und der ganze, für die Einwirkung verschiedener Pharmaka auf das Protoplasma charakteristische Vorgang der Kavulationsprozeß des Protoplasmas, genannt (Fig. 1—9).

Die Kavula sind bei größeren Formen mehr im Zentrum der Zelle zu finden, während die Peripherie des Parasiten hell bleibt.

Fertigt man aus dem derart vorbehandelten Material nach 15 Minuten Ausstriche an, so sieht man bei der Färbung nach Giemsa, daß viele Parasiten zerrissen, manche aus dem roten Blutkörperchen herausgetreten sind, bei manchen ist der Kern abgeschnürt (Fig. 11) oder die Kernsubstanz erfuhr im Innern eine staubförmige Verteilung (Fig. 12).

Die Etappen der Chininwirkung auf Plasmodium Kochi im nativen Präparat sind folgende:

- 1) Aufblähung des Parasiten und Aufhören der inneren Spannung.
- 2) Abschnürung von Plasmapartien an der Peripherie, „Moulation“.
- 3) Tropfige Entmischungen.
- 4) Kavulation des Protoplasmas.

Einwirkung des Chinins auf Proteosoma.

Nächst dem Malariaparasiten der Affen wurde der Erreger der Vogel malaria, *Proteosoma praecox* (Grassi und Feletti), in den Kreis der Untersuchungen über Chininwirkung auf Protozoen einbezogen. Für diese Versuche wurden stark mit *Proteosoma* infizierte Kanarienvögel verwendet.

Da das Chinin teilweise, wenn auch nicht stark, vom Serum absorbiert oder irgendwie unwirksam gemacht wird, wurden die Versuche zum Teil mit gewaschenem, vom Serum befreitem Blute angestellt. Nach

einer Einwirkungsdauer von 30 Minuten waren die Parasiten bei Zusatz von Chinin 1:6000 und 1:3000 in keiner sichtlichen Weise verändert.

Unter Chinineinfluß 1:2000 wurden nach 15 Minuten die Parasiten, besonders die größeren Schizonten und Gameten, lichtbrechender und das Pigment geriet in starke Molekularbewegungen, später erleidet der Parasit eine Aufblähung des Zelleibes. Chinin in einer Verdünnung von 1:1000 macht erst die Kavulation des Protoplasmas wahrnehmbar, die besonders bei Methylenblauzusatz deutlich wird (Fig. 13). Chinin 1:500 ruft bereits nach 3 Minuten die Kavulation hervor. Um Dauerpräparate zu erhalten, verfuhr ich auf folgende Weise:

In einer feuchten Kammer wurden die Parasiten dem Chinineinfluß ausgesetzt, dann nach 5 Minuten ausgestrichen, getrocknet, mit absolutem Alkohol fixiert und nach Giemsa mit Eosinazur gefärbt. Für diese Versuche wurde sowohl gewaschenes, serumbefreites als auch normales Material verwendet.

A. Gewaschenes, vom Serum befreites Proteosomamaterial: Chinin 1:2000, verleiht dem Plasma eine stumpfblaue Färbung, die Parasiten sind zum Teil unverändert, zum Teil außerhalb der Rotzelle und haften nur dem Kern, der beim Ausstreichen oft deformiert wird, an.

Chinin 1:1000 zerstört zunächst teilweise die roten Blutzellen, die Färbung der Proteosomen erleidet eine Einbuße, die Kavulation des Plasmas wird deutlich (Fig. 17).

Chinin 1:250 zeigt alle Proteosomen außerhalb der Rotzellen (Fig. 15).

B. Ungewaschenes Blutmaterial.

Chinin 1:1000 verändert nur etwas die Rotzellen, die noch die Parasiten beherbergen.

Chinin 1:200 verändert nicht die Gestalt der Proteosomen, deren Plasma sich stumpfblau oder in eigenartigen Rotnuancen färbt.

Gleichzeitig mit den Versuchen wurde die Wirkung des Chinins auf die Parasiten im Tierkörper studiert. Zu diesem Zwecke erhielten zwei Kanarienvögel $\frac{1}{4}$ ccm einer Chininlösung 1:1000 und 1:500 intramuskulär ohne Erfolg. Dieselbe Menge von Chinin 1:250 veränderte nach 24 Stunden nicht die Parasiten, die die typischen Schizogoniformen besaßen. Bei einigen wurde der von Hartmann beobachtete Blepharoplast gesehen. Nach 30 Stunden starb der behandelte Vogel, dessen Milz stark vergrößert war. Wurde die Chinindosis $\frac{3}{4}$ ccm erhöht, so starb der Vogel bereits $1\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion. Die Parasiten waren trotzdem nicht verändert.

Schließlich wurde der Versuch gemacht, Kanarienvögel mit Proteosomablut + Chinin 1:5000 und 1:1000 zu infizieren, in diesem Falle erfuhr die Infektion insofern eine Verzögerung, als erst am 14. Tage die ersten Proteosomen im Blute aufgetreten sind.

Im allgemeinen ist man zu dem Schlusse berechtigt, daß das Chinin die Vogel malaria sowohl in vitro als in vivo, nur in sehr geringem Grade beeinflusst. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei *Haemoproteus orizivorae*, nur daß das Pigment, das gröber ist, unter Chininwirkung in deutlichen Alveolen ruht (Fig. 20, 21, 22).

Chinineinwirkung auf Trypanosomen.

Trypanosoma Lewisi.

Chininlösungen 1:125 beeinflussten die Trypanosomen nach 15 Minuten, die Bewegungen wurden langsamer und nach 25 Minuten schollen die

Parasiten in der Mitte an, das Protoplasma zeigte kleine Alveolen, der Kern der Flagellaten war oft zur Seite gedrängt.

Eine Chininlösung 1:500 lieferte folgende Resultate:

Die Geißelbewegung hörte nach 40 Minuten auf, der Parasit schwell sodann an und war oft doppelt so breit als im normalen Zustande. Unter Chinineinfluß 1:1000 starben die Parasiten nach 50 Minuten ab, bei Chinin 1:2000 konnte man noch nach 24 Stunden (Eisschrank) einzelne lebende Trypanosomen finden; sie waren oft halbmondförmig nach der einen Seite gedreht. Die Mehrzahl der Parasiten war tot.

Die Chininwirkung wurde sodann mit Methylenblau in folgender Weise kombiniert: 1 Teil defibriniertes *Trypanosoma Lewisi*-Blut + 1 Teil 1:250 Chininlösung + 1 Teil 1:1000 Methylenblaulösung. In diesem Falle konnte man in den sich später aufblähenden Parasiten sehr deutlich die Kavulation des entmischten Protoplasmas beobachten. Der Periplast hob sich ab und an seiner Oberfläche tauchten minutiöse lipoidartige, etwas fettigglänzende Tröpfchen auf, deren Substanz wohl dem Periplast entstammte.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurde der Einfluß von Säuren und Alkalien auf die Chininwirkung untersucht, z. B.:

1. Versuch.

1 Teil nichtgewaschenes *Trypanosoma Lewisi*-Blut,
1 „ 1:250 Chininlösung,
1 „ 1:1000 Zitronensäurelösung,
Tod der Tryp. nach 15 Minuten.

2. Versuch.

1 Teil nichtgewaschenes *Trypanosoma Lewisi*-Blut,
1 „ 1:250 Chininlösung,
1 „ 1:1000 Kaliumkarbonatlösung,
Tod nach 10 Minuten.

Aus diesen mehrmals wiederholten Versuchen geht hervor, daß organische Säuren die Chininwirkung retardieren, während Alkalien sie beschleunigen.

Wie bei den früheren Versuchen wurden gleichzeitig Ausstriche, von dem der Chininwirkung ausgesetzten Material angefertigt und nach einer Alkoholfixierung nach Giemsa mit Eosin-Azur gefärbt (Fig. 24—28).

Nach einer Einwirkung von Chinin 1:1000 waren die Trypanosomen nach 20 Minuten deutlich normal färbbar, nach 40 Minuten konnte vielfach das Cytoplasma nicht mehr nachgewiesen werden, während vorher in ihm größere farblose Vakuolen aufgetaucht sind.

Später war nur der rotgefärbte Periplast, Blepharoplast, Kern und Randfäden der undulierenden Membran färberisch darstellbar (Fig. 21—28). In Chininlösungen 1:2000, 4000, 6000 veränderten die Trypanosomen nicht ihre Gestalt.

Chininwirkung auf *Trypanosoma Brucei*.

Für unsere Versuche stand uns ein atoxylfester Naganastamm zur Verfügung, den das Institut in Hamburg der Güte von Geheimrat Ehrlich verdankt. Zunächst wurden folgende Experimente angestellt:

1 Teil Tryp.-Blut	+ 1 Teil 1:100 Chininlösung	Tryp. nach 2 Minuten tot.
1 „ „ „	+ 1 „ 1:125 „	„ „ 4 „ „
1 „ „ „	+ 1 „ 1:250 „	„ „ 30 „ „
1 „ „ „	+ 1 „ 1:500 „	„ „ 60 „ „
1 „ „ „	+ 1 „ 1:1000 „	„ beginnen nach 4½ Stunden abzusterben, nach 6 Stunden sind alle tot.

Ebenso wie bei den früher untersuchten Parasiten wurde auch die Methylenblauwirkung mit Chinin kombiniert. Wurde 1 Teil Trypa-

nosomenblut + 1 Teil 1 : 250 Chinin + 1 Teil 1 : 200 Methylenblau gemischt, so erhielten wir folgende Ergebnisse: Nach 5—8 Minuten wurde das Karyosom des Kernes, das sich leicht blaugrün färbte, sichtbar, im Protoplasma des geblähten Trypanosoma tauchten die bekannten Kavula auf, der Periplast hob sich deutlich ab und an seiner Peripherie traten die bereits erwähnten fettartigen „Lipoidtröpfchen“ auf. Ihre Genese leite ich aus den Lipoiden, die teilweise beim Periplast vorkommen, ab; die Grundsubstanz des Periplasts bleibt nach ihrer tropfigen Absonderung erhalten (Fig. 29—32).

Wie bei den anderen Parasiten wurden auch hier nach einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten Ausstrichpräparate angefertigt und nach Giemsa mit Eosin-Azur gefärbt. Im Falle der stärkeren Chininkonzentration 1:100, 125, 250 waren zunächst die Parasiten gebläht, das Cytoplasma erfuhr stellenweise eine schwammartige Auflockerung, der Kern war in vielen Fällen vergrößert.

Nach einer 1-stündigen Einwirkungszeit von Chinin 1:500 war das Cytoplasma verschwunden, dagegen blieb der Blepharoplast, der Kern und der Randfaden der undulierenden Membran erhalten (Fig. 33—35).

Zusammenfassend kann man über die Chinineinwirkung auf Trypanosomen folgendes aussagen: In Dosen, die unter 1:1000 liegen, wurden die Trypanosomen in verschiedenen Zeiten unbeweglich, der Zelleib schwillt um das 2—3-fache seiner normalen Größe an, das Protoplasma wird tropfig entmischt und kavuliert. Später findet eine Schrumpfung des Zelleibes, die eventuell mit einer Diffusion des gelösten Plasmainhaltes durch die teilweise erhaltene Periplasthaut in Zusammenhang steht, statt. Das Chinin beeinflusst in erster Linie das Protoplasma, der Blepharoplast, der Kern und Randfaden der undulierenden Membran bleiben erhalten.

Chininwirkung auf *Spirochaeta gallinarum* (Marchoux et Salimbeni).

Chinin 1:100 tötet die Sp. (ungewaschenes Material) nach 1 Minute,

Chinin 1:125 nach 3—5 Minuten,

Chinin 1:250 teilweise nach etwa 50 Minuten ab, nach 2 Stunden waren sämtliche Spirochäten abgestorben.

Chininwirkung auf freilebende Protozoen.

Um die Chininwirkung bei größeren Formen bequemer studieren zu können, habe ich ein in Heuinfusionen sehr häufig vorkommendes Infusor, *Colpidium colpada* Stein, in diesem Sinne in den Rahmen meiner Untersuchungen einbezogen.

Nach den Untersuchungen von Giemsa und von Prowazek war es bekannt, daß Colpidien durch Chininlösungen 1:6000 etwa in $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde abgetötet werden. Die Bewegungen werden nach 10 Minuten verlangsamt, die Infusorien ziehen zunächst ihren Zelleib in der Mitte etwas ein, hernach ist das Protoplasma deutlich alveolar strukturiert, es findet eine tropfige Entmischung desselben statt, die in dem bekannten Kavulationsprozeß endigt. Die innere Strukturspannung läßt nach und die Infusorien blähen sich unter Abrundungserscheinungen stark auf; der Zelleib blaßt ab, während der Kern selbst später lichtbrechend wird.

Untersucht man diese dem Chinineinfluß ausgesetzten Infusorien im großen Dunkelfeldapparat von Zeiß, so sieht man, daß der Großkern, der sonst eigentümlicherweise einen schönen azurblauen Farbenton besitzt,

nach und nach silberglänzend wird und an Volumen verliert. Auf diese Weise kann man ziemlich genau den Eintritt des Absterbens feststellen.

Die Kavula im Zelleib erscheinen als mäßig lichtbrechende Ringe.

Im vollen Tageslichte werden die Colpidien nach 25 Minuten unbeweglich; entfernt man die mit Chinin versetzte Flüssigkeit durch Zentrifugieren sowie zweimaliges Waschen und ersetzt sie durch Leitungswasser, so können einzelne Colpidien noch zum Leben wieder erweckt werden.

Auch beim Colpidium wurde in bezug auf die Chininwirkung die vorherige Beeinflussung von organischer Säure und Alkali untersucht.

Zu diesem Zwecke wurde 1 Teil Leitungswasser mit Colpidien mit 1 Teil von Zitronensäure bzw. Kaliumkarbonatlösungen Flußwasser 1:1000 gemischt, nach 10—15 Minuten wurde 1 Teil dieser Lösung mit 1 Teil Chinin 1:3000 gemischt. Unter Einfluß der organischen Säure sterben die Colpidien nach 10 Minuten, während sie unter Alkalieinfluß bereits nach 4 Minuten tot waren. Bei höheren Chininlösungen 1:7000 lebten unter Einwirkung von Zitronensäure viele Colpidien noch nach 24 Stunden, einzelne waren nach 1 Stunde tot. Dagegen waren die Infusorien in den Kaliumkarbonatlösungen bereits nach 5 Minuten alle tot. Chinin 1:8000 tötete bei selbem Zitronensäurezusatz Colpidien im allgemeinen nicht ab, während in den Kaliumkarbonatlösungen das Absterben der Infusorien bereits nach 25 Minuten seinen Anfang nahm. Nach 2 Stunden setzte der Kavulationsprozeß des Protoplasmas ein, nach 3 Stunden waren die Organismen tot.

Cysten von Colpoda Steini wurden durch Chininlösungen 1:6000 (1 Teil Infusorienwasser + 1 Teil Chinin 1:3000) nach einer Einwirkungs-dauer von 20 Minuten nicht abgetötet, während die freien Infusorien mit Ausnahme der Polytomaflagellaten vernichtet wurden. Entfernte man nämlich das Chinin nach dieser Zeit durch zweimaliges Waschen des Cystenmaterials mit Leitungswasser (zentrifugiert) und brachte die zentrifugierten Cysten in frisches sterilisiertes Leitungswasser, dem Pepton zugesetzt wurde, so traten in diesem Kulturwasser nach 72 Stunden die ersten normalen Colpoda, die aus den unverletzten Cysten herausgeschlüpft sind, auf.

Figurenerklärung.

Alle Figuren mit homog. Immersion $\frac{1}{12}$ in der Höhe des Objektisches gezeichnet.

Fig. 1—5. Aufeinanderfolgende Etappen der Chininwirkung auf Plasmodium Kochi. Chinin 1:100 + Methylenblau. Kavulation des Protoplasmas, Zerteilung des Parasiten. (Okular 6.)

Fig. 6. Gamet von Plasmodium Kochi. Chinin 1:250 + Methylenblau 1 Stunde. (Okular 4.)

Fig. 7. Plasmodium Kochi. Chinin 1:100 + Methylenblau 1:100. (Okular 4.)

Fig. 8. Dasselbe nach 8. Fig. 9 nach 15 Minuten. (Okular 4.)

Fig. 10. Normale Schizogonie von Plasmodium Kochi. (Okular 4.)

Fig. 11. Plasmodium Kochi. Chinin + Methylenblau 1:250. Giemsa-Färbung, Abschnürung des Kernes. (Okular 4.)

Fig. 12. Plasmodium Kochi. Chinin + Methylenblau 1:100. Giemsa-Färbung. (Okular 4.)

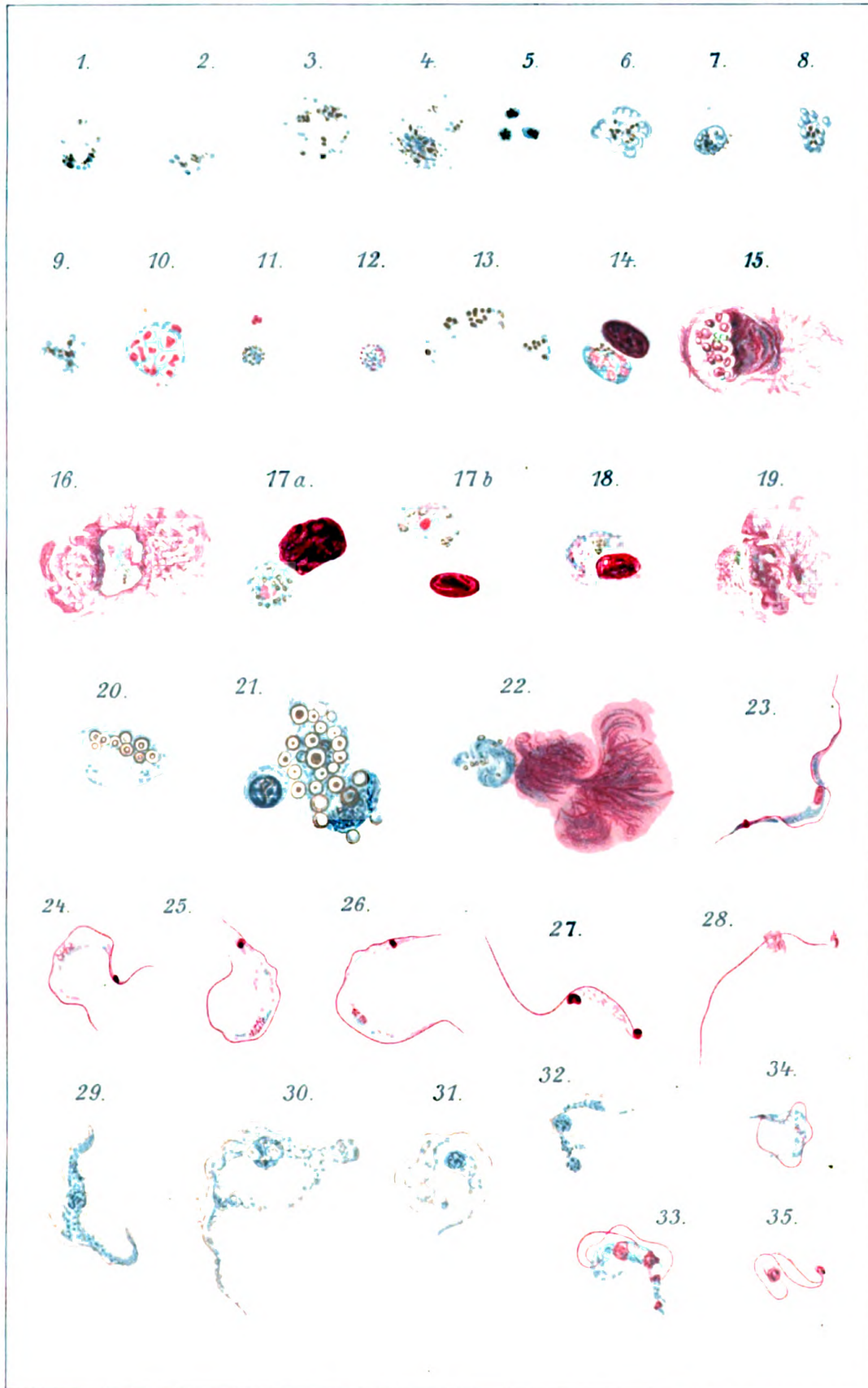
Fig. 13. Proteosoma. Chinin 1:1000 + Methylenblau 15 Minuten. Kavulation des Protoplasmas.

Fig. 14. Normale Proteosoma-Schizogonie. (Okular 4.)

Fig. 15—17. Gewaschenes, serumbefreites Proteosoma-Material. Erythrocyten sind zerflossen, Kerne (rot) zerrissen.

Fig. 15. Chinin 1:250 4 Minuten. Giemsa-Färbung. (Okular 4.)

Fig. 16. Chinin 1:500 4 Minuten. Giemsa-Färbung. (Okular 4.)



- Fig. 17a—b. Dasselbe Chinin 1:1000. Plasmakavulation.
 Fig. 18—19. Ungewaschenes Proteosoma-Material. (Okular 4.)
 Fig. 18. Proteosoma. Chinin 1:500 4 Minuten.
 Fig. 19. Proteosoma. Chinin 1:250 4 Minuten.
 Fig. 20 und 21. Haemoproteus orizivorae. Chinin + Methylenblau 1:250 nach 8—10 Minuten Wirkung. (Okular 4.)
 Fig. 22. Dasselbe.
 Fig. 23. Normales Trypanosoma Lewisi. (Okular 4.)
 Fig. 24. Trypanosoma Lewisi. Chinin 1:1000 nach 1 Minute (Vakuolen im Plasma).
 Fig. 25. Dasselbe nach 10 Minuten, Fig. 26, dasselbe nach 20 Minuten, Fig. 27, nach 40 Minuten, Fig. 28, nach 40 Minuten Einwirkung. (Okular 4.)
 Fig. 29. Trypanosoma Brucei. Chinin 1:250 + Methylenblau 1:200, Abhebung des Periplasts. Auftreten der Tröpfchen auf der Oberfläche.
 Fig. 30. Dasselbe nach 3 Minuten, Fig. 31, nach 5 Minuten.
 Fig. 32. Vollständige Zerstörung des Trypanosoma.
 Fig. 33, 34. Trypanosoma Brucei. Chinin 1:200 nach 7 Minuten Einwirkung, nach Giemsa mit Eosin-Azur. Atoxylstamm.
 Fig. 35. Chinin 1:200 nach 2 Stunden.

Nachdruck verboten.

Die Thermoresistenz junger und alter Coli-Bacillen¹⁾.

[Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
 (Dir.: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich), bakteriologisch-hygienische Abteilung (Prof. Dr. M. Neisser).]

Von Dr. J. H. Schultz und Dr. H. Ritz.

Das Bacterium coli ist seines schnellen Wachstums und seiner kulturellen Anspruchslosigkeit wegen ein vorzügliches Objekt für Untersuchungen allgemein bakterio-biologischer Art; daher ist es bei den folgenden Versuchen, die der Fragestellung unterstehen, ob und wieweit es gelingt, in einer Kultur ältere und jüngere Individuen zu differenzieren, in erster Linie herangezogen worden.

Zu diesem Zwecke wurden Kulturen verschiedenen Alters identischen Schädlichkeiten ausgesetzt, und der Effekt durch das Plattenverfahren quantitativ ermittelt. Hierbei ergeben sich je nach dem Alter der Kultur konstante Unterschiede. Zur Schädigung wurden der bequemen und genauen Dosierbarkeit wegen thermische Beeinflussungen gewählt.

Folgende Versuchsanordnung wurde innegehalten. Ein Bouillonröhrchen von 5 ccm wurde mit einer Normalöse eines kulturell typischen, aus Cystitis-Urin isolierten Coli geimpft. Nach 24-stündigem Wachstum wurde ein Teil der gutdurchgeschüttelten Kultur mit physiologischer Kochsalzlösung von 37° auf 1000 verdünnt, und eine größere Anzahl 5 ccm-Bouillonröhrchen von 37° mit je 2 Tropfen dieser Verdünnung beschickt. 2 Tropfen wurden zu gleicher Zeit zu einer Platte ausgegossen, um die Menge der eingesäten Keime festzulegen²⁾. Der nun beginnende Versuch wurde in zwei Parallelreihen durchgeführt, indem nach bestimmten Zeiten je ein Röhrchen ohne jede Beeinflussung zu Platten gegossen, ein

1) Vorstehende Arbeit ist bereits im Mai 1909 abgeschlossen worden. Aus äußeren Gründen konnte die Veröffentlichung erst jetzt erfolgen.

2) Außerdem wurde durch einen Endo-Plattensatz bei jedem Versuch die Reinheit der benutzten Kultur geprüft.

anderes vorher eine gewisse Zeit lang im Wasserbade einer bestimmten Temperatur ausgesetzt wurde.

Die Verdünnung zum Plattengießen — es wurden stets mehrere Platten mit fallenden Mengen derselben Probe hergestellt — geschah mit physiologischer Kochsalzlösung von 37°; zu jedem Verdünnungsschritt wurde eine neue, vorher auf 37° erwärmte Pipette genommen. Die Auszählung der Platten geschah mikroskopisch.

Nach einigen Vorversuchen erwies sich die Einwirkung einer Temperatur von 53° während 25 Minuten als optimal für die Versuche mit diesem Stamm¹⁾; hierbei zeigte sich in einer größeren Zahl von Versuchen, daß diese Schädigung Kulturen im Alter von 3—6 Stunden⁴⁾ völlig wachstumsunfähig macht — die Platten blieben steril — während nach 8, 9 und mehr Stunden²⁾ Bakterien in so reichlicher Menge überlebten, daß der Unterschied der Kolonieenzahl gegenüber den zu gleicher Zeit gegossenen Platten von ungestört wachsenden Proben oft nur sehr gering, öfter unnachweislich war. Auch nach 13 und 24 Stunden war der Einfluß der Erhitzung mit dem Plattenverfahren nicht mehr zu demonstrieren.

Da noch die Möglichkeit bestand, das Phänomen rein mechanisch zu erklären, indem in der stärker durchwachsenen Bouillon die zentral befindlichen Keime durch die peripher liegenden Mengen irgendwie geschützt wurden — obwohl dies schon nach der guten Uebereinstimmung den Plattenzahlen sehr unwahrscheinlich war — so wurde bei einigen Versuchen das Bouillonröhrchen während der Erhitzung dauernd lebhaft geschüttelt. Die Resultate blieben hierdurch unbeeinflusst.

Es wurden nun noch eine Reihe Versuche nach kürzeren Wachstumszeiten angestellt. Hierbei ergab sich in Bestätigung älterer Beobachtungen, daß die Zahl der eingebrachten Keime zunächst eine gewisse Zeitlang gleich bleibt, um dann, in seltenen Fällen anscheinend sogar nach einer geringen Verminderung, nach 2—3 Stunden sehr erheblich anzusteigen. Diese Zunahme schreitet von 3—6 Stunden lebhaft fort, während später die Zahl der im Plattenverfahren nachweislichen Keime nur noch unerheblich anwächst. Völlig anders fallen die Aussaaten der erhitzten Röhrchen aus. Hier zeigt sich nach 10—30 Minuten eine gewisse Anzahl der eingesäten Keime auch nach Erhitzung wachstumsfähig, nach 30—90 Minuten erheblich weniger; nach 2—3 Stunden schon blieben die Platten öfter steril oder zeigten nur ganz vereinzelt Kolonien. Von 3—6 Stunden blieben alle Keime wachstumsunfähig, nach 8, 9 und mehr Stunden dagegen zeigte sich kaum ein Unterschied der Kolonieenzahl zu den unbeeinflusst gewachsenen Kolonien.

So lag eine Reihenbeobachtung von 10 Minuten bis 24 Stunden nach der Einsaat vor.

Bei der deutlichen Abhängigkeit der Thermoresistenz der beobachteten Kulturen von ihrem Alter lag es nahe, in Wachstums- oder Fortpflanzungsphasen des Bakteriums eine Erklärung zu suchen. Doch ergaben sich hier einige Schwierigkeiten.

Es sei daher gestattet, nochmals kurz auf die vorliegenden Beobachtungen hinzuweisen; es unterscheiden sich leicht drei Perioden:

1) Für andere Coli-Arten etc. haben wir die entsprechenden Temperaturen noch nicht gefunden.

2) Diese Zahlen stellen den Durchschnitt dar. Abweichungen nach oben und unten sind häufig.

1) 10—180 Minuten nach der Einsaat: Gleichbleibende Keimzahl in den unbeeinflussten „Kontroll“-Kulturen, Absinken der Anzahl thermoresistenter Keime in den erhitzten „Versuchs“-Kulturen bis zur Sterilität.

2) 3—6 Stunden nach der Einsaat: Starke Keimvermehrung in den Kontrollkulturen, bei Abtötung sämtlicher Keime in den Versuchskulturen.

3) 8—24 Stunden nach der Einsaat: Annähernd, oft völlig gleiche Keimzahl in Kontroll- und Versuchskulturen.

Die Untersuchung der Kontrollreihe mittels Plattenverfahren kurz nach der Einsaat (10—180 Minuten) gibt ein Bild, was eine solche Ueberpflanzung an und für sich bedeutet. Ein naheliegender Fehler, nämlich der, in zimmerwarme Bouillon zu übertragen, wurde hier dadurch ausgeschaltet, daß die Versuchsröhrchen sich vorher 24 Stunden im Brutschrank befanden¹⁾. So kann von einer Beeinflussung durch Abkühlung nicht die Rede sein, die zwar Versuchs- und Kontrollkulturen in gleicher Weise betroffen hätte, aber die Durchsichtigkeit der Versuchsanordnung trüben würde. Es kommt daher für die Deutung des Gleichbleibens der Keimzahl in den ersten 2—3 Stunden zunächst das gänzlich neue, unberührte, vielleicht noch nicht irgendwie veränderte Nährmedium in Frage, d. h. es stellt sich das bekannte Phänomen der Wachstumslatenz dar. Von der zur Anlegung der Versuchskulturen benutzten 24-stündigen Bouillonkultur darf wohl nach früheren Beobachtungen, die an den Kontrollreihen bestätigt werden konnten, angenommen werden, daß sie sich im Dauerzustand der Keimzahl befand, entsprechend einer ziemlich reichlichen Entwicklung „wachstumshemmender“ Substanzen verschiedener Herkunft. Man könnte daher erwarten, daß die Uebertragung in ein gänzlich unberührtes Medium ein explosionsartiges Wachstum bedingt.

Der Versuch zeigt nun, daß in den ersten 2—3 Stunden eine im Plattenverfahren nachweisbare Vermehrung nicht stattfindet, und man wird annehmen dürfen, daß die auf der Platte gefundenen Bakterienkolonien im wesentlichen aus den der alten Kultur entnommenen Keimen stammen. Diese aber müßten doch, entsprechend den vorher mitgeteilten Versuchen, über die Thermoresistenz von 9-stündigen und älteren Bakterien thermoresistent sein. Das ist aber keineswegs der Fall; wir sehen die Zahl der thermoresistenten Keime sinken, ja fast den Nullpunkt erreichen, lange ehe die Keimzahl der Kontrollreihe eine Veränderung zeigt. Es sind also der Zahl der entstehenden Kolonien nach wohl unveränderte „alte“ Keime da, aber die fortschreitende Verminderung der Anzahl thermoresistenter Keime zeigt, daß mit diesen „alten“ Individuen Veränderungen vorgehen, Veränderungen, die sich zunehmend entwickeln, bis von 3, 4 bis 6 Stunden kein einziger thermoresistenter Keim mehr nachweislich ist. Zu gleicher Zeit aber erfolgt die bekannte rapide Vermehrung der Keimzahl in den Kontrollkulturen.

Daher möchten wir die Erscheinungen in den ersten 3 Stunden so deuten, daß hier eine erste Fortpflanzungsphase vorliegt. Noch hat sie nicht bei allen Keimen zu wesentlichen Veränderungen geführt, ja von einer vollständigen Spaltung kann noch nicht die Rede sein. Denn sie müßte sich in einer Zunahme der Plattenkolonien äußern. Und doch liegt bereits eine wesentliche Umstimmung — vielleicht inkomplette Teilung oder dgl. — vor, die sich auch in einer Herabsetzung der

1) Bouillonröhrchen von Zimmertemperatur nehmen im Brutschrank erst nach 1—2 Stunden 37° an.

Thermoresistenz äußert. Wie sich nun ein Keim nach dem anderen anschickt, in diese Phase einzutreten, sinkt fortschreitend die Zahl der thermoresistenten Individuen, während doch das sprossende Bakterium noch eine Einheit darstellt und so auch auf der Platte zur Entwicklung einer Kolonie führt.

Dem entspricht der Befund in der zweiten Wachstumsperiode. Die Kontrolle zeigt uns ein rapides Emporschnellen der Koloniezahlen, das die lebhafteste Spaltungstätigkeit der Keime beweist; die erhitzten Kulturen derselben Zeit (3–6 Stunden) aber bleiben steril. So scheint es auch hier, daß zu einer Zeit, wo reichlich junge Mikroorganismen sich ausbilden, im Vergleiche zu den im Ruhezustande befindlichen Keimen älterer Kulturen eine erhöhte Empfindlichkeit besteht, so daß in Perioden rapiden Wachstums kein Individuum der Schädigung gewachsen ist.

Dieselbe Ueberlegung trifft für die dritte Wachstumsphase (8 bis 24 Stunden) zu; die gleichbleibende Keimzahl der Kontrollen läßt uns annehmen, daß hier keine lebhaften Neubildungsprozesse vor sich gehen. Denn diese würden kaum mit den entsprechenden Absterbeprozessen älterer Individuen so arithmetisch genau Schritt halten. Es herrscht, wie schon früher angenommen wurde, ein Ruhezustand, und junge oder sprossende Individuen sind, wenn überhaupt, in so geringer Zahl vorhanden, daß der Nachweis ihrer Abtötung durch Erhitzung mit dem Plattenverfahren nicht gelingt.

Von den zahlreichen Anwendungsmöglichkeiten der vorstehenden Ueberlegungen möchten wir nur eine berühren, das ist die Analogie, die zwischen den mitgeteilten Befunden und der Abtötung bzw. Hemmung junger und alter Kulturen durch chemische Desinfektionsmittel besteht.

Von den 13 eindeutigen Versuchen seien zur Illustration folgende Protokolle gegeben:

Tabelle 1.

2 Tropfen der 24-stündigen auf 1000 verdünnten Bouillonkultur des Versuchsbakteriums (Urin-Coli 345) enthalten 3277 Keime (Aussaat).

Die mit dieser Menge beschickten 5 ccm-Bouillonröhrchen werden nach 4, 9 und 13 Stunden mit und ohne Erhitzung auf 53° während 25 Minuten zu Plattensätzen verarbeitet.

Zeit	Verdünnungsgrad zum Plattenguß	Kolonieenzahl	
		ohne Erhitzen	mit Erhitzen
4 Stunden	unverdünnt		0
	1:100	946	0
	1:1000	99	—
	1:10 000	14	0
9 Stunden	1:100	∞	∞
	1:10 000	6885	2661
	1:1 000 000	60	0
13 Stunden	1:100	∞	∞
	1:10 000	5738	6207
	1:1 000 000	77	61

Kontroll-Endo-Satz ergibt reines Coli.

Tabelle 2.

Ansatz wie bei 1.

Aussaat: ∞ .

Untersuchung nach 4, 7 und 9 Stunden, hierbei nach 9 Stunden Schüttelkontrolle.

Zeit	Verdünnungsgrad beim Plattenguß	Kolonieenzahl		
		ohne Erhitzung	mit Erhitzung	mit Erhitzung und Schütteln
4 Stunden	unverdünnt		0	—
	1:100	∞	0	—
	1:1000	ca. 30 000	0	—
	1:10 000	6 888	—	—
7 Stunden	unverdünnt		∞	—
	1:100	∞	ca. 100 000	—
	1:1000	ca. 100 000		—
	1:10 000	14 718	16 322	—
9 Stunden	1:100	∞	∞	∞
	1:10 000	24 588	15 269	16 584
	1:1 000 000	296	188	172

Endo-Satz rein.

Tabelle 3.

Ansatz wie oben.

Aussaat: 7998.

Beobachtung nach 20, 50 und 90 Minuten.

Zeit	Verdünnungsgrad beim Plattenguß	Kolonieenzahl	
		ohne Erhitzung	mit Erhitzung
20 Minuten	unverdünnt	—	357
	1:100	70	5
	1:1000	11	—
	1:10 000	2	0
50 Minuten	unverdünnt	—	64
	1:100	81	1
	1:1000	12	—
	1:10 000	0	0
90 Minuten	unverdünnt	—	14
	1:100	236	0
	1:1000	35	—
	1:10 000	5	0

Endo-Satz rein.

Zusammenfassung.

1) Die von uns benutzte Coli-Kultur ist in verschiedenen Wachstumsphasen ungleich empfindlich gegen Erhitzung auf 53° während 25 Minuten (3—6 Stunden Sterilisierung, 8—24 Stunden nach Ausweis des Plattenverfahrens keine Beeinflussung).

2) Eine 24-stündige Bouillonkultur des von uns benutzten Coli zeigt bei Ueberimpfen auf frisches Nährmaterial schon nach kurzer Zeit eine Aenderung fast sämtlicher Individuen, die als Thermolabilität in Erscheinung tritt und als Fortpflanzungsbeginn zu deuten ist. Durch Zählung unerhitzter Kulturen läßt sich dieser Zustand nicht erkennen.

3) In den nächsten Stunden der rapiden Fortpflanzung ist Thermolabilität aller Individuen vorhanden.

4) Im folgenden Stadium („Ruhezustand“) findet eine Bildung thermolabiler Individuen in so geringem Maße statt, daß sie zählerisch nicht oder kaum nachweisbar ist.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertigestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>d'Agata, Giuseppe, Ueber die sogenannten gaserzeugenden Infektionen beim Menschen, p. 218.</p> <p>Anschütz, German, Untersuchungen über direkte Einwirkung des Chinins und Methylenblaus auf Protozoen, p. 277.</p> <p>Bahr, L., Ueber Ratin II, p. 228.</p> <p>Bahr, L., Raebiger, H. und Grosso, G., Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtnergruppe, p. 231.</p> <p>v. Betegh, L., Weitere Beiträge zur experimentellen Tuberkulose der Meeresfische, nebst Studien über die Transmutationsfrage der Warmblütertuberkulosebacillen, p. 220.</p> <p>Burri, E., Zur Frage der „Mutationen“ bei Bakterien der Coli-Gruppe, p. 210.</p> <p>Fonteyne, A., Seconde contribution à l'étude de l'Anaphylaxie, p. 274.</p> <p>Galli-Valerio, B., L'état actuel de nos connaissances sur le rôle des mouches dans la dissémination des maladies para-</p> | <p>sitaires et sur les moyens de lutte à employer contre elles, p. 193.</p> <p>Gonder, E. und Bodenwaldt, E., Experimentelle Untersuchungen über Affenmalaria, p. 236.</p> <p>Hock, Richard, Ueber die Reaktion der Leukocyten auf gewisse chemische Reize in der Haut und im Blute der weißen Maus, p. 247.</p> <p>Mc Intosh, James, On the absence of spirochaetes in mouse tumours, p. 235.</p> <p>Scheremezinsky, Marie, Zur Lehre von der Toxiinfektion, p. 241.</p> <p>Schrumpf, P., Ueber die durch abgetötete Tuberkelbacillen beim Menschen und beim Tiere hervorgerufene „Pseudotuberkulose“, p. 216.</p> <p>Schultz, J. H. und Ritz, H., Die Thermoresistenz junger und alter Coli-Bacillen, p. 283.</p> <p>Weil, E. und Nunokawa, K., Ueber die Wirkungsweise der Meerschweinchenleukocyten auf tierische Milzbrandbacillen, p. 262.</p> |
|---|---|

Nachdruck verboten.

Die Form der tiefliegenden Bakterien- und Hefekolonien¹⁾.

Von Dr. Franz Orsós,

Prosektor am städtischen Krankenhause zu Pécs, Ungarn.

Mit 36 Figuren.

Inhalt.

- A. Einleitung und Literaturübersicht.
- B. Eigene Untersuchungen.
 - I. Gasblasenversuche.
 - II. Entstehung der Form der Tiefenkolonien.
 - 1) Allgemeines.
 - 2) Formen der Agarmedien.
 - 3) Formen der Gelatine- und Gelatineagarmedien.
 - III. Versuchsbelege.
 - IV. Anhang über die Form der Oberflächenkolonien.
- C. Zusammenfassung.

Im Jahre 1905 machte ich die Beobachtung, daß die Tiefenkolonien dreier fakultativ anaërober Stämme von *Bacillus aërogenes capsulatus* in Agarnährböden eine regelmäßige Linsenform, in Nährgelatine aber eine Saturnusform haben. Zuerst glaubte ich, vor einer isolierten Tatsache zu stehen, bald konnte ich aber durch Prüfung einer größeren Anzahl verschiedener Bakterienarten feststellen, daß bei allen Bakterien, die kein besonderes Peptonisier- oder Durchwachsungsvermögen haben, in Agar die regelmäßige Linsenform und in Gelatine die Kugelform die Grundform der Tiefenkolonien ist. Als Uebergangsform zwischen ersteren ergab sich die Saturnusform, welche bei mit besonderer Wachstumsintensität begabten Bakterienarten, wie z. B. bei den von mir untersuchten *Bacillus aërogenes capsulatus*-Stämmen, auch in der üblichen Nährgelatine, bei anderen Arten aber in Agargelatinegemischen ganz konstant erhaltbar war.

Einen Anlaß zur Wiederaufnahme dieser Untersuchungen gab die Wahrnehmung, daß in zuckerfreier, mit Soda etwas stärker alkalisierter Gelatine von einer obligat aëroben (nur 1—2 mm tief wachsenden) Wasserbakterie, offenbar infolge Säurebildung, auch in der Tiefe gleichmäßig verteilte, aber regellos gelagerte, vollkommen regelmäßige Gaslinsen entstanden.

Im folgenden sei es mir nun gestattet, das Resultat meiner in dieser Richtung bisher angestellten Beobachtungen vorzulegen. Meine Ausführungen habe ich durch eine größere Anzahl von Abbildungen belegt, da dieselben die verschiedenen Kolonieförmigkeiten besser veranschaulichen, als jede Beschreibung. Die einzelnen Figuren sind keine willkürlich konstruierten Schemata, sondern genaue Kontur- oder Vollbilder der entsprechenden Kolonien, welche teils bei durchfallendem, teils bei mit diesem kombinierten Oberlichte gezeichnet wurden.

Literaturübersicht.

In den bakteriologischen Lehr- und Handbüchern finden wir die Form der Tiefenkolonien meist ganz kurz abgehandelt. Es kehren die

1) Ein Teil dieser Arbeit wurde im Auszuge auf dem XVI. Internat. medizinischen Kongreß zu Budapest (31. Aug. 1909) vorgetragen.

stereotypen Bezeichnungen rundlich bis wetzsteinförmig oder coliähnlich wieder, und dabei wird oft nicht einmal die Art des Nährbodens genau angegeben. Escherich und Pfaundler¹⁾ beschreiben z. B. die Form der Tiefenkolonien des *Bacterium coli* in Gelatineplatten als teils oval und mit hellem Saume umgeben („einem Bandwurmei vergleichbar“), teils wetzstein- (!) oder schuppenförmig, und in Agar als wetzsteinförmige oder rundliche Knollen. F. Neufeld²⁾ bezeichnet die Tiefenkolonien des *Typhusbacillus* in Gelatine als kreisförmige oder ovale, oft auch als wetzsteinförmige (!) scharf begrenzte Formen.

Aus diesen herkömmlichen Formbezeichnungen, welche sich ja eigentlich nur auf den optischen Umfang der Kolonien beziehen, konnten nur falsche Vorstellungen über die wahre Form der Kolonien im Raume gewonnen werden. Der Grund dieser unklaren Auffassung beruht in erster Reihe auf der monokularen Betrachtung, der beim mikroskopischen Sehen größtenteils auch die Akkommodation abgeht, und folglich die stereoskopische Konfiguration der Kolonien nicht zum Vorschein kommen kann. Diese unrichtige zweidimensionale Anschauung wurde auch auf die zeichnerische Darstellung übertragen, indem man die den verschiedenen Lagen der linsenförmigen Kolonien entsprechenden Bilder gleich dunkel zeichnete.

Auf die spärliche Literatur über die Entstehung der Kolonien überhaupt gehe ich nicht näher ein. Die bezughabenden Daten werde ich bei der Schilderung meiner eigenen Befunde berücksichtigen. Hier will ich nur die mit der Form der Tiefenkolonien der Spalt- und Sproßpilze eingehender sich befassenden Arbeiten kurz anführen.

Schon im Jahre 1891 machte Jendrassik (1) die interessante Beobachtung, daß mehrere Bakterienarten geometrisch regelmäßige Tiefenkolonien bilden. Er unterscheidet: 1) das Monophyllon, welches die Form einer linsenförmigen Scheibe hat; 2) das Triphyllon, welches aus drei an einer gemeinsamen Achse unter je 120°-igen Winkeln zusammenstehenden Blättern besteht; 3) das Hexaphyllon besitzt 6 Blätter, die sich derartig um einen gemeinsamen Mittelpunkt gruppieren, daß sie miteinander Winkel von 120° einschließen. Diese Formation entspricht einem Tetraëder, dessen Kanten nach der Peripherie zu Flächen ausgewachsen sind. Die einzelnen Blätter sollen ganz flach bleiben. Außerdem beschrieb Jendrassik an diesen Kolonien kleinere „sekundäre“ Auswüchse, die stets vom Entwicklungszentrum ausgehen und unter einem gewissen Winkel zu den sie umgebenden Hauptblättern stehen.

Alle diese Formationen entwickeln sich schon von vornherein in ihrer definitiven Form, die konstant ist; niemals wurde eine Umwandlung einer Figur in die andere gesehen. Ihre Bildung führt Jendrassik auf polare Eigenschaften der Bakterien zurück. Unter Polus versteht er die Verbindungsstellen der Bakterienindividuen. Die Frage, ob nicht eine Spaltung des Agars diese Formen bedingen könnte, hat Jendrassik nicht sicher entschieden, führt aber gegen die Möglichkeit dieser Annahme mehrere Einwände an. Er betont unter anderem, daß der Raum des verbrauchten Agars von der davon sich aufbauenden Bakterienmasse ohne bedeutendere Volumsdifferenzen eingenommen wird.

Will (2) hat für die untergärigen Bierhefen (in und auf festen Nährböden) 3 Wachstumstypen der Einzellkolonien unterschieden. Als

1) Kollé-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 2. p. 344.

2) Kollé-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 2. p. 209.

regelmäßige (Typus I) Kolonien bezeichnet er diejenigen, welche Linsen-, Kugel-, Halbkugel- oder Zapfenform besitzen. „Die Peripherie dieser Kolonien zeigt nur diejenigen Unebenheiten und Einbuchtungen, welche bei der Aneinanderlagerung von kugelförmigen und ellipsoidischen Körpern immer entstehen und bei der relativ bedeutenden Größe der Hefezellen schärfer hervortreten („Maulbeerform“). Der Querschnitt der regelmäßigen Kolonien erscheint in jeder Höhe der Einstellung rundlich.“

Der letzte Satz beweist allein schon, daß Will nur kugelige Tiefenkolonien kannte und die Linsenform nur Oberflächenkolonien zuschrieb. Die Halbkugel- und Zapfenform beobachtete er an über die Gelatineoberfläche hervorbrechenden Kolonien. Ueberhaupt finden wir in der Arbeit Wills keine streng durchgeführte Sonderung der oberflächlichen und tiefliegenden Kolonien. Daß er die von uns als linsenförmig bezeichneten Kolonien nicht kannte, geht schon aus dem Umstande mit Gewißheit hervor, daß er nur mit Gelatine arbeitete, in der aber, wie es sich ergeben wird, die Linsenform nicht vorkommt.

Nach Saul (3) bieten „die Tiefenkolonien eine Reihe scharf ausgeprägter Charaktere dar, welche die Unterscheidung mehrerer Typen ermöglichen. Man unterscheidet die Kugelform, die Scheibenform und die Form des Dreiblattes. Zwischen jedem dieser 3 Typen finden sich zahlreiche Uebergänge.“ Die Blätter, welche das Dreiblatt zusammensetzen, zeigen die Form kreisrunder, unter gleichem Winkel gegeneinander geneigter Scheiben.

Der Hauptteil der Saulschen Arbeit bezieht sich auf die Form mehrere Monate alter tiefliegender Agarkolonien, welche infolge wiederholter Verdünnung des Ausgangsmaterials für ihre ungehinderte Entwicklung Raum fanden. Er unterscheidet an diesen locker gefügten Riesenkolonien Stamm, Aeste und Laub. Der Stamm, welcher dem Scheibenteile der Kolonie entspricht, teilt sich an einem Pole dichotomisch derart, daß ein starker und ein schwacher Ast auftritt. Bleibt der schwächere Ast rudimentär, so erscheint die Kolonie in der Form einer Scheibe, welche an der Stelle des rudimentären Astes eine buckelartige Exkreszenz besitzt. An den Aesten sind die feineren und feinsten Verzweigungen endständig angeordnet, welche das morphologische Analogon der Laubmassen höherer Pflanzen darstellen, und welche für die Art charakteristische Form und Anordnung darbieten. Das ganze System dieser Verzweigungen wird von dem Prinzip der Dichotomie (im anatomischen Sinne) beherrscht. Saul hält diese Kolonien für Einheiten höchster Ordnung, die als Organismus bezeichnet werden können und deren einzelne Segmente an die Zellen der Metazoen (im Sinne der Altmanschen Granulattheorie) erinnern.

Prinzipiell Neues finden wir in der interessanten Beobachtung Sauls nicht. Die Laubmassen und teils auch die Aeste seiner Kolonien entsprechen dem Wesen nach den knospen- und wurzelartigen Auswüchsen, die vor ihm von mehreren (Will, Rosenthal, Klie, Dunham, Piorkowski u. a.), allerdings unter anderen Umständen, nämlich an jungen Kolonien und in ganz weichen Nährböden, beobachtet wurden. Originell ist aber die Deutung, die Saul von diesen komplizierten Kolonieformen gibt. Daß es sich hier jedoch nicht um Einheiten höherer Ordnung, oder um einen Organismus, sondern um das durch sekundäre, auf physikalischen und biologischen Gesetzen beruhenden inneren und äußeren Einflüsse veränderte Weiterwachsen der einfacher geformten ursprünglichen Kolonien handelt, werden wir weiter unten zeigen

können. Einen diagnostischen Wert können diese späteren Wachstumsformen der Kolonien nur dann haben, wenn dieselben in gleichen Nährböden unter strenger Einhaltung gleicher Bedingungen erhalten werden. Viel verliert aber ihre Bedeutung dadurch, daß zu ihrer Entstehung auch mehrere Monate nötig sind.

Sehr merkwürdig erscheint mir die Angabe Dunhams (4), daß in sehr konzentrierten Nährmedien linsenförmige Kolonien mit stark gewellter Umrandung entstehen. Die von mir gesehenen Linsenkolonien waren in konzentrierten Medien gerade am regelmäßigsten.

In neuester Zeit hat sich Hutchinson (5) mit der Form der Kolonien niederer Pilze befaßt. Den Hutchinsonschen Ausführungen über die Entstehung der tiefliegenden Kolonien haftet eine gewisse Unbestimmtheit an. In seiner Zusammenfassung spricht er sich in folgender Weise über die in Rede stehende Frage aus: „Die große Aehnlichkeit der Form der tiefliegenden, d. h. völlig im Nährmedium eingeschlossenen Kolonien mit Hohlräumen, die durch Gase gebildet werden, oder mit der Gestalt freischwebender Flüssigkeitstropfen macht es wahrscheinlich, daß bei der Bildung der Gestalt der Kolonien dieselben Kräfte tätig sind, welche den Gasblasen ihre Gestalt verleihen, und daß die Gestaltung der Kolonien sowohl als auch der Gasblasen unter dem Einfluß gewisser physikalischer Eigenschaften des Nährmediums, namentlich dessen Elastizität, Kohäsion und Oberflächenspannung steht.“

Hutchinson behauptet somit die formelle und kausale Analogie der in den festen Nährböden eingeschlossenen Gasblasen und Bakterienkolonien. In dem betreffenden Abschnitt finden wir aber eine Anzahl kleinerer oder größerer Unrichtigkeiten, die verraten, daß Hutchinson keine klare Anschauung von der Entstehung der Form der Tiefenkolonien haben konnte. Er unterscheidet z. B. kugelige, wetzsteinförmige und linsenförmige Kolonien. Diese Formen sollen außer den genannten physikalischen Einflüssen zum Teil auch auf der Vermehrungsweise der Zellen und den allgemeinen Ernährungsbedingungen beruhen. Hutchinson unterscheidet die Wetzstein- und Linsenform als besondere, selbständige Formen, was aufs klarste aus folgendem Ausspruch hervorgeht: „Im Agar scheint der Druck nach zwei Richtungen des Raumes stärker resp. weniger stark zu sein als nach der dritten. Im ersten Falle entsteht eine wetzsteinförmige Kolonie, im zweiten eine linsenförmige.“ Weiterhin sagt er: „Da die kugelförmigen Kolonien nur in gelatinehaltigen Medien vorkommen, so muß man vermuten, daß hier ein gleichmäßiger Druck stattfindet. Der Agar scheint sich nach zwei Richtungen leichter zu spalten als nach der dritten, und deshalb scheinen in diesem Medium die Kolonien die Wetzstein- oder Linsenform anzunehmen.“ In Widerspruch mit diesen, das Aggregat des Agars und der Gelatine betreffenden Angaben sagt er danach: „Diese Form (Linsenform) kann man auch an Gasblasen in Gelatine, namentlich in Stichtkulturen beobachten.“ Auf die Art der von Hutchinson gesehenen Gasblasen und linsenförmigen Kolonien überhaupt kann man aus folgenden Worten schließen: „Ich habe die vollkommene Linsenform (wie bei schleimbildenden Mikroorganismen) stets nur in den Fällen bemerkt, in denen ein höherer, allmählich sich steigender Druck auftrat. An Gasblasen oder beim Wachstum gewöhnlicher Kolonien tritt sie nie so vollkommen auf.“ Ueber die zusammengesetzten Kolonienformen finden wir bei Hutchinson nichts Bestimmtes oder Neues. Er läßt dieselben

durch wiederholte Spaltung oder durch Zusammenwachsen von zwei kleineren Kolonien entstehen.

B. Eigene Beobachtungen.

I. Gasblasenversuche.

Es schien mir schon nach der erwähnten Wahrnehmung ein natürlicher Gedanke, daß die auffallende formelle Aehnlichkeit der in einem weich-elastischen, gelatinösen Medium auftretenden Gasblasen und der Bakterienkolonien in den physikalisch gleich beschaffenen Nährböden auf teilweiser Identität ihrer Entstehungsbedingungen beruht und daß man demnach nach gemeinsamen, identischen Entstehungsgesetzen zu suchen hat. Im Laufe meiner Untersuchungen gewann ich dann die Ueberzeugung, daß den genannten Gebilden tatsächlich dasselbe formbestimmende ursächliche Moment zugrunde liegt und daß somit ein physikalisches Verständnis der Kolonienformen erreichbar ist. Inwiefern letzteres mir gelungen ist, soll nunmehr im folgenden gezeigt werden.

Es mögen hier vor allem die bezüglich der Gasblasenentstehung angestellten Versuche Platz finden, um zu einem allgemeinen Gesichtspunkt zu gelangen und die Ergebnisse mit der später auszuführenden Entstehung der Kolonienformen vergleichen zu können.

Die Gasblasenbildung habe ich teils innerhalb in Eprouvetten und Petrischen Schalen erstarrter, stark sodahaltiger (1—2-proz.) Gelatine und Agar, hauptsächlich aber in ganz freien, mehrere Zentimeter hohen und breiten, sodahaltigen Gelatine- bzw. Agarzylindern beobachtet, nachdem ich dieselben nach oberflächlicher, 15—60 Minuten dauernder Härtung in 5-proz. wässriger Formollösung oder in einem Gemisch von Formalin und Alkohol zu gleichen Teilen mit stark verdünnter Salzsäure übergießte. Von den Versuchsergebnissen will ich im folgenden eine gedrängte Uebersicht geben. Dabei werden fast ausschließlich die an den freien Zylindern gemachten Beobachtungen berücksichtigt, weil ich diese Versuchsanordnung für geeigneter halte. Bei dieser fällt nämlich der hindernde, gewisse Spannungszustände auslösende Einfluß der Gefäßwand weg.

Ungehärtete 10—20-proz. Gelatinezyylinder wurden kurz nach Einwirkung der Säure in ihren äußeren Schichten von kleinen ellipsoidischen Gasbläschen durchsetzt, die aber infolge der gleichzeitig eintretenden Erweichung der Gelatinemasse bald eine nach der Peripherie zunehmende Abrundung erfahren und somit eine Birnform angenommen haben. Mitte der Zylinder blieb die mehr oder weniger abgeplattete ursprüngliche Ellipsoidenform der Blasen längere Zeit hindurch erhalten. In konzentrierteren Agarzylindern zeigte sich die Erweichung nur in ganz geringem Grade.

Um die durch die Säure verursachte störende Erweichung zu verhindern, habe ich hernach die Gelatine- und Agarzylinder auf die angegebene Weise gehärtet. Kamen die 30-proz. Gelatinezyylinder einfach in salzsäurehaltige wässrige Formollösung, so entstanden nur in den zentralen Partien kreisförmige Gasscheiben. Die der Oberfläche näher liegenden erreichten bald dieselbe, so daß ihr Inhalt entweichen konnte. Die etwas tiefer gelegenen kommunizierten bald mit ersteren und entleerten sich folglich durch diese. Infolge dieses Umstandes waren die oberen Gelatinescheiben nicht kreisrund, sondern wetzsteinförmig (im wirklichen Sinne des Wortes).

In den mit Formalin-Alkohol, wenn auch nur oberflächlich, gehärteten Medien zeigten die Blasen eine viel längere Bestandsdauer. Die Undurchdringlichkeit dieser Massen erwies sich, besonders der Gasdiffusion gegenüber, bedeutend größer. Die oberflächliche Härtung genügt vollkommen, denn die durch Diffusion eingedrungene Salzsäure bewirkt schon keine nennenswerte Erweichung mehr. Wichtig ist es, daß mit dem Grade der Härtung und besonders der Konzentration der Gelatine- resp. Agarmasse sich auffallende Unterschiede in der verhältnismäßigen Dicke der Gasblasen zeigten. Es lassen sich durch graduelle Abstufung der Konzentration die verschiedensten Uebergänge von der kugelrunden bis zur ganz dünnen, scheibenförmigen Blase herstellen. Es stellte sich heraus, daß Agar ein viel größeres Hindernis der Blasenentstehung setzt als Gelatine. Bei gleicher Konzentration zeigten sich die Blasen in Agar viel flacher als in letzterer. Als Belege hierfür seien einige Versuche angeführt: In 0,5-proz. Agar- und 3-proz. Gelatinezylindern entstanden ganz gleich geformte, absolut regelmäßige, dicke, fast isodiametrische ellipsoidische Gasblasen. Wurden die Zylinder in wärmeres Wasser gebracht, so rundeten sich in der Gelatine die zentralen Blasen zu Kugeln ab, die peripher gelegenen behielten aber auch weiter ihre Form. Das Verhalten der letzteren erklärt sich aus der bekannten Tatsache, daß Formalin die Gelatine unerschmelzbar macht. In 20-proz. Gelatine und 5-proz. Agar ergaben sich sehr flache, regelmäßige bikonvexe Linsenformen. In 30-proz. Gelatine und in 10-proz. Agar entstanden papierdünne, kreisförmige Gasspalten; in der Agarmasse infolge mangelhafter Filtration größtenteils von unregelmäßiger Form.

In sämtlichen Zylindern stellten sich die Gaslinsen in der oberen Schichtenlage fast ausnahmslos mit ihrer Breite senkrecht zur Oberfläche, die tieferen lagen immer regelloser und nahmen in der Mitte alle möglichen Richtungen und Lagen zueinander an. Es konnte eine Orientierung weder nach einer bestimmten Richtung, noch den Flächen irgendeines Polyeders entsprechend bemerkt werden. Traten die Gaslinsen knapp nebeneinander auf, was aber seltener vorkam, so störten sie sich gegenseitig in ihrer weiteren Entfaltung und drängten sich teilweise in eine aus ihren ursprünglichen nach dem Gesetze des Kräfteparallelogramms resultierende neue Richtung. Dabei blieben die einzelnen Blasen meist von einer ganz dünnen schützenden Gelatinehülle umgeben.

Die ganz regellose Verteilung der Gasblasen genügt allein schon, um die homogene Beschaffenheit der erstarrten Agar- und Gelatinemassen zu beweisen, deren sämtliche physikalischen Eigenschaften denen der ganz homogenen, amorphen, elastischen Körper entsprechen, die bekanntlich nach allen Richtungen gleichen Zusammenhang, also keine bestimmte Spaltbarkeit besitzen, obzwar sie ausgesprochen muscheliger oder glasartig spaltbar sind. Die Gelatine- resp. Agarwände der in Rede stehenden Gasblasen lassen auch tatsächlich oft eine äußerst feine konzentrische oder radiale, dem muscheligen Bruche entsprechende Streifung erkennen.

Ich habe die verwendeten Nährstoffe hinsichtlich ihrer Struktur auch mikroskopisch untersucht, und zwar mit Zylinderblendung bei ganz geschlossener Irisblende und schiefer Beleuchtung. Die vollkommen klare Gelatine erwies sich dabei absolut homogen¹⁾. Der Agar hingegen zeigte

1) Bei ultramikroskopischer Betrachtung zeigt sich bekanntlich auch hier eine körnige Beschaffenheit.

bei dieser Beleuchtungsart schon bei mittlerer (600—800-facher) Vergrößerung ein deutliches dunkleres Fachwerk, das sich aus mehr oder weniger regelmäßigen, polygonalen oder spaltförmigen Maschen zusammensetzt und stellenweise auch längere, schmale Spalten führt. Durch die Maschen und Spalten spannen sich fadenartige feinste Fortsätze hindurch, die sich in ersteren teils an zentral gelagerte dunklere Körnchen ansetzen. Diese Beschaffenheit des Agars¹⁾ erklärt manche bekannte Erscheinung, so z. B. die Trübung beim Erstarren auch der in flüssigem Zustand absolut klaren Agarmasse, die Ausscheidung von Kondenswasser etc. Agargelatinegemische zeigten bei der mikroskopischen Prüfung nach dem Mischungsverhältnisse etwas verschiedene Beschaffenheit. Wurde z. B. 1 Teil 2-proz. Agar mit 4—5 Teilen 15-proz. Gelatine gemengt, so ließen sich in der erstarrten Masse zahllose, feinste, runde Agarkörnchen erkennen, die sich gleichmäßig oder in Form eines mehr oder weniger polygonalen grobmaschigen Gerüsts verteilen. In einem Gemisch von gleichen Teilen findet man die homogene Gelatine als Grundmasse außer feinsten Körnchen von kleineren oder größeren Agarkügelchen und -bläschen durchsetzt. Letztere sind oft auffallend groß und schließen dann kleinere Agarbläschen und -kügelchen in sich ein, so daß sie das Bild einer Eizelle geben. Bei der erwähnten Beleuchtungsart läßt sich auch in diesen Gemischen ein polygonales Netzwerk wahrnehmen, dies ist aber, wie man sich durch den Gebrauch der Mikrometerschraube überzeugen kann, kein reelles Bild, sondern eine von zum Teil zusammenfallenden Streuungskreisen der Agarkügelchen erzeugte rein optische Erscheinung. Die Art der Agarausscheidung fand ich bei raschem oder langsamem Abkühlen gleich launenhaft. Bezüglich der physikalischen Beschaffenheit der Nährböden sei noch bemerkt, daß den Agarmedien eine bedeutendere Kohäsion und eine größere Brüchigkeit, somit eine leichtere Spaltbarkeit, den Gelatinemedien dagegen eine größere Zähigkeit zukommt. Aus diesen Eigenschaften folgt, daß die Sprünge des Agars mehr steil, die der Gelatine aber stark gewölbt, tatsächlich muschelartig sind.

Es fragt sich nun, welche Ursache der Entstehung der Linsenform zugrunde liegen kann. Nichts liegt näher als anzunehmen, daß es sich dabei um eine Spaltung der Gelatine- resp. Agarmasse handelt. Ist nun aber der Spalt vorhanden, so wird das sich darin ansammelnde Gas die seinem Druck entgegenwirkenden elastischen Spaltwände gleichmäßig auseinander drängen und dieselben werden sich, wie in ihrer ganzen Ausdehnung gleichmäßig belastete elastische Platten, regelmäßig konkav, d. h. linsenförmig auswölben.

Es ist aber leicht einzusehen, daß hier die eigentlich wichtige Frage eben die Spaltung der homogenen elastischen Masse selbst ist. Haben wir den Schlüssel dazu, so können die verschiedenen graduellen Unterschiede der Linsenform leicht erklärt werden. Wir müssen darum zunächst die Wirkungsweise der spaltschaffenden Tätigkeit der durch die Säure im Innern des Mediums bewirkten Gasentbindung festzustellen suchen. Zu diesem Zweck haben wir eine möglichst klare Anschauung von der Spaltung elastischer Massen überhaupt und vom Anfang der Gasblasenbildung in den gallertartigen Medien zu verschaffen.

Wir wissen, daß starre Körper (z. B. Felsen), wenn sich in denselben Gase in großer Menge entbinden oder Flüssigkeiten an Volum beträchtlich

1) Ein ähnliches Fachwerk wurde in Gallerten schon von Bütschli (1896) und Hardy (1899) nachgewiesen.

zunehmen, wie bei Explosionen resp. dem Gefrieren des Wassers, gesprengt werden. In gelatinösen Massen, die gegenwärtig als Uebergang von dem starren zum flüssigen Aggregatzustande aufgefaßt werden, nehmen, wie wir in unseren Experimenten gesehen haben, die freiwerdenden Gase eine nach dem elastischen Widerstande der betreffenden Masse sich modellierende Linsenform an. In den Flüssigkeiten aber haben die Gasblasen oder fremde, sich nicht mengende Flüssigkeitstropfen eine regelmäßige Kugelform. Die Linsenform stellt also gewissermaßen eine Zwischenform zwischen der streng nach einer Ebene sich vollziehenden Spaltung der homogenen starren Körper und dem kugelförmigen Verdrängungsraume der flüssigen Körper dar. Die für die Flüssigkeiten typische Kugelform wird bekanntlich durch die absolute Verschieblichkeit der Flüssigkeitsteilchen und die dadurch zur Geltung kommende Oberflächenspannung bedingt.

Ueber das Wesen der Spaltung der starren Körper habe ich in der mir zugänglichen physikalischen Literatur keine nähere Erklärung gefunden. Dieselbe läßt sich aber meines Erachtens aus den allgemeinen Lehrsätzen der Mechanik auf Grund des Prinzipes des kleinsten Kraftmaßes unschwer ableiten. Es würde zu weit führen, auf diese allgemeinen Fragen noch weiter einzugehen. Es soll hier nur noch die uns besonders interessierende Spaltung der halbweichen elastischen — gallertartigen — Körper eine nähere Betrachtung finden.

Wird die sodahaltige Gelatinemasse der Säure ausgesetzt, so bewirkt letztere während ihrer Diffusion die Entbindung von CO_2 im Innern des Mediums. Die freie Ausscheidung des Gases kann aber nicht gleich von Anfang an stattfinden, denn dieselbe erfährt in der Unverschieblichkeit des Mediums einen beträchtlichen Widerstand. Die entstehende Gasblase muß sich ihr Dasein durch die in ihrer Druckspannung gelegenen Kraftentfaltung erst erkämpfen. In Flüssigkeiten widersteht der Blasenbildung bekanntlich die mit der Krümmung der Oberfläche in geradem Verhältnis stehende Oberflächenspannung, welche bei kleinsten Bläschen somit relativ enorm groß ist. In den gallertartigen Körpern kommt zu dieser Kraft auch noch der elastische Widerstand hinzu. Das sich bildende Gas wird infolge dieser doppelten Hemmung eine Zeit lang absorbiert. Bei einem gewissen Grade der Gasentbindung gewinnen aber die gestauten Spannkraft eine solche Stärke, daß sie die Hindernisse durchbrechen und sich explosionsartig entladen. Für unseren Zweck ist es nun gleichgültig, ob das kleinste zuerst freigewordene Teilchen mit Gascharakter ein Molekül oder ein Aggregat derselben ist. Gewiß ist es, daß dasselbe an der Stelle der höchsten Diffusionsspannung auftritt und eine ihrem Volumen entsprechende Menge der Gallerte um sich verdrängt und dadurch in einem relativ viel größeren Umkreis das Medium in einen elastischen Spannungszustand versetzt. Man kann sich nun leicht vorstellen, daß sich das zweite Gasteilchen in der Richtung der größten Diffusionsspannung in Freiheit setzen und nach Durchbrechung der Verdrängungszone des ersteren an dasselbe sich anlagern wird. Aus geometrischen Gründen ist es leicht einzusehen, daß die gemeinsame Spannungszone in der Berührungsebene der beiden elementaren Gasteilchen, welche man sich in stabiler Kugelform vorzustellen hat, eine spindelförmige Ausweitung haben muß (Fig. 1a). Hierdurch wird aber die Begünstigung der weiteren Anlagerung in der durch die zwei ersten Gaselemente oder durch die maximale Diffusionsspannung bestimmten Richtung noch erhöht. Die ausschließlich lineare Gasausscheidung kann

aber natürlich nicht lange genügen; es wird der zylinderförmige Verdrängungsmantel der Gasteilchenreihe infolge eines zufälligen begünstigenden äußeren Momentes an einer Stelle von einem sich seitlich ansetzenden Gaselement durchbrochen. Damit hat sich aber die Spannungszone an den benachbarten und an der entgegengesetzten Seite des betreffenden Punktes verstärkt, andererseits ist an derselben ein dritter schwächster Pol entstanden (Fig. 1b). Diese Momente bestimmen nun nach dem Prinzip des kleinsten Kraftmaßes die hauptsächlich zweidimensionale weitere Anlagerung der freiwerdenden Gasteilchen. Die Homogenität des Mediums und seine in das Gleichgewicht strebende Spannungsausgleichung bedingen nun die regelmäßig kreisförmige Gestaltung der entstehenden Spalte.

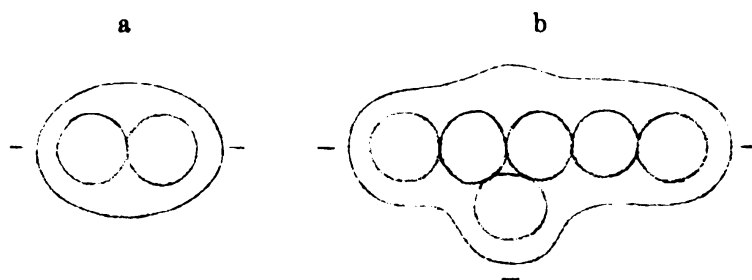


Fig. 1. Die Minimalstellen der Verdrängung sind mit Strichen bezeichnet.

Das Wesentliche dieser molekularmechanischen Erklärung läßt sich aber auch in folgender, nicht weniger anschaulichen Weise formulieren: Ist in einer gallertigen Masse ein kugeliges Gasbläschen im Wachstum begriffen, so wird mit größer werdendem Halbmesser der Rauminhalt desselben in kubischem, die Oberfläche aber nur in quadratischem Verhältnis zunehmen. Da selbstverständlich auch das Volum des verdrängten Mediums in ersterem Verhältnis zunimmt, wird sich der elastische Widerstand desselben infolge der relativen Unverschieblichkeit seiner Teilchen in demselben Maße vergrößern. Hat der elastische Widerstand die unter den gegebenen Umständen maximale Verdichtungsfähigkeit resp. Druckspannung der Gasblase erreicht, so wird sich letztere nur dann weiter vergrößern können, wenn das Verhältnis der Volums- und Oberflächenzunahme ein günstigeres wird, d. h. wenn die Oberfläche relativ rascher wächst, als es bei der Kugelform geschieht. Dies wird der Fall sein, wenn die Blase in die Ellipsoiden- oder Linsenform übergeht. Diese nämlich hat den Vorteil, daß bei gegebenem Rauminhalte die Oberfläche bedeutend größer, als bei der Kugel ist und folglich die Verdrängung des Mediums auf eine relativ größere Strecke verteilt, somit auch geringeren Grades ist. Die Blase kann sich daher bei gleichem Volum den linsenförmigen Raumausschnitt mit geringerer Druckspannung, d. h. mit geringerer Arbeit als den kugelförmigen erschaffen.

Auf Grund dieser Betrachtungen lassen sich manche bei unseren Versuchen beobachteten Gesetzmäßigkeiten der Gasblasenbildung plausibel erklären. Wir haben die Linsenform als das Erzeugnis der Druckspannung des freiwerdenden Gases und der widerstrebenden elastischen Spannung des verdrängten Mediums erkannt. Das im einzelnen Falle gegebene Verhältnis dieser beiden Faktoren bestimmt nun die Gestalt und Größe der Linsenform. In weichen Massen (0,5-proz. Agar, 3-proz. Gelatine), deren Verdrängbarkeit relativ groß ist, überwiegt die Druck-

spannung des Gases und die Linsen haben somit eine dicke, fast isodiametrische Form. In 30-proz. Gelatine und 5–10-proz. Agar ist die Verdrängbarkeit sehr gering, der elastische Widerstand sehr groß, somit wird das freiwerdende Gas bei gegebenem Volumen eine möglichst große Oberfläche darzubieten bestrebt sein, d. h. ganz flache, spaltförmige Linsen zustande bringen.

Die Größe der Gaslinsen hängt hauptsächlich von der Intensität der Gasbildung ab. Ist dieselbe rapid, so entstehen zahlreiche kleine, ist sie dagegen langsam, so bilden sich wenige, aber größere Gaslinsen. Die ersten Linsen stehen, wie gesehen, größtenteils senkrecht zur Oberfläche, also mit ihrem Aequator parallel zur Diffusionsrichtung der Säure. Durch ihr Auftreten ändert sich einesteils die Diffusionsrichtung, und stellen sich andererseits gewisse Spannungszonen des Mediums ein, was natürlich eine Lageänderung der zunächst entstehenden Gaslinsen bedingt. Die Wiederholung der gegenseitigen Beeinflussung führt dann zur gleichmäßigen Verteilung und regellosen Lagerung der zentralen Linsen.

Die Verteilung des verdrängten Mediums bestimmt auch das Weiterwachsen der schon vorhandenen Linsenform. An dem Scheitel der beiden Seitenflächen ist infolge der größeren Massenverdrängung der Ort des Hochdruckes, der nach dem Aequator zum Wert 0 absinkt. Die Linse kann sich demnach verhältnismäßig widerstandslos nach der Aequatorialebene vergrößern, da in dieser Richtung ihrem Wachsen nur relative Nullwerte elastischer Spannung im Wege stehen. Aber die Form der Gaslinse allein begünstigt schon das äquatoriale Wachstum. Der vom eingeschlossenen Gase nach allen Seiten mit gleicher Stärke ausgeübte

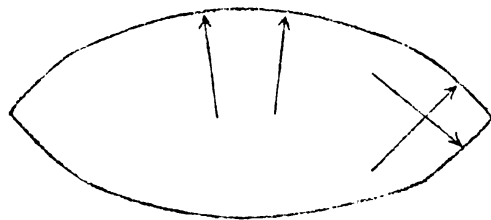


Fig. 2.

Druck ist bekanntlich überall senkrecht gegen die begrenzende Fläche gerichtet und der Größe des gedrückten Flächenteiles proportional. Die Druckrichtung zweier um den Scheitel der Linsenfläche liegender identischer Punkte wird somit, wie dies aus Fig. 2 erhellt, fast parallel, dagegen zweier gleich entfernter, über und unter dem Aequator lie-

gender Punkte der beiden Seitenflächen stark divergierend sein. Infolgedessen werden letztere bei Massen- resp. Tensionszunahme der Gaslinse einen bedeutend größeren Abstand voneinander als erstere gewinnen, d. h. die Wandung wird am Aequator verhältnismäßig stärker gedehnt.

Auch die auffallende Tatsache, daß bei gegebenem Gasdruck im gleichen Medium die verschieden großen Gaslinsen dieselbe Form, d. h. dasselbe Achsendurchmesser-Verhältnis haben, erklärt sich ungezwungen aus der Erkenntnis, daß die jeweilige Linsenform der Ausdruck des Gleichgewichtes zwischen Gasdruck und elastischem Widerstand des Mediums ist. Nur extreme Größen zeigen in dieser Hinsicht, aus leicht einzusehenden Gründen, im Vergleich zur Durchschnittsform, bemerkbare Abweichungen. Schließlich sei noch erwähnt, daß sich die Gaslinsen der Gelatine- und Agarzylinder nach längerem Stehen zunehmend abflachen und schließlich zu einem linearen Spalt werden. In der Gelatine scheint die Verdrängung, wenn dieselbe die Elastizitätsgrenze überschritten hat, eine bleibende zu sein, denn die Seitenflächen nähern sich nicht der Gasdiffusion entsprechend; es tritt im Spalt Saugwirkung ein und es sammelt sich darin die absorbierte Flüssigkeit der Umgebung an, so daß

das zentral gelegene, eingeengte Gasbläschen von einer Flüssigkeitsscheibe umgeben wird.

Wie sich von dem hier gewonnenen Standpunkte die Entstehung der Form der Tiefenkolonien niederer Pilze erklären läßt, sollen nun die folgenden Ausführungen zeigen.

II. Entstehung der Form der Tiefenkolonien.

1. Allgemeines.

Der Entstehungsvorgang einer Tiefenkolonie in einem festen Nährboden kann, allgemein ausgedrückt, offenbar nichts anderes sein, wie die durch Vermehrung bedingte Ansammlung von Bakterien- oder Hefezellen in einem bestimmten Bezirke des Mediums zu mehr weniger konsolidierten Massen. Die Zusammenlagerung der ersten Zellindividuen wird natürlich je nach der Form und Vermehrungsweise der einzelnen Arten eine verschiedenartige sein. Bei den rundzelligen (Mikrokokken, Blastomyceten) wird dieselbe, besonders bei mehrdimensionaler Spaltung oder Aussprossung, gleich von Anfang an eine geballte, dagegen bei den stäbchenförmigen und beständig nach einer Richtung sich spaltenden oder sprossenden Arten eine fadenförmige sein. Dem Auseinanderstreben der sich vermehrenden Zellen stellen sich aber gewisse Hemmnisse, namentlich die relative Undurchdringlichkeit des Mediums entgegen, was bei der kettenförmigen Wachstumsart in erster Reihe zur Aenderung der eingeschlagenen Wachstumsrichtung, d. h. zu Krümmungen und Knickungen der Zellreihe, andererseits überhaupt zur rascheren Vermehrung der zentralen, in dem schon aufgelockerten Nährboden gelegenen Individuen führt. Nachdem aber die Bakterien und vielmehr die Hefezellen bei ihrer Vermehrung den Nährboden nicht in einer ihrer Volumszunahme gleichen Masse und nicht in seinem ursprünglichen Zustande verbrauchen, sondern einen großen Teil ihres Nährstoffbedarfes aus dessen diffusionsfähigen Bestandteilen decken, werden mit der fortschreitenden Vermehrung die äußeren Widerstände immer größer, die Zellen aber mehr und mehr zusammengepreßt, so daß sich schließlich eine dichtgeschlossene, mehr weniger abgerundete Bakterienmasse aufbaut. Mit der Vergrößerung dieser jungen Kolonie nimmt auch ihre Dichte zu, was entsprechende Unterschiede in der Spannung des verdrängten Mediums bedingt. Die Kolonie erzeugt einen immer größer werdenden positiven Druck nach außen, das Medium umgekehrt eine zunehmende elastische Druckspannung nach ersterer. Infolge des erwähnten relativ geringen Verbrauches des festen Nährstoffes und beträchtlichen Zufuhr der diffusionsfähigen Bestandteile sind hier ungefähr dieselben geometrischen Verhältnisse vorhanden, die auch bei der Gaslinsenbildung ausschlaggebend sind: Nämlich daß mit größer werdendem Halbmesser der Kolonie die für den Nährstoffzufuhr und Druckverteilung maßgebende Oberfläche derselben nur in quadratischem, das Volum und die den Grad des elastischen Widerstandes bestimmende Verdrängung des Mediums aber in kubischem Verhältnis zunimmt. Aus diesem Grunde kann sich die kugelförmige Anhäufung der Zellen nicht beliebig fortsetzen, sondern muß auf einer bestimmten Grenze von selbst Halt machen, da sie mit den Wachstumsbedingungen durch die hemmende Wirkung des aufgestauten Spannungsdruckes in Widerstreit gerät. Je rascher sich das Wachstum der Kolonie vollzieht und je höher der Konzentrationsgrad des Nährbodens ist, um so rascher wird dieser maximale Spannungszustand erreicht, um so früher tritt nun die im folgenden zu be-

sprechende nächste Entwicklungsstufe der Kolonie, nämlich in Agar die Linsenform und in Gelatine die Ellipsoiden- oder die Saturnusform auf. Diese entstehen, ebenso wie es sich bei den Gasblasen zeigen ließ, durch Spaltung des Mediums resp. durch auf dem Prinzipie des kleinsten Arbeitsmaßes beruhende zweidimensionale Ausbreitung.

Als Erläuterungsbeispiele habe ich von den Spaltpilzen *Staphylococcus pyog. aureus*, *Bacterium pneumoniae* (Friedländer) und *Bacterium typhi*, von den Sproßpilzen *Saccharomyces cerevisiae* und zwei pathogene *Monilia*arten¹⁾ ausgewählt.

2. Koloniefornien der Agarmedien.

Da für Agarnährböden die bikonvexe Linsenform als die allgemeine Form der Tiefenkolonien anzunehmen ist, so ist es wohl angezeigt, zunächst im Zusammenhang den Beginn und das Fortschreiten des Wachstums sowie die verschiedenen Modifikationen der Linsenform überhaupt und dann erst die artlichen Verschiedenheiten ganz kurz zu besprechen. Die eingeschalteten Abbildungen entsprechen aber auch hier bestimmten Kolonien der Testkulturen.

Hat die dreidimensional wachsende Kolonie infolge der selbstgeschaffenen Hindernisse, die die Vermehrung der Zellindividuen überhaupt noch zulassende maximale Druckspannung erreicht, so vollzieht sich die Spaltung des Mediums. In Agarnährböden spielt sich dieser Vorgang, wie bereits erwähnt, schon sehr zeitlich ab, in weichen Medien aber nachdem sich eine etwas umfangreichere ballenförmige Bakterien-



Fig. 3.

masse gebildet hat, in konzentrierten (4–5-proz.) schon an ganz kleinen, nur bei stärkerer Vergrößerung sichtbaren Kolonien. Die in Fig. 3 dargestellten 12 Stunden alten *Staphylococcus aureus*-Kolonien zeigen dieses Stadium. Man sieht hier außer noch runden, ellipsoidischen, birnförmigen, zitronenförmigen und in geringer Zahl auch dreieckigen Kolonien in allen Uebergängen.

Wie sind nun diese Formen zu deuten?

Für die Entstehung der schon in diesem Stadium ellipsoidischen Kolonien ist es wahrscheinlich, daß der Agar infolge seiner durch die Wabenstruktur bedingten Ungleichmäßigkeit an der betreffenden, beschränkten Stelle nach einer Richtung weniger fest war, und somit die anwachsende Druckwirkung der Bakterien nach dieser Richtung gedrängt hat, oder dieselben von selbst dem weniger konsistenten Gebiete zustrebten. Die Ellipsoidenform geht aber in nicht ausgesprochen zähen Medien auf Grund der bei den Gaslinsen gezeigten Spannungsverteilung bei weiterer Vergrößerung in die flachere Linsenform über. Tritt die genannte, in der Nährbodenbeschaffenheit begründete mehr flächenhafte Ausbreitung etwas später ein, so bildet der Zuwachs um die primäre Bakterienmasse einen Ring und es entsteht die Saturnusform, deren optische Seitenansicht die Zitronenform ist. Diese Form geht unter den in den Agarmedien vorhandenen Bedingungen beim Weiterwachsen wieder in die Linsenform über. Wie verhält es sich aber mit der Birnform,

1) Da die Blastomyceten auffallend große Kolonien bilden, habe ich, um denselben eine ungehinderte Entwicklung zu sichern, durchschnittlich 0,5 cm dicke Platten gegossen, und zwar derweise, daß auf dem Boden der Petrischen Schalen zuerst ein Drittel Eprouvette auf 40° abgekühlter Dextroseagar, hierauf nach ganz kurzen Pausen die gleiche Menge des geimpften und auf diesen wieder steriler Dextroseagar geschichtet wurde.

welche die häufigste ist? Es läßt sich denken, daß geringste, vielleicht nur augenblickliche Kräfte oder begünstigende Momente, die wieder in irgendwelchen Unregelmäßigkeiten oder Strukturen des wabigen Mediums gegeben und an einem Punkte der noch kugeligen kleinen Kolonie vorhanden sind, genügen, um an der betreffenden Stelle der Oberfläche zunächst eine höckerförmige Vorwölbung oder Aussprossung der unter hohem Druck befindlichen Bakterienmasse anzubahnen. An dieser Stelle des kleineren Widerstandes setzt nun eine lebhafte Vermehrung der Bakterien ein, die auf Grund der besprochenen Spannungsverteilung zur Spaltung des Höckers führt. Nach mehr weniger vollkommener Verwachsung der Grenze zwischen Höcker und Kolonie haben wir die Birnform. Die an einer Seite eingeleitete Spaltung schreitet nun, wie wir es später bei den Gelatinekolonien in viel größerem Maßstabe sehen werden, in der eingeschlagenen Richtung fort, bis sie die Kolonie ringförmig ganz umfassen hat; hierdurch entsteht aber wieder eine Saturnusform.

Nachdem sich nun die Spaltung der primären kugelförmigen Kolonie — die wir als Koloniekern bezeichnen wollen — auf eine der aufgezählten Weisen vollzogen hat und so die Möglichkeit eines Wachstums unter mäßigerem Druck und günstigeren Ernährungsbedingungen vorhanden ist, setzt ein viel lebhafteres, sprunghaftes Wachstum der Kolonie ein und es entsteht aus den bereits auseinandergesetzten rein mechanischen Gründen die deutliche regelmäßige Linsenform. Für das bessere Verständnis der folgenden näheren Betrachtung der Linsenform und deren Modifikationen ist es angezeigt, die Vorteile, welche sich aus dieser Formation für das Wachstum der Kolonie ergeben, nochmals zusammenzufassen: Die relativ große Oberfläche fördert die Ernährung; es wird durch sie sowohl die Nährstoffzufuhr, wie auch die Diffusion der Stoffwechselprodukte begünstigt. Die aus den mechanischen Verhältnissen der Linsenform resultierenden Vorteile sind bei einer gegebenen Bakterienmasse folgende: 1) ist der Widerstand des Mediums infolge der durch die größere Ausbreitung bedingten geringgradigen elastischen Spannung der verdrängten Masse absolut kleiner, somit auch die innere Druckspannung der Kolonie, welche erstere übersteigen oder mindestens derselben gleich sein muß; 2) kann die einen allseitig gepreßten linsenförmigen Raumausschnitt erfüllende Zellmasse ihre Expansionsarbeit mit relativ geringerem Spannungsdruck verrichten, als in der ihrem Volum entsprechenden Kugelform, da infolge der gleichmäßigen Verteilung der Druckspannung in der Linsenform eine größere Zahl der Oberflächeneinheiten dem bestimmten Drucke ausgesetzt ist; 3) ist durch die am Linsenäquator vorhandenen mechanischen Verhältnisse, namentlich durch den Nullwert des Spannungsdruckes des Mediums, durch die Konzentrierung des Flächendruckes und die divergierende Druckrichtung der Kolonie ein sehr leichtes, fast widerstandsloses äquatoriales Wachstum der Linsenform möglich.

Das Spannungsgebiet des verdrängten Mediums ist bei der im I. Abschnitt erwähnten Beleuchtungsart direkt sichtbar. Man kann nämlich, wenn man eine mit ihrer Äquatorialebene zur optischen Achse parallel stehende Kolonie scharf auf ihren größten optischen Durchmesser einstellt, an beiden Seiten der wetzsteinförmig erscheinenden Kolonie in je einem sichelförmigen Gebiete des Mediums eine feine, teils hellere, teils dunklere, gegen die Kolonieoberfläche an Stärke zunehmende Streifung wahrnehmen, welche an den Polen der Wetzsteinform ganz verschwindet.

Durch Gebrauch des Mikrometers erkennt man, daß in diesen konkav-konvexen Linsenformen entsprechenden Gebieten die Maschen des Agargerüsts gegen die Kolonieoberfläche zunehmend komprimiert sind.

Nach alledem lassen sich die verschiedenen Kolonieformen, die in den Agarplatten zu Gesicht kommen, leicht begreifen.

Liegt eine linsenförmige Kolonie mit ihrem Äquator quer zur optischen Achse, so erscheint sie als ein relativ heller, der Mitte zu etwas dunkler werdender Kreis. Ist der Linsenäquator parallel zur optischen Achse gestellt, so zeigt die Kolonie die sogenannte Wetzsteinform, welche, da man hier tiefere Bakterienschichten vor sich hat, viel dunkler als erstere erscheint und bei entsprechender Einstellung die ihre Pole verbindende Linsenkante erkennen läßt. Zwischen diesen Lagen gibt es naturgemäß die verschiedensten Uebergänge von den ganz flachen bis zu den fast isodiametrischen Ellipsisformen, mit entsprechender Abstufung der Farbe (Fig. 4).

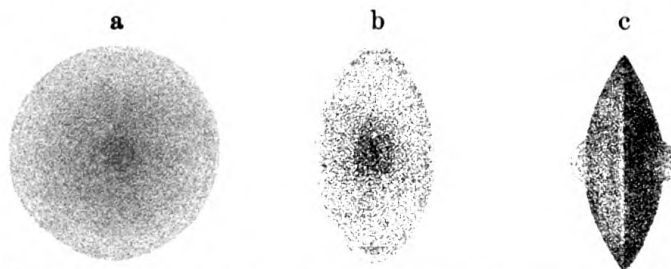


Fig. 4. Linsenkolonien von *Bact. typhi* aus 1,5-proz. Agarkultur. Kolonie a ist mit ihrem Äquator senkrecht, b unter einem Winkel von 45° und c parallel zur optischen Achse gestellt. Bei durchf. L.¹⁾.

Die Konturlinie der Wetzsteinform jüngerer Kulturen ist an den Polen etwas stumpfer zugespitzt (Fig 2). Die Ursache davon ist die bilaterale Pressung, welche die Linsenflächen wie überlastete Gewölbe flachzudrücken strebt. In der Mitte wird diese Wirkung am meisten zu Geltung kommen, da hier die Stelle des Hochdruckes ist.

In hochkonzentriertem Agar sind die Seitenflächen der Kolonielinsen infolge der sehr frühen Spaltung des primären kugeligen Zellhaufens fast ganz glatt. In weicherem Agar (1—2-proz.) haben die Linsenflächen an ihren Kuppen je einen mehr oder weniger halbkugelförmigen Knopf (Fig. 4), welche den weit voneinander gedrängten Hälften des Koloniekernes entsprechen²⁾. Die Größe dieser Knöpfe hängt in erster Reihe von der Konzentration des Agars ab. In weichen Medien sind sie mehr gewölbt, in härteren flach. War die Spaltung des Kernes symmetrisch, so sind seine Halbtteile gleich; es kommen aber auch alle Grade der symmetrischen Spaltung vor, so daß man auch Linsen findet, die nur an einer Fläche einen Knopf haben.

Die Spaltungsart des Koloniekernes bedingt nun in der weiteren Entwicklung eine Reihe von verschiedenen interessanten Kombinationen der Linsenform, welche teils schon sehr früh, in der Zeit der ersten

1) Abkürzungen: Kol. = Kolonie, Kult. = Kultur, durchf. L. = durchfallendes Licht, Oberl. = Oberlicht, komb. L. = kombiniertes Licht.

2) Der Kern ist somit der älteste Teil der Kolonie und keine sekundäre „Exkreszenz“ im Sinne Sauls. Die Reste der Koloniekernkerne habe ich in den Abbildungen nicht überall, wo sie vorhanden, dargestellt, um die geometrische Form besser hervorheben zu können.

Spaltung angelegt werden, sich aber erst später deutlich entfalten, teils aber aus schon etwas größeren Linsenformen entstehen und sich in Agarplattenkulturen verschiedenster Spalt- und besonders rasch wachsender Sproßpilze direkt in ihrer Entstehung verfolgen lassen. Am besten eignen sich zum Studium der zusammengesetzten Formen die Sproßpilze, da die Kolonien derselben in wenigen Tagen eine bedeutende Größe (bis 0,5 cm) erreichen und sich folglich mit einer binokularen Lupe oder auch mit freiem Auge stereoskopisch betrachten lassen. Wenn man die verschiedenen komplizierteren Formen, die fast in jeder Agarplatte wiederzufinden sind, nach Nebeneinanderstellung ihrer zufälligen perspektivischen Lagerungen vergleicht, so erkennt man, daß die Polymorphie nicht beliebig weit geht, sondern daß alle Fälle auf zwei Grenzformen: Auf das Dreiblatt und Sechsbblatt — Triphyllon und Hexaphyllon von Jendrassik¹⁾ — zurückgeführt werden können, und andererseits, daß zwischen den drei Grenzformen: Linse, Dreiblatt und Sechsbblatt eine kontinuierliche Reihe von Zwischenformen besteht. Alle zusammengesetzten Koloniefornien lassen sich schließlich aus der sich in ganz gesetzmäßige Weise vollziehenden Umformung der einfachen Linse ableiten.

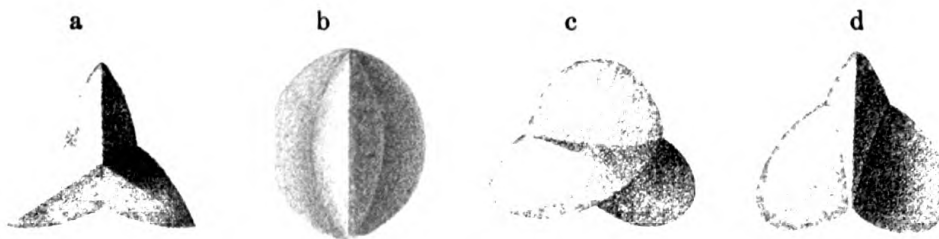


Fig. 5. Triphyllonkolonien von *Staphylococcus pyog. aur.* aus 3-täg. 2-proz. Agarkult. (No. 10). Die Kolonieachse steht in a vertikal, in b parallel, in c und d schief zur opt. Achse. Bei Oberl.

Die einfachere Grenzform; das Dreiblatt (Triphyllon) besteht bei vollkommener Ausbildung aus drei an einer gemeinsamen Achse unter 120°igen Winkeln zusammenstoßenden gleichgroßen Linsensegmenten. In Fig. 5 sind verschiedene perspektivische Lagerungen dieser Form wiedergegeben. Die charakteristischste ist die Vertikallage (a), in der nämlich die gemeinsame Achse der Blätter mit der optischen zusammenfällt.

Der Entstehungsvorgang dieser Form ist in Fig. 6 versinnbildlicht und ist folgenderweise zu erklären: Vollzieht sich die Spaltung des Koloniekernes in dem Grade asymmetrisch, daß fast der ganze Kern an die eine Linsenfläche zu liegen kommt, so vergrößert sich dieser größte Teil viel rascher als sein Antipode und übertrifft denselben, wenn das Wachstum der Kolonie überhaupt ein lebhaftes ist, in kurzer Zeit relativ noch mehr, so daß sich an ihm eine neue Spaltung vollzieht, deren Richtungsebene senkrecht zur ersteren steht (b). Das Resultat hiervon ist, daß an der Seite des großen Knopfes resp. der zweiten Spaltung, infolge der neuen Nährbodenverdrängung an den Seitenflächen der sekundären Halblinse eine beträchtliche Spannungsstauung stattfindet. Infolgedessen erfährt die Scheibe der ersten Linse in der Richtung der Quer-

1) Die Nomenklatur Jendrassiks behalte ich bei.

achse der zweiten eine der größten elastischen Spannung entgegengesetzte zunehmende Ablenkung (c), bis schließlich durch die allmähliche Druckausgleichung das Gleichgewicht der Druckverteilung entsteht. Dies wird der Fall sein, wenn die beiden Hälften der durch die Ablenkung eingeknickten ersten Linsenscheibe mit der unterdessen rasch angewachsenen dritten Linsenhälfte Winkel von 120° einschließen (d).

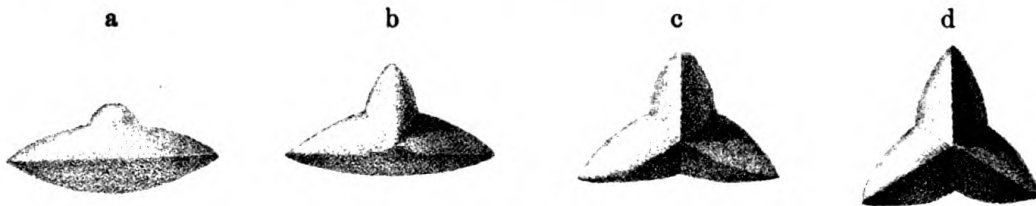


Fig. 6.

Sind bei der ersten Spaltung des Koloniekernes zwei weniger differente Halbtteile entstanden, so bildet sich zuerst auf der eben geschilderten Weise das Dreiblatt; etwas später spaltet sich dann auch die in ihrem Wachstum zurückgebliebene Kernhälfte. Die Richtung dieser dritten Spaltung ist aber aus den uns jetzt schon vertrauten mechanischen Gründen präzisiert vorgeschrieben. Die Verdrängung des Mediums kann zwischen den sich nähernden Hälften der ersten Linse nur in der Richtung der Umschlagkante letzterer, d. h. gerade senkrecht zur zweiten erfolgen, denn in dieser Richtung besteht der kleinste lokale Widerstand. Die erste Linsenscheibe wird jetzt das zweite Mal eingeknickt und nach den Kanten des zweiten Linsensegmentes abgelenkt, so daß sie jetzt in vier Quadranten geteilt erscheint. Nach der abgelaufenen Druckausgleichung gleichen sich beim Weiterwachsen die Größen- und Formdifferenzen der 6 Linsenausschnitte mehr und mehr aus, bis schließlich das geometrisch regelmäßige Sechsbblatt — Hexaphyllon — entsteht (Fig. 7).

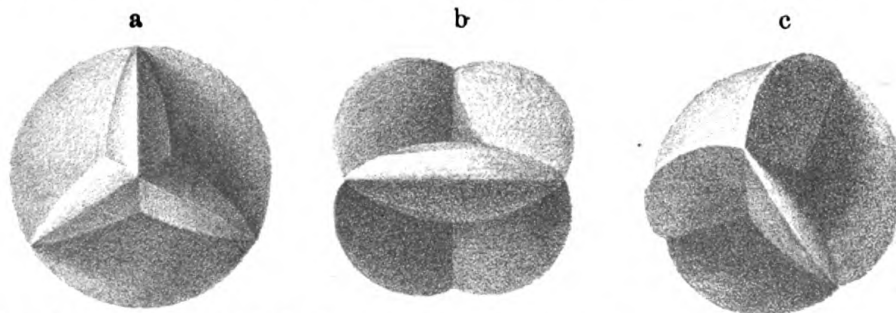


Fig. 7. Hexaphyllonkolonie von *Saccharomyces cerev.* aus 5-täg. 2-proz. Dextr.-Agarkult. (No. 44). a Ecken-, b Kantenansicht, c in schiefer Lage. Bei Oberl.

Diese interessante Kolonieforn besteht aus 4 Triedern, 6 Flächen und 4 Ecken. Die 6 Flächen sind 120° ige Linsenabschnitte und entsprechen in ihrer Lagerung den Halbierungsebenen der Kantenwinkel eines Tetraeders, die Ecken aber den Ecken dieses Polyeders.

Außer diesen 3 Hauptformen habe ich in Kulturen von *Saccharomyces cerevisiae* noch zwei regelmäßige Formen beobachtet; beide sind aber sehr selten. Die eine ist ein Achtblatt, die andere ein Zwölfblatt. Die Entstehung des Achtblattes kann man sich derart vor-

stellen, daß an der ersten Linse der nur an der einen Seite liegende Kern sich erst symmetrisch spaltet und die beiden einander gegenüberliegenden Kernreste sich darauf abermals spalten. Die hierdurch zustandegewonnenen 4 Linsensegmente bewirken dann eine entsprechende Ablenkung der Quadranten der ersten Linse.

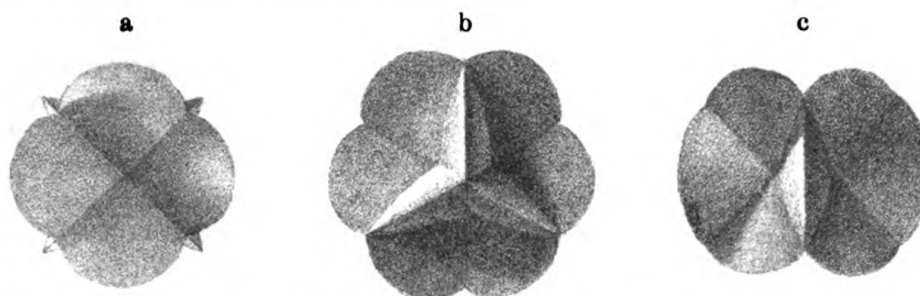


Fig. 8. Dodekaphyllonkolonie von *Saccharomyces cerev.* aus 5-täg. 2-proz. Dextr.-Agarkult. (No. 44). a von der Fläche, b von der Ecke und c von der Kante des entsprechenden Hexaëders betrachtet. Bei Oberl.

Wie das Sechsbblatt vom Tetraëder, so kann auch das Zwölfblatt — Dodekaphyllon — (Fig. 8) vom Hexaëder abgeleitet werden. Seine Flächen entsprechen den Halbierungsflächen der Kantenwinkel desselben, welche nach innen im Mittelpunkte zusammentreffen und nach außen kreisförmig umrandet sind. Es hat 12 Flächen, 8 Ecken. An jedem Eck treten 3 Flächen unter Winkeln von 120° zusammen. Die einzelnen Flächen sind Linsenausschnitte von ungefähr 70° . Die Bildung dieser Formation kann man sich meines Erachtens so vorstellen, daß schon kurz nach der I. Phase der Kolonienentwicklung der symmetrischen Kernhälften der ersten Linse sich unter Bildung asymmetrischer Kerne zweiter Ordnung spalten und hierauf an beiden Seiten der Hauptlinse der größere Kernrest sich zum dritten Male spaltet. Nach den bei den vorerwähnten Formen geschilderten gegenseitigen Ablenkungen und Ausgleichungen der Spannungsdifferenzen resultiert dann das Zwölfblatt. Die eventuelle Ungleichheit der Blätter gleicht sich im Laufe des weiteren Wachstums aus.

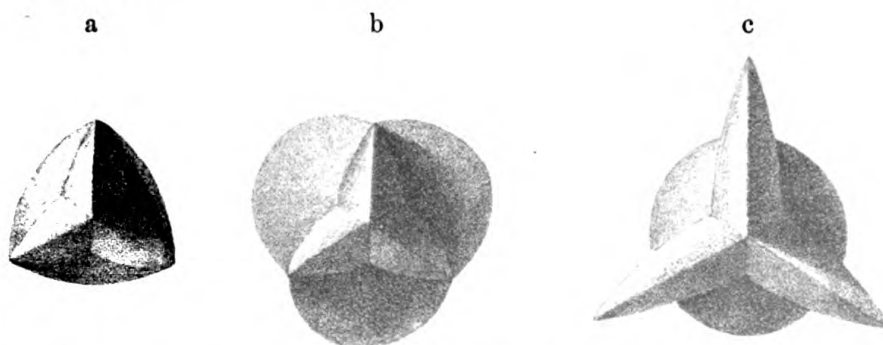


Fig. 9. Hexaphyllonkolonien. a von *Staphylococcus pyog. aur.* aus der Kulturreihe No. 11. b und c von *Saccharomyces cerev.* aus der Kulturreihe No. 44. Bei Oberl.

Unter allen diesen Kolonienformen herrscht die einfache Linsenform vor. In einer Platte mit 30—40 Kolonien sind meist 3—6 schön ausgebildete Sechsbblätter vorhanden. Das Achtblatt kam mir in 10 Schalen-

kulturen von *Saccharomyces cerevisiae* nur einmal, das Zwölfblatt zweimal zu Gesicht. — Im Anfangsstadium sind die freien Ränder der Blätter der zusammengesetzten Kolonien wenig gekrümmt (Fig. 9a). Bei der fortschreitenden Vergrößerung bleiben die Ecken der Blätter infolge der negativen Chemotaxis zurück, während ihre Mitte mit starker Krümmung auswächst (Fig. 9b). Oft trifft man auch drei, einem Trieder zugehörige Blätter verhältnismäßig schwächer entwickelt (Fig. 9c). Im letzteren Fall spielen immer gewisse hindernde äußere Einflüsse chemotaktischer oder elastischer Natur eine Rolle, z. B. die unmittelbare Nähe des Gefäßboden.

Hinsichtlich der Entstehung dieser kombinierten Kolonienformen will ich noch einmal betonen, daß die ganz regelmäßig ausgebildeten, besonders das Sechsstück, mit der definitiven Blätterzahl schon sehr früh, gleich nach dem ersten, kugelförmigen Stadium der Kolonie angelegt werden. Die Spaltungen können infolge der massigen, plumpen Beschaffenheit der jungen Kolonien meist schwer verfolgt werden; sie folgen rasch aufeinander, und da bei der Kleinheit der ersten Blattanlagen

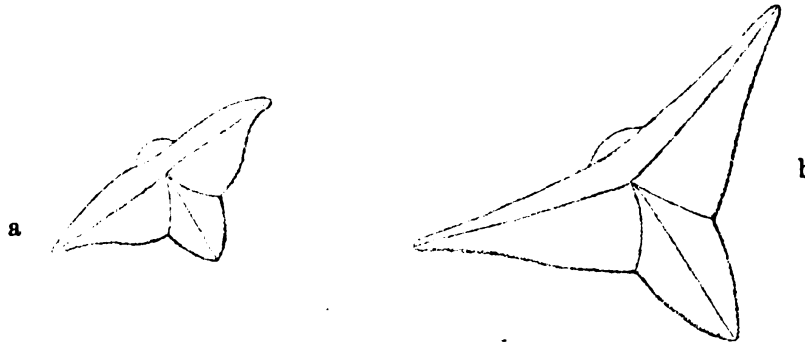


Fig. 10. Triphyllonkolonie von *Saccharomyces cerev.* aus 2-proz. Dextr.-Agarkult., in a nach 2 und in b nach 3 Tagen.

ein relativ geringer elastischer Widerstand des Mediums zu überwältigen ist, stellt sich auch die gegenseitige Gleichgewichtslage der Blätter bald ein. Aber auch an größeren Kolonien lassen sich auch die geschilderten Vorgänge durch wiederholtes Betrachten derselben verfolgen (Fig. 10), aber in sehr verzögertem Verlaufe, so daß die Kolonien dabei oft am halben Wege ihrer Ausbildung stehen bleiben (Fig. 11). Der Kolonienkern ist besonders bei den ersten Spaltungen der kleinen Kolonien von großer Bedeutung, da er durch seine relative Größe auch die spaltende Bakterienmasse liefert. Bei der Spaltung größerer Kolonien verliert er seine Bedeutung als spaltschaffende Masse, spielt vielmehr als Defekt des elastischen Spannungsmantels der Kolonie, als *Locus minoris resistentiae* eine Rolle; genau so, wie die erwähnten kleinen Auswüchse der primären kugelförmigen Kolonien. Man könnte denken, daß die Richtung der ersten Spalten schon durch die Gruppierung der ersten Bakterien- oder Hefezellen bestimmt sei. Aber abgesehen davon, daß eine dementsprechende Struktur der jungen Kolonien nicht zu beobachten ist, läßt sich, wie gesehen, die Entstehung der in Rede stehenden Figuren auch ohne diese Annahme ganz ungezwungen durch die direkt verfolgbare sukzessive Spaltung des Kolonienkernes und durch die geschilderten sekundären selbsterzeugten äußeren Druckdifferenzen im Medium resp.

deren Ausgleich erklären. Bei den Gaslinsen haben wir außer den nur selten vorkommenden Verschmelzungsfiguren keine komplizierteren Formen gesehen. Dies ist auch einleuchtend, wenn wir bedenken, daß infolge der vollkommenen Verschieblichkeit der Gasteilchen eine gleichmäßige Verteilung und somit keine Aufstauung der Gasmasse im Zentrum der Linse stattfinden kann. Der günstigste Wachstumsmodus ist unter solchen Umständen der streng äquatoriale. Bei den Bakterien- und Hefekolonieen haben wir es aber mit abgeschlossenen Massen zu tun, deren Teilchen relativ nur wenig verschieblich sind. Und da bei den jungen, noch kleinen Kolonien die hauptsächlich durch Diffusion stattfindende Ernährung der Bakterien eine fast gleichmäßige ist, und infolgedessen auch die zentral gelegenen Zellindividuen sich noch lebhaft vermehren, so ist es leicht einzusehen, daß es in der Mitte der Kolonienlinse, wo der Zuwachs am größten ist, bald zu einer Aufstauung der Zellen kommen muß, was, wenn die äquatoriale Ausbreitung nicht rasch genug vor sich gehen kann, zu erneuten, zentralen Spaltungen der Linsenscheibe führen muß. Aus diesem Grunde ist es klar, warum die

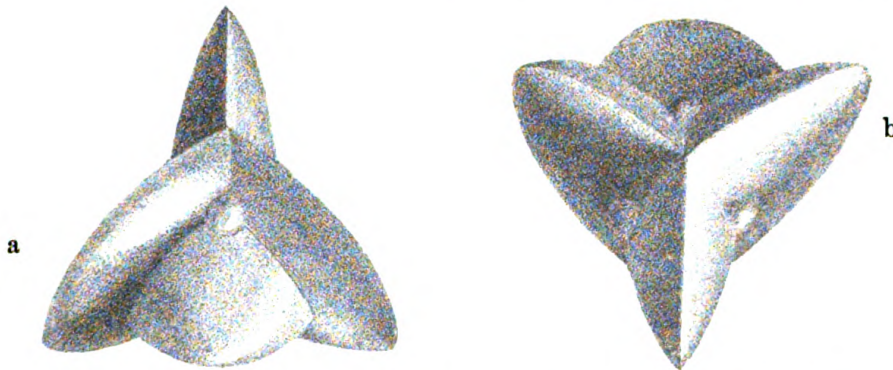


Fig. 11. Hexaphyllonkolonie von *Saccharomyces cerevisiae* aus 4-täg. Dextr.-Agarkult. a von der oberen und b der unteren Plattenfläche aus betrachtet. Das zuletzt entstandene Linsensegment ist kleiner geblieben. Bei Oberl.

komplizierten Kolonienformen besonders bei rasch wachsenden Bakterien- und Hefearten häufig sind. Bei dem Saccharomyceten kommt außer dem raschen Wachstum auch der Umstand in Betracht, daß die Hefezellen, wie dies ja durch die Riesenkolonienbildung bekannt ist, in zuckerhaltigen Nährböden sich in erster Reihe aus diffusionsfähigen Stoffen ernähren.

Von den artlichen Unterschieden, den häufigeren Unregelmäßigkeiten und der experimentellen Modifizierbarkeit der aufgezählten Kolonienformen wird noch im Rahmen der Erläuterungsbeispiele die Rede sein. Hier will ich noch, bevor ich an die Besprechung der in Gelatine- und Agargelatineplatten vorkommenden Kolonienformen schreite, in aller Kürze eine oft vorkommende Variation der einfachen Linsenform und die häufigsten Typen der durch Zusammenstoß und teilweiser Verschmelzung entstandenen Kolonienformen anführen. Erstere ist in optischer Projektion, die Nieren- und Palettenform. Beide entstehen dadurch, daß nach einseitiger Spaltung des Kolonienkernes der Spalt denselben in einem Spiralzug umläuft und seine Lappen sich somit an der entgegengesetzten Seite übereinanderlagern. Schreitet der Spalt beiderseits gleichmäßig vor, so haben wir die Nierenform (Fig. 12 a u. b);

20*

bleibt der eine Lappen etwas zurück, so entsteht die Palettenform (Fig. 12 c). Es kommt auch vor, daß die Lappen, auch wenn sie in derselben Ebene geblieben, an der anderen Seite nicht zusammenschmelzen, sondern von einer schmalen Schicht des Mediums dauernd getrennt bleiben. Zwischen

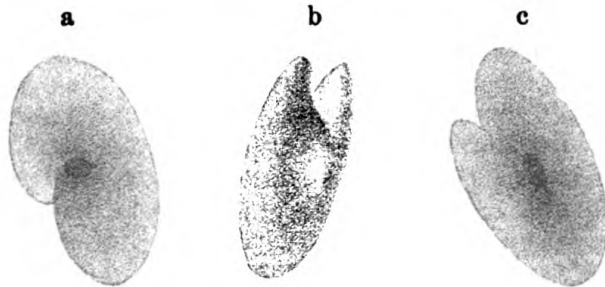


Fig 12. *Bact. typhi*-Kolonien aus 8-täg. 2-proz. Agarkult. (No. 37). a in Flächen-, b in Seitenansicht. Bei durchf. L.

diesen Formen und der regelmäßigen Linsenform sind zahlreiche Uebergänge zu finden.

Hinsichtlich der durch Verschmelzung entstandene Kolonien sei bemerkt, daß dieselben besonders in dichtgesäten Kulturen vorkommen und daß die Vereinigung um so vollkommener ist, je früher der Zusammenstoß stattfindet. Später treten die hindernden elastischen und negativ-chemotaktischen Einflüsse in den Vordergrund und äußern sich als gegenseitige Bedrängung der Kolonien. Die Variation dieser Formen ist natürlich unübersehbar, da es schon für je ein Linsenpaar zahllose Lagen im Raume gibt. Hier seien beispielsweise bloß einige aus 2 Linsen entstehende charakteristische Verschmelzungsformen angeführt. Fallen die Ebenen der zusammenstoßenden Linsen zusammen, so verschwindet ihre Sonderindividualität früher oder später und sie gehen in der Verschmelzungslinse auf. Erfolgt das Zusammentreffen der Linsen sehr früh, so sind die beiden Halfteile später meist nicht mehr voneinander zu trennen und die Verschmelzung verrät sich nur durch einen Spalt, oder eine geringe periphere Einkerbung (Fig. 13 a). Diese Formen sind von den früher berührten meist nicht zu unterscheiden. Ist die Vereinigung weniger vollkommen, so markiert sich die Grenze der beiden

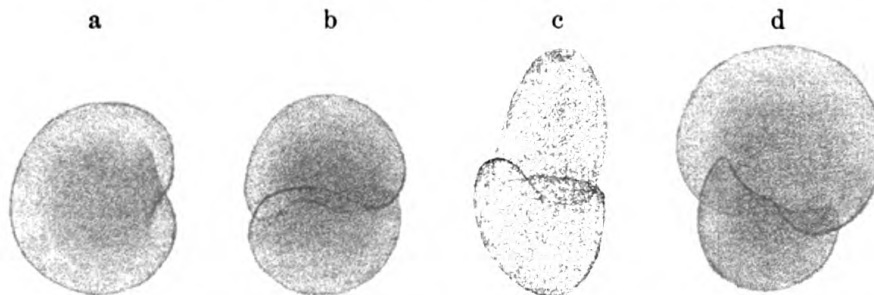


Fig. 13. *Staphylococcus pyog. aur.*-Kolonien aus 7-täg. 5-proz. Agarkult. No. 12. Bei durchf. L.

Kolonien, von welchen gewissermaßen nur die eine Hälfte zur Entwicklung gekommen ist, durch beiderseitige Einkerbung der gemeinsamen Umfanglinie (Fig. 13 b). An durchsichtigen Kolonien, wie sie in hochkonzentriertem Agar vorkommen, ist zu ersehen, daß die Verschmelzung der Kolonien nur eine äußerliche ist, und daß dieselben

durch eine reflektierende Fläche, die gewiß einer eingeschlossenen äußerst dünnen Schicht des Mediums entspricht, voneinander getrennt sind. In Fig. 13c ist ein mit der Äquatorialebene schief und in d ein quer zusammenstoßendes, in Fig. 14 aber zwei mit ihren Seitenflächen mehr weniger verschmolzene Linsenpaare darstellt.

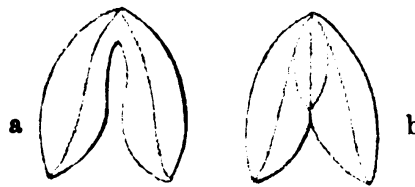


Fig. 14.

3) Formen der Gelatine- und Gelatineagarmedien.

Für Gelatinenährböden ist in erster Reihe die regelmäßige Kugelform charakteristisch; in hochkonzentrierter Gelatine treten auch ellipsoidische und oft regelmäßige Saturnusformen auf. Bei besonders rasch wachsenden Kolonien, wie bei denen der von mir gezüchteten *Bacillus aërogenes capsulatus*-Stämme, ist die letztere Form vorherrschend und unter gewissen Umständen die ausschließliche. Die Kugelform ist in diesem Medium eigentlich die ursprüngliche Form des Kernes in stark vergrößertem Maßstabe; die Ellipsoidenform dessen zweidimensionale Umformung; die Saturnusform aber die Kombination beider, insofern sie eine von einem Ellipsoiden durchwachsene Kugel darstellt. Die Saturnusform ist durchaus mit einer Linsenform analogisierbar, der zwei große symmetrische Kernhälften aufsitzen, nur ist ihre Konfiguration den physikalischen Eigenschaften der Gelatine entsprechend mehr abgerundet. In Gelatineagar bilden auch die langsam wachsenden Arten regelmäßige Ellipsoiden- und Saturnusformen. Da zwischen letzteren und den besagten Formen der Gelatinekulturen eine vollkommene Identität besteht, wollen wir die allgemeine Betrachtung beider zusammenfassen.

Die regelmäßige Kugelform der Gelatinekolonien beruht außer den schon bei der Entstehung des Koloniekernes eingehender besprochenen Umständen einerseits in der relativ geringeren Kohäsion und der ausgesprochenen elastischen Zähigkeit der Gelatine, andererseits im relativ langsameren Wachstum dieser Kolonien. Die geringere Kohäsion ermöglicht eine leichtere Verdrängung des Mediums, das langsame Wachstum eine bessere, bleibendere Ausgleichung und folglich geringere Stauung der elastischen Spannung des Mediums. Die Zähigkeit des letzteren vermindert aber die Spaltbarkeit. Die höhere Konzentration der Gelatine beeinflusst die Kolonienform nur wenig, denn was an Widerstand gewonnen wird, verliert sich durch die starke Herabsetzung der Wachstumsgeschwindigkeit. In dicht gesäten Gelatineplatten fallen viele der Kolonien so nahe aneinander, daß zwischen denselben eine hemmende Wechselwirkung entsteht. Es kommen hier die bereits erwähnten Hemmungen, nämlich die elastische Spannung des Mediums und die negative Chemotaxis zur Geltung. Am einfachsten gestaltet sich die gegenseitige Beeinflussung bei nur zwei sich nebeneinander entwickelnden Kolonien. Dieselben erfahren bei ihrer Entfaltung an ihren gegenüber stehenden Hälften eine Wachstumsbehinderung, welche äußerlich den Anschein gibt, ob die Kolonien aneinander gepreßt wären (Fig. 15a). Die Annäherung der Kolonien findet ihr Ende, wenn die Oberflächen in engen Kontakt getreten sind. Eine vollkommene Verschmelzung scheint aber dabei niemals zustande zu kommen, denn bei geeigneter Lage läßt sich zwischen denselben immer eine äußerst dünne Schicht des Mediums wahrnehmen. Die scheinbare Verschmelzung von ganzen Kugelbündeln habe ich an Typhuskolonien beobachten können, die sich in bei Laboratoriumstemperatur langsam erstarrten 20-proz. Gelatineplatten bildeten.

Es trat hier noch vor dem völligen Erstarren des Mediums Vermehrung und Verteilung der Keime ein, so daß nach 1—2 Tagen die Platte voll von dichten Kugelhaufen war. Beim Weiterwachsen traten sämtliche Kolonienindividuen in enge Berührung und vereinigten sich unter entsprechender Modellierung ihrer Form zu einem einfachen Ellipsoiden oder einer regelmäßigen Kugel, an deren Oberfläche die Spuren der einzelnen Kolonien in Form seichter Furchen weiterhin bestanden (Fig. 15a—d). Diese Formen erinnern äußerlich sehr an die Furchungskugeln der Eizellen und sind wahrscheinlich identisch mit den Kolonienformen, die von Münden (6) als durch wahre Furchung entstandene behauptet wurden. Der Verschmelzungs Vorgang dieser Kolonienaggregate macht den Eindruck, ob dabei die Oberflächenspannung der einzelnen Kolonien oder vielmehr der von denselben eingenommenen Hohlräume der Gelatine mitwirken würde. Die Beteiligung dieser Kraft kann aber, abgesehen davon, daß es, wie erwähnt, zu keiner innigen Verschmelzung der Kolonien und somit auch nicht zur Bildung einer sich zu vermindern gemeinsamen Oberfläche kommt, schon wegen der starren Konsistenz der Gelatine nicht in Rechnung gezogen werden. Es ist aber leicht einzusehen, daß wir es hier mit einem anderen, jedoch analogen Vorgang, nämlich mit der durch die Zähigkeit der Gelatine bedingten

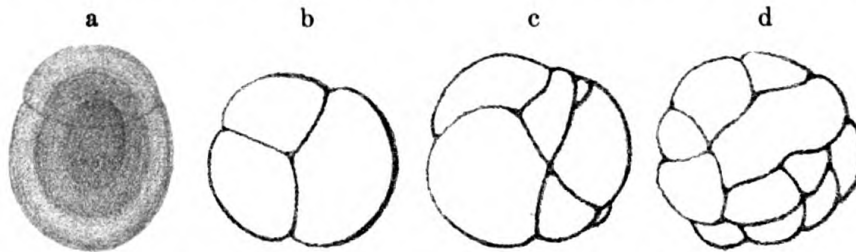


Fig. 15. *Bact. typhi*-Kolonien aus 5-täg. 20-proz. Gelatine kult.

Ausgleichung der Spannungsdifferenzen des gemeinsamen Spannungsmantels des Kolonienaggregates zu tun haben. Tritt beim weiteren Wachstum im verschmolzenen Kolonienkörper Zonenbildung ein, so verlaufen die einzelnen Schichten konzentrisch zur gemeinsamen Oberfläche und zeigen an der Grenze der einzelnen ursprünglichen Kolonien höchstens eine geringe Einschnürung, aber keine Unterbrechung (Fig. 15a).

Bei Bakterien von bedeutender Wachstumsenergie tritt auch hier früher oder später, je nach der Konzentration des Mediums und den wachstumshemmenden oder -fördernden Umständen das schon bei den Gasblasen und bei den Agarkolonien besprochene Mißverhältnis zwischen den selbst erzeugten Hindernissen und der Wachstumsfähigkeit der Kolonien ein. Infolge der bereits erwähnten physikalischen Eigenschaften des Gelatinenährbodens tritt in diesem die weitere kugelförmige Ausbreitung vereitelnde maximale Verdichtung oder innere Druckspannung verhältnismäßig sehr spät ein, so daß ganz beträchtliche Kolonien ohne die geringste Abweichung von der regelmäßigen Kugelform entstehen können. Ist aber die gewisse kritische Grenze erreicht, so tritt aus den mehrfach angeführten Gründen das zweidimensionale Wachstum ein. Ueben die hindernden Momente schon zeitlich und mit ganz langsamer, allmählicher Steigerung einen ausschlaggebenden Einfluß aus, so entfaltet sich die Kolonie in der Richtung des geringsten Widerstandes (die auch hier wahrscheinlich zumeist von der eventuell nur in der kritischen Zeit

bestehenden Ungleichmäßigkeit des Mediums bestimmt wird), und zwar in Form eines mehr oder weniger flachen Ellipsoides, der eigentlich einer dicken Linsenform entspricht. Wird die Grenze des sphärischen Wachstums gewissermaßen plötzlich erreicht, so geschieht der Uebergang der Kugelform in die Linsen- resp. Ellipsoidenform ohne eine allmähliche

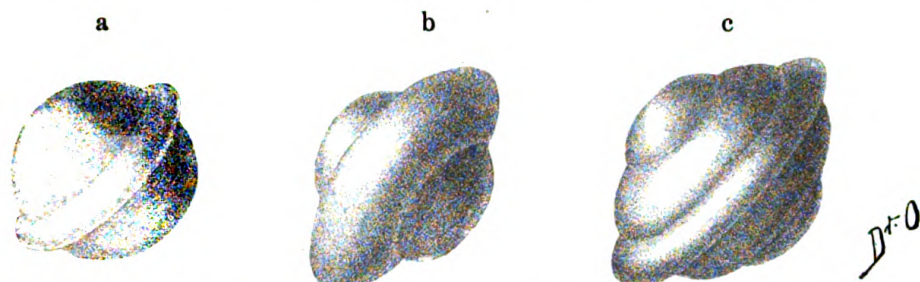


Fig. 16. Saturnusförmige Kolonien aus 3—4-täg. Agargelatinekult. von *Bact. typhi* (No. 28). Bei Oberl.

Abstufung und es entsteht in der Richtung einer Durchschnittsebene eine gegen die beiden Kugelhälften scharf abgesetzte Scheibe, die den ursprünglichen Kugelkörper ringförmig zu umfassen scheint. Diese äquatoriale Vorwölbung der Kolonienoberfläche, die allerdings als die Spaltung des Mediums aufzufassen ist, scheint auch hier fast immer von einem Punkte auszugehen und erst bei weiterem Fortschreiten (die ganze Kolonie als festgeschlossener Ring zu umfassen. Die Unregelmäßigkeiten des Ringes gleichen sich in der Regel bald aus, so daß eine radial und äquatorial vollkommen symmetrische Saturnusform entsteht (Fig. 16 a, b). Die äquatoriale Scheibe kann aber auch dauernd symmetrisch resp. exzentrisch bleiben und wächst dann in Form eines an seiner Basis kreisförmig abgerundeten Keiles weiter, welcher die beiden Halbkugeln der primären Kolonienform mehr und mehr voneinander drängt (Fig. 17 a).

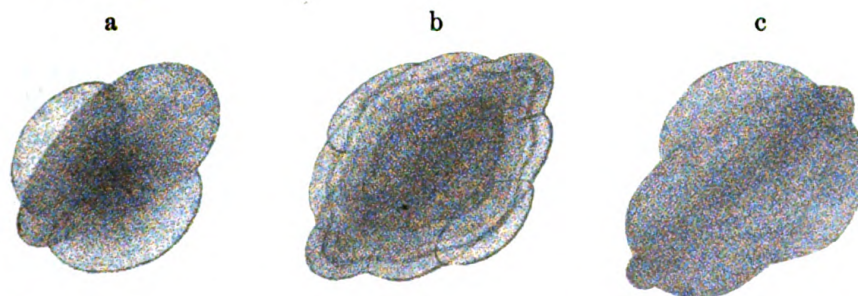


Fig. 17. a asymmetr. einfache Saturnusform aus 2-täg., b Saturnusform mit zweiter Spaltung aus 6-täg. 1,5-proz. Gelatinecult. von *Bac. aërogenes capsulatus*. c asymmetr. zweifache Saturnusform aus 4-täg. Agargelatinekult. von *Bact. typhi* (No. 29). Bei durchf. L.

Der neu entstandene Ring der Saturnuskolonie erreicht aber infolge der zähen Beschaffenheit der Gelatine bald die Grenze seiner äquatorialen Ausbreitung und nimmt nun mehr in der axialen Richtung zu. Da auch die beiden Kugelhälften durch die Gewölbespannung zunehmend abgeplattet und auseinandergezogen werden, rundet sich die saturnusförmige Kolonie mehr und mehr ab. Dieser Umstand bedingt nun aber eine

neue Stauung der Druckspannung, so daß bei anhaltendem Wachstum in der gleichen Weise wie vorher eine erneute Spaltung, d. h. eine zweite äquatoriale Ringbildung erfolgt. Wir haben jetzt bei der symmetrischen Saturnusform zwei konaxiale Scheibenpaare (Fig. 16c und 17b), bei der asymmetrischen dagegen, wenn die zweite Scheibe auch keilförmig ist, eine Knospenform (Fig. 26f), wenn sie jedoch planparallel ist, was oft vorkommt, in Seitenansicht eine Geigenform (Fig. 17c). Setzt sich die schubweise eintretende Ringbildung auch weiter fort, so entsteht zuweilen eine ganze Reihe der konaxialen Scheibenpaare, so daß sich zierliche, wie die in Fig. 18 dargestellten Formen bilden.

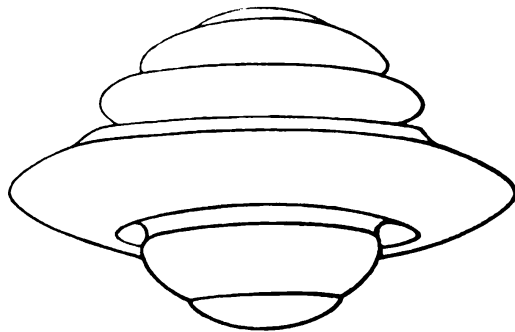


Fig. 18. Saturnuskolonie aus 8 Tage bei Laboratoriumstemp. gestand. 15-proz. Gelatine kult. von *Bac. aërogenes capsulatus*.

Daß verschiedene periodisch wechselnde äußere Einflüsse auf die graduellen Unterschiede dieser Kolonienformationen einen Einfluß haben müssen, ist selbstverständlich. Zu betonen ist aber, daß alle diese Formen auch in dem ganz gleichmäßig temperierten Gelatinethermostaten mit derselben Regelmäßigkeit entstehen, und ihr wahrer Grund liegt somit ganz entschieden in den periodisch wechselnden Spannungsdifferenzen, die sich zwischen der Kolonienmasse und dem verdrängten Medium abspielen.

III. Versuchsbelege.

Zur Illustrierung der bisherigen allgentenen Betrachtungen mögen nun kurz die Versuche berührt werden, welche zwecks Vergleiches der in Parallelkulturen sich bietenden artlichen Verschiedenheiten und zur Bestimmung der durch experimentelle Modifikation der einen oder anderen Wachstumsbedingung erhaltbaren Formveränderungen angestellt wurden. Die Kulturen wurden größtenteils im Gelatinethermostaten bei 20° C mehrere Tage bis Wochen gehalten und während eines längeren Zeitraumes täglich mit einer binokularen Lupe und unter dem Mikroskop kontrolliert. Die Zahlen, welche das Verhältnis der Achse zum äquatorialen Durchmesser ausdrücken, sind so gewonnen, daß an mindestens fünf typischen, mit ihrer Äquatorialebene der optischen Achse vollkommen parallel gerichteten Kolonien die Achse (ohne Kern) und der Durchmesser mit dem Zeiss'schen Okularschraubenmikrometer gemessen, die Summe der Achsenwerte als Einheit genommen, die der Durchmesser aber entsprechend reduziert wurde.

1) *Staphylococcus pyogenes aureus*.

a) Gelatine. No. 1¹). 15-proz. Gel. 20°. In 3 Tage alten schütterten Kulturen außer runden und zahlreichen, fast isodiametrischen ellipsoidischen viele Saturnusformen mit mäßiger Ringbildung.

b) Agargelatine. No. 2. 3-proz. Ag. und 12-proz. Gel. z. g. T. Feinkörnige Erstarrung. 2 Tage bei 28° gestanden. Dichte Kulturen.

1) Abkürzungen: Ag. = Agar; Dextr.-Ag. = Dextroseagar; Gel. = Gelatine; 37° = 37°iger Thermostat; 20° = 20°iger Gelatinethermostat; proz. = prozentig; z. g. T. = zu gleichen Teilen; ADV = Achsendurchmesserverhältnis.

Ueberwiegend sind dicke Linsenformen mit großen symmetrischen Kernen (Fig. 19b). Die Linsen haben ein ADV von 1:1,6. In geringerer Zahl sind Linsenformen vorhanden, deren Kern an der einen Seite auffallend groß ist. Einen Tag später deutliche Saturnusformen (d) und einige

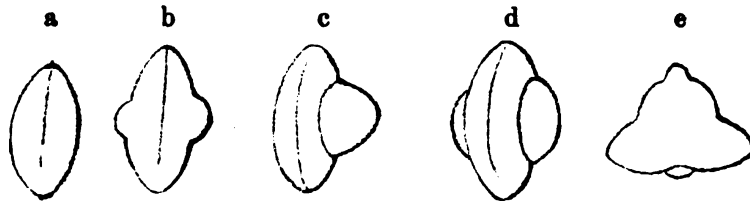


Fig. 19.

dem Dreiblatt entsprechende plumpe Kolonien mit Spaltung des einen Kernes (e).

No. 3. 3-proz. Ag. und 12-proz. Gel. z. g. T. Feinkörnige Erstarrung. 20°. Am 3. Tage größere kugelige Kolonien. Am 4. Tage wenige runde, viele asymmetrische und in der Mehrzahl regelmäßige Saturnusformen mit größtenteils mäßiger Ringbildung (Fig. 20 obere Reihe). Am 6. Tage tritt der Agartypus in den Vordergrund, indem der äquatoriale Ring zu einer dicken Linse wird und die Kerne sich zugleich abplatteln (Fig. 20 mittlere Reihe). Auch sekundäre Kernspaltung

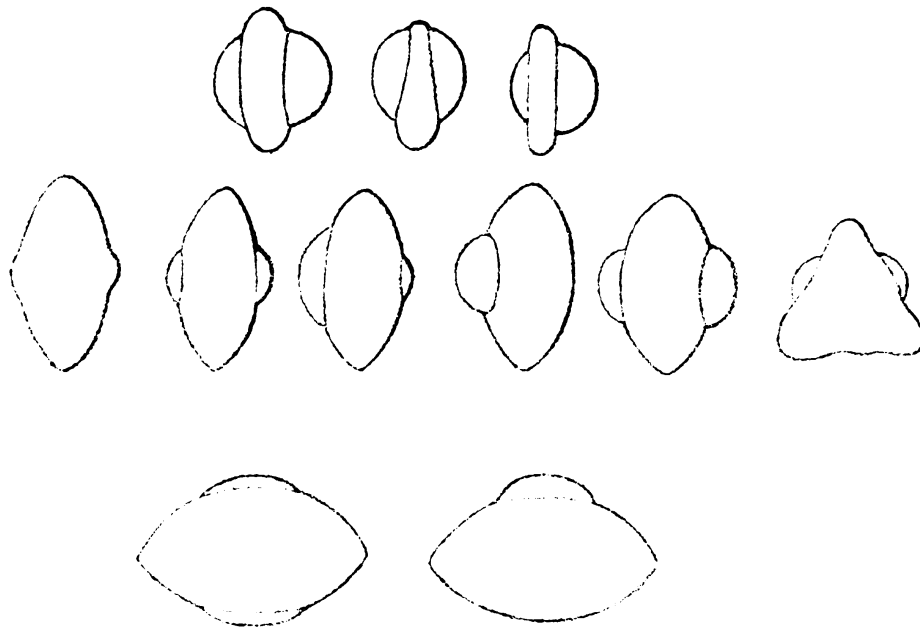


Fig. 20.

kommt vor (letzte Form der mittleren Reihe). Am 8. Tage haben sich die Kolonien der Ellipsoidenform noch mehr genähert (Fig. 20 untere Reihe).

No. 4. 2-proz. Dextr.-Ag. und 20-proz. Gel. z. g. T. 20°. Aehnlich No. 3. Zahlreiche sekundäre Kernspaltungen und Verwachsungen.

No. 5. 5-proz. Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. 20°. Innerhalb 3 Tagen haben sich zahlreiche typische Saturnusse, teils mit zweitem äquatorialen Ringe gebildet.

No. 6. 5-proz. Ag. und 30-proz. Gel. z. g. T. 20°. 2 Tage alte Kulturen. Fast ausschließlich regelmäßige, in mäßiger Anzahl radial asymmetrische Saturnusformen, teils mit zweiter Spaltung des äquatorialen Ringes. Einen Tag später breiter linsenförmiger Ring. Alle diese Kolonien sind auffallend durchscheinend, gelblichbraun. Nach 6 Tagen kamen die Kulturen in Laboratiumstemperatur (Max. 25°). Dabei bildeten sich, offenbar infolge Erweichung des Gelatinebestandteiles, an der ganzen Oberfläche feine zottenförmige Auswüchse, die am Äquator auffallend stärker entwickelt waren.

No. 7. 2-proz. Ag. 2 Teile und 30-proz. Gel. 1 T. 20°. Dicke Linsenformen.

No. 8. 5-proz. Ag. 4 Teile und 15-proz. Gel. 1 T. 20°. Dicke, große, relativ helle Linsen mit dem ADV 1:2,3. Wenige Saturnusse.

No. 9. 5-proz. Ag. 4 Teile und 30-proz. Gel. 1 T. 3 Tage bei Laboratoriumstemp. Glatte, helle Linsenformen mit dem ADV 1:2,7. Zahlreiche Tri- und Hexaphyllonkolonien. Kleine Kerne. Nach 10 Tagen trat infolge Temperatursteigerung erneute Spaltung ein, so daß die Linsen

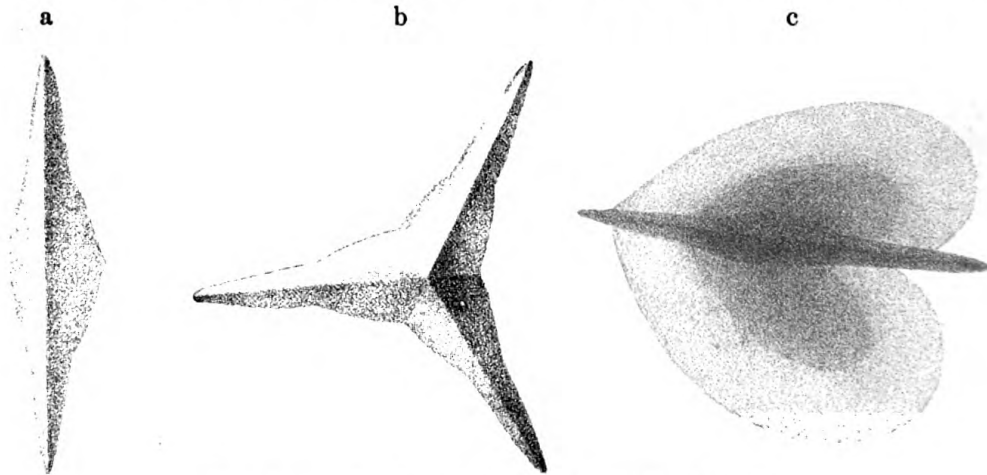


Fig. 21. a Linsen-, b und c Triphyllonkolonie.

jetzt von einem viel dünneren, helleren äquatorialen Ringe umgeben waren und das ADV 1:4,2 hatten (Fig. 21).

c) Agar. No. 10. 2-proz. Ag. 37°. 3 Tage alte Kulturen. Dickere, in der Seitenansicht fast schwarze Kolonien mit etwas warziger Oberfläche und mit oder ohne kleinere Kerne. Zahlreiche Dreiblattformationen in den verschiedensten Uebergängen (Fig. 5 und 6). In geringer Anzahl auch Hexaphyllonkolonien mit entsprechend dicken Blättern. ADV 8 Tage alter Kolonien 1:2,4.

No. 11. 5-proz. Ag. 37°. Nach 12 Stunden beginnende Spaltung mit den bereits beschriebenen Formen (Fig. 3). Nach 18 Stunden schon helle dicke Linsen und Saturnusse. Nach 24 Stunden auffallend helle Linsenformen mit dem ADV 1:2,7. Viele Triphyllon- und wenige kleinblättrige Hexaphyllonkolonien (Fig. 9a). Nach 3 Tagen schlanke, gelbbraune (typhusähnliche), sehr regelmäßige Kolonien mit dem ADV 1:2,8.

No. 12. 5-proz. Ag. 20°. 4 Tage alte dichte Kulturen. Auffallend helle, auch in der Seitenansicht durchscheinende (typhusähnliche), relativ schlanke Linsenformen. ADV 1:2,8. 3 Tage später dasselbe ADV. Schöne kombinierte und Verwachsungsformationen.

2) *Bacterium pneumoniae* (Friedländer).

a) Gelatine. No. 13. 15-proz. Gel. 20°. Innerhalb 8–10 Tagen bildeten sich wenige Ellipsoiden und in der Mehrzahl sehr regelmäßige Saturnusse mit geringer Ringbildung.

b) Agargelatine. No. 14. 5-proz. Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. 20°. 10 Tage alte Kulturen. Große, sehr regelmäßige, dicke Saturnusse.

No. 15. 2-proz. Ag. 3 Teile und 30-proz. Gel. 1 T. 20°. Nach 7 Tagen dicke, relativ helle Agartypen.

No. 16. 5-proz. Ag. 2 Teile und 15-proz. Gel. 1 T. 20°. In 7 Tage alten Kulturen verschiedenartige Saturnusformen (Fig. 22).



Fig. 22.

c) Agar. No. 17. 2-proz. Ag. 37°. Nach 2 Tagen dicke, in der Seitenansicht ganz schwarze Linsenformen mit dem ADV 1:2,2. Zahlreiche Tri- und Hexaphyllonkolonien mit vielen Uebergangsformen (Fig. 23 a–d). Nach 8 Tagen mit zugespitztem Aequator, aber demselben ADV (Fig. 23 e).

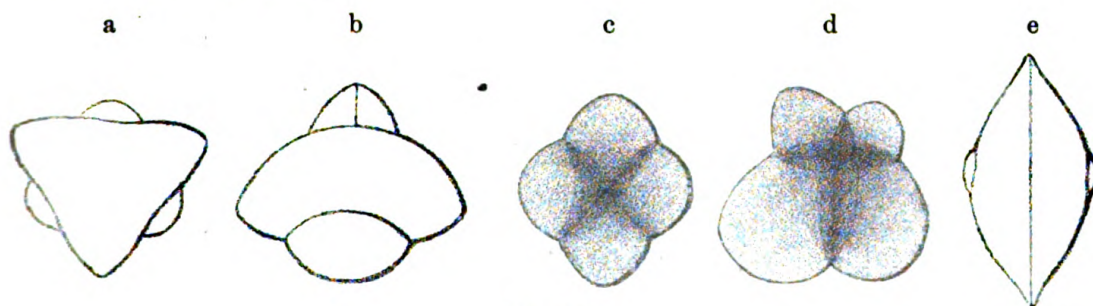


Fig. 23.

3) *Bacterium typhi*.

a) Gelatine. No. 18. 3-proz. Gel. 20°. Es bildeten sich zunächst große Kugel- und kaum angedeutete Birn- oder Ellipsoidenformen. Am 4.–5. Tage war ein Teil der Kolonien von mehreren dünneren und dickeren gewellten oder spiralig gedrehten Ausläufern besetzt (Fig. 24), die sich teils an die Stammkolonien anlegten, dieselben auch umrankten, teils weit in die Gelatine hineingewachsen und an den peripheren Abschnitten häufig in Keulenform übergegangen waren. An ellipsoidenförmigen Kolonien findet die Aussprossung meist aus einer enger begrenzten Fläche der Pole statt, wo sich die Ausläufer oft zu größeren Klumpen zusammenranken. In den nächsten Tagen wuchsen die einzelnen Spiralzüge der Auswüchse je nach ihrem Durchmesser zu kleineren oder größeren Ballen an, die infolge gegenseitiger Bedrängung zu flachen Scheiben geformt, perlschnurartige Reihen bildeten. Die Einzelglieder der Reihen nehmen peripherwärts an Größe zu. Bei geeigneter Lagerung war zu erkennen, daß dieselben von äußerst dünnen Zwischenschichten des Mediums voneinander getrennt waren. Einzelne Abschnitte der

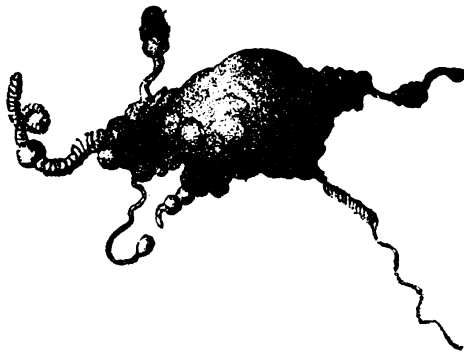


Fig. 24.

Reihen lösten sich ganz ab. Nach 10 Tagen kamen die Kulturen in wärmere Laboratoriumstemperatur. Dieser Umstand bedingte nun eine erneute dichtere, büschelförmige Aussprossung von äußerst dünnen, steifen, schwach gewellten und spiralgig gedrehten Fäden, welche nur geringe seitliche Verzweigung zeigten. Die Zartheit dieser mycelartigen Fäden läßt es vermuten, daß sie von einreihigen Bakterienketten bestanden.

No. 19. 12-proz. Gel. 20°. Nach 6—10 Tagen größtenteils fast isodiametrische ellipsoidenförmige Kolonien.

No. 20. 15-proz. Gel. 20°. Nach 3 Tagen überwiegend dicke Ellipsoidenformen und zahlreiche kaum angedeutete Saturnusse.

No. 21. 20-proz. Gel. Bei Laboratoriumstemp. nach 7 Tagen in der Mehrzahl dicke Ellipsoiden.

No. 22. 25-proz. Gel. 20°. Schon am 3. Tage außer vielen dicken ellipsoidischen zahlreiche asymmetrische und regelmäßige Saturnusformen, teils in die Ellipsoidenform übergehend (Fig. 25).



Fig. 25.

No. 23. 30-proz. Gel. 20°. Dichte Kultur. Nach 7 Tagen vorherrschend fast isodiametrische Ellipsoiden, teils mit Andeutungen einer Ringbildung.

No. 24. 30-proz. Gel. Laboratoriumstemp. In 7 Tage alten Kulturen sind in den dichteren Gebieten ellipsoidische, in den schütterten aber zahlreiche asymmetrische und regelmäßige Saturnusse mit Uebergängen zur Ellipsoidenform. In 1—1,5 Monate alten Kulturen erfolgte eine kristallinische Ausscheidung der zur Aufspeicherung gekommenen Zerfallsprodukte. Die stäbchenförmigen Kristallbündel lagerten sich parallel zur Oberfläche und bildeten eine Art konzentrische, zentralwärts an Dicke zunehmende Streifung. An den Kolonien selbst war zu dieser Zeit ein dunkler, homogener Kern und eine relativ schmale, helle Oberflächenschicht zu unterscheiden.

b) Agargelatine. No. 25. 2-proz. Ag. und 12-proz. Gel. z. g. T. Grobkörnige Erstarrung. Laboratoriumstemp. Nach 2 Tagen runde und schwach ellipsoidische Kolonien.

No. 26. 2-proz. Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. Laboratoriumstemp. In 2 Tage alten Kulturen außer wenigen runden zahlreiche verschiedene Saturnusformen, größtenteils mit mäßiger Ringbildung.

No. 27. 2-proz. Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. Grobkörnige Erstarrung. 20°. Nach 10 Tagen sehr große, dichtere und dünnere Linsen und Ellipsoiden mit Andeutung einer Ringbildung.

No. 28. 2-proz. Ag. und 12-proz. Gel. z. g. T. Feinkörnige Erstarrung. 20°. 2 Tage alte Kulturen. Außer wenigen ellipsoidischen und eiförmigen

in überwiegender Anzahl mannigfaltige, größtenteils regelmäßige Saturnusformen, teils mit Ringbildung zweiter Ordnung (Fig. 26). In den nächsten

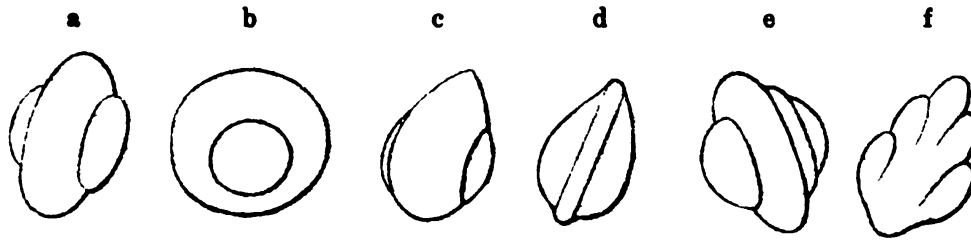


Fig. 26.

Tagen rundeten sich die Saturnusse durch Verdickung der Ringe und Abplattung der Kerne zu immer mehr ellipsoidischen Formen ab.

No. 29. 2-proz. Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. Laboratoriumstemp. Nach 2 Tagen wie No. 28. Am 8.—10. Tage war nach vorausgegangener Temperatursteigerung am Aequator der saturnusförmigen Kolonien ein Ring von divergent zerstreuten Tochterkolonien vorhanden. In den Außenteilen des Ringes waren die Kolonien mehr verteilt und viel

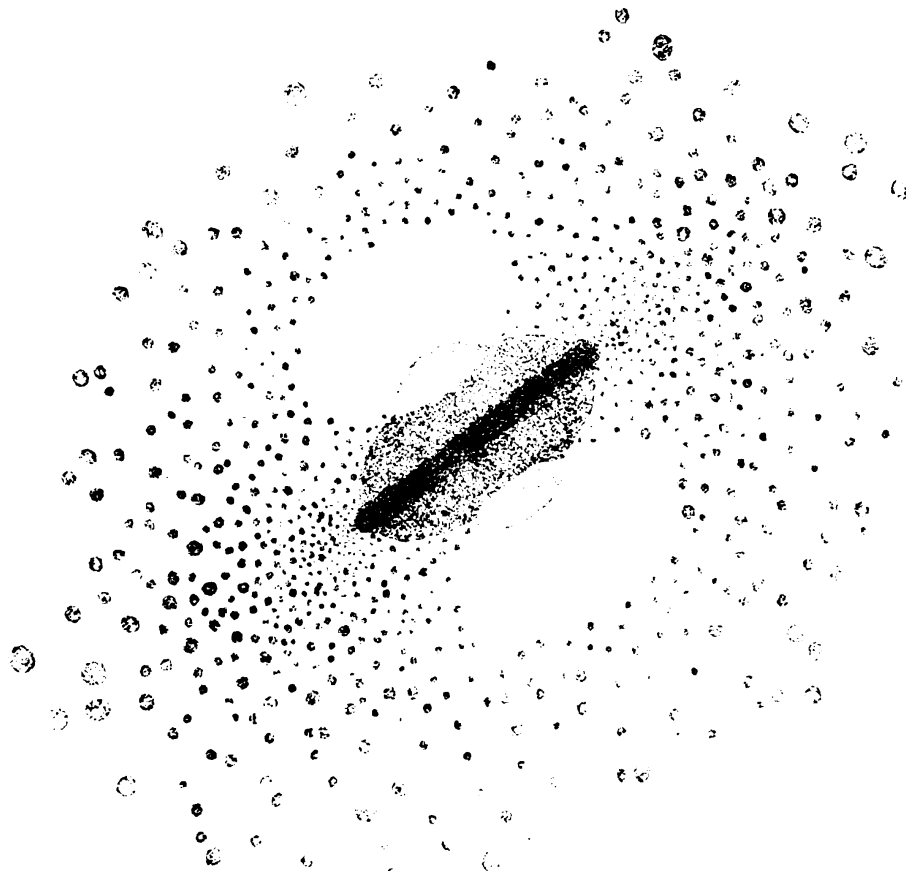


Fig. 27.

größer. Das über den beiden Seitenflächen der Kolonie befindliche axiale Spannungsgebiet blieb fast vollkommen frei von Tochterkolonien. Um vielen Kolonien bogen diese sekundären Koloniegaben nach oben und

unten ab und erfüllten um die Stammkolonie einen weiten kugelförmigen Raumausschnitt. Das axiale Gebiet des höchsten Druckes blieb aber auch weiterhin frei von Tochterkolonien. In Fig. 27 ist die Anordnung der letzteren in einem radialen Durchschnitte dargestellt. Gleich hier will ich bemerken, daß die Spannungszone des Mediums, welche die Kolonien umgibt, in Agargelatineplatten durch die ellipsoidische bis schmal linsenförmige peripherwärts abnehmende Abplattung der eingeschlossenen Agarkügelchen zum Ausdruck kommt. Um kugelförmigen Kolonien ist diese Deformierung der Agarkügelchen gleichmäßig, um den linsenförmigen über den Kuppen der Linsenfläche am stärksten, an dem Aequator aber kaum oder überhaupt nicht angedeutet.

No. 30. 2-proz. Ag. und 20-proz. Gel. z. g. T. 20°. Nach 2 Tagen runde Kolonien.

No. 31. 2-proz. Dextr.-Ag. und 20-proz. Gel. z. g. T. Feinkörnige Erstarrung. 20°. Am 3. Tage vorherrschend fast ellipsoidische Saturnusformen.

No. 32. 2-proz. Dextr.-Ag. 1 Teil und 30-proz. Gel. 2 T. 20°. Nach 6 Tagen ellipsoidische Kolonien. In ganz geringer Zahl Andeutungen einer Saturnusform.

No. 33. 2-proz. Ag. und 20-proz. Gel. z. g. T. Laboratoriumstemp. Nach 2 Tagen sehr dicke Linsenformen mit großen Kernen. ADV 1:1,8.



Fig. 28.

Teils mit sekundärer Spaltung des größeren Kernes. Zahlreiche nierenförmige Kolonien. Am 7. Tage zeigt sich um den Kolonien eine schmale Zone feinsten Körnchen, welche am Aequator und an den größeren Kernen eine besonders ausge dehnte, dichte büschelförmige radiäre Anordnung zeigten (Fig. 28). An den meisten Kolonien waren überhaupt nur an dem Aequator und an den

größeren Kernen bündelförmige Körnchenreihen vorhanden. Die Körnchen waren anfangs zentralwärts, später nach der Peripherie größer.

No. 34. 2-proz. Ag. 2 Teile und 25-proz. Gel. 1. T. 20°. Nach 2 Tagen sehr dicke Linsen mit dem ADV 1:1. 6 und mit großen teils

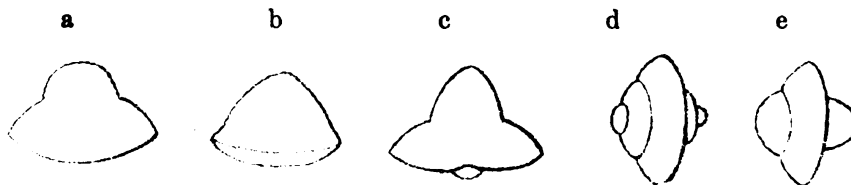


Fig. 29.

konischen, teils halbkugelförmigen Kernen. Mannigfaltige Uebergänge zur Triphyllon- (Fig. 29 a—c) und Saturnusform (d—e).

No. 35. 5-proz. Ag. und 20-proz. Gel. z. g. T. 20°. Nach 3 Tagen größtenteils dicke Linsenformen, hier und da Andeutungen von Saturnusformen. Fast alle Kolonien haben infolge Andrängung der zahlreichen großen Agarkügelchen teils auch mehrere, buchtige Einkerbungen.

c) Agar. No. 36. 1,5-proz. Ag. 5 Tage alte Kulturen. Dickere Linsenformen mit dem ADV 1:2,4. Große gleiche oder ungleiche Kerne und zahlreiche Uebergänge zur Dreiblattform.

No. 37. 2-proz. Ag. 20°. Nach 2 Tagen glatte, gelbbraun durchscheinende Linsenformen. ADV 1:2,6. Viele Triphyllonkolonieen in allen Uebergängen. 1 Tag später ADV 1:3, 5 Tage später 1:3,2. In 20-tägigen Kulturen der Aequator und teils auch der Kern der Kolonieen von größeren schollenförmigen, die Seitenflächen aber nur von körnchen-



Fig. 30. a Flächen-, b Seitenansicht.

artigen Auswüchsen besetzt. Später stellte sich auch an mehreren dieser Schollen eine linsenförmige Spaltung ein (Fig. 30).

In noch älteren Platten kamen über den Seitenflächen der Kolonieen kristallinische Stoffwechselprodukte zur Ausscheidung. In der Nähe des Aequators waren fast gar keine Kristalle vorhanden. In Eprovettenkulturen entwickelten sich nach 20 Tagen an den oberflächlichsten Kolonieen körnchen- und fransenförmige Auswüchse, die an den gegen die Oberfläche des Nährbodens gerichteten Seiten, und zwar hauptsächlich am Aequator am größten waren und der Tiefe zu allmählich verschwanden (Fig. 31).

No. 38. 2-proz. Dextr.-Ag. Laborat.-Temp. 5 Tage alte Kulturen ähnlich No. 37. Auffallend kleine Kerne. ADV 1:2,6. Nach

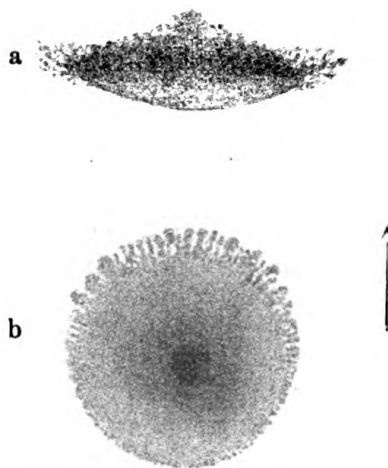


Fig. 31. Die Aequatorialebene der Kolonie a steht parallel, der Kolonie b senkrecht zur opt. Achse. Der Pfeil zeigt die Richtung der Nährbodenoberfläche.

20 Tagen platteten sich die Kolonieen infolge Austrocknung des Nährbodens ab und bekamen einen rhomboiden axialen Durchschnitt mit dem ADV 1:3,9. Gleichzeitig trat auch zwei- bis dreischichtige Zonenbildung ein.

No. 39. 5-proz. Ag. 37. Nach 12 Stunden absolut glatte, vollkommen kernlose, hellgelbbraune, fast durchsichtige schlanke Linsenformen mit dem ADV 1:3,1. Nach 24 Stunden ADV 1:3,8. Die Kolonieen sind in Seitenansicht wie No. 38 nach dem Eintrocknen (Fig. 32a). Die Seitenflächen stellen gewissermaßen zwei mit ihrer Basis aneinandergelegte sehr flache Kreiskegel dar. Nach 5 Tagen ADV 1:4,3. In manchen Platten auffallend viel etwas gekrümmte, pleurosigmaförmige Linsenformen mit dem ADV

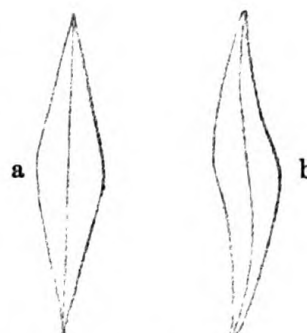


Fig. 32.

1:3,8 (Fig. 32b). Nach 18 Tagen beginnende Eintrocknung mit einfacher Zonenbildung.

4) Sproßpilze. *Saccharomyces cerevisiae*.

a) Gelatine. No. 40. 15-proz. Dextr.-Gel. 20°. Runde Kolonien, die nach einer Woche teils Andeutungen einer Ringbildung zeigten. Später erfolgte eine radiäre mycelartige Aussprossung an der ganzen Oberfläche.

b) Agargelatine. No. 41. 2-proz. Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. 20°. Nach einer Woche relativ kleine runde Kolonien mit radiärer Streifung und Aussprossung an der Oberfläche.

No. 42. 2-proz. Dextr.-Ag. und 10-proz. Gel. z. g. T. 20°. In 3 Tage alten Kulturen Saturnusformen und dicke Linsen. Plumpe Tri- und Hexaphyllonkolonien. Nach 3 Wochen waren sämtliche Kolonien dreier Platten an ihrer ganzen Oberfläche von Sproßverbänden dicht behaart.

No. 43. 2-proz. Dextr.-Ag. und 15-proz. Gel. z. g. T. 20°. Nach 2 Tagen dicke Linsenformen, die teils durch ihre großen Kernhälften

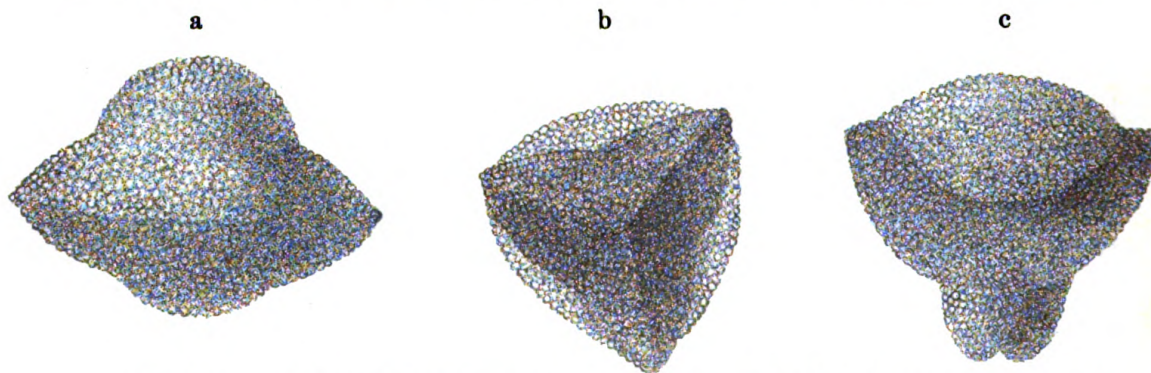


Fig. 33. a dicke Linsenkolonie, b und c Hexaphyllonkolonien; in c doppelte Spaltung des einen Segmentes. Bei komb. L.

an Saturnusse erinnern. Plumpe Tri- und Hexaphyllonkolonien (Fig. 33). In 7 Tage alten Kulturen große dicke Linsen, teils mit flachen Kernen; ADV 1:2.

c) Agar. No. 44. 2-proz. Dextr.-Ag. 20°. Nach 2 Tagen sehr dicke saturnusähnliche Linsen, zahlreiche schon erkennbare Tri- und



Fig. 34. 2-tägige Kolonien, die sich später zu mehr weniger regelmäßigen Hexaphyllonkolonien entwickelten. Bei durchf. L.

Hexaphyllonkolonien mit ganz schmalen, dicken Blättern (Fig. 34). Nach 3 Tagen sehr schöne große Linsen, Tri- und Hexaphyllonformen, teils vollkommen ausgebildet, teils in den verschiedensten Uebergangsstadien.

Das ADV der einfachen Linsen ist 1:3,1. In 6 Tage alten Kulturen sind die kombinierten Formen weitaus die vorherrschenden; einfache Linsen sind nur in geringer Anzahl vorhanden. Unter ersteren sind es

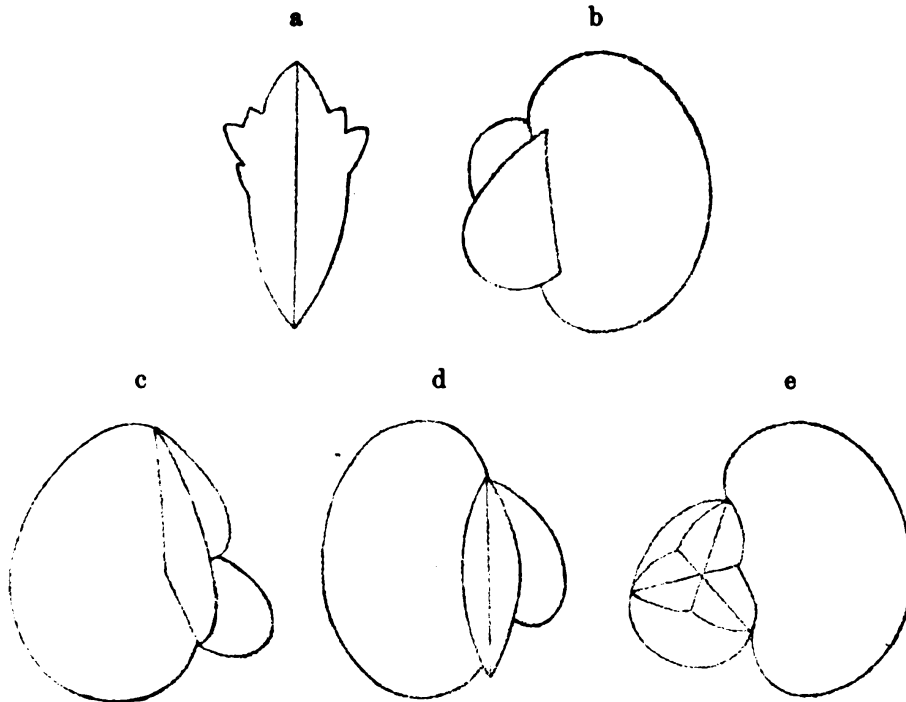


Fig. 35. a Linsenkolonie mit mehrfacher Spaltung der einen Seite; b Triphyllon mit einem größeren Blatte; c vierblättrige Kolonie; d Triphyllon mit ungleichen Blättern; e Hexaphyllon mit 3 gleichen und 3 ungleichen Segmenten.

wieder die Kolonien, mit drei gleichen Lappen, die das größte Kontingent stellen. Außerdem ist hier das bereits erwähnte Acht- und Zwölfblatt anzutreffen, ferner zahlreiche unregelmäßige und Uebergangsformen, von welchen die häufigsten in Fig. 35 dargestellt sind.

In 12 Tage alten Kulturen war eine vom Aequator und von den größeren Kernhälften der Kolonien ausgehende tamarixzweigförmige

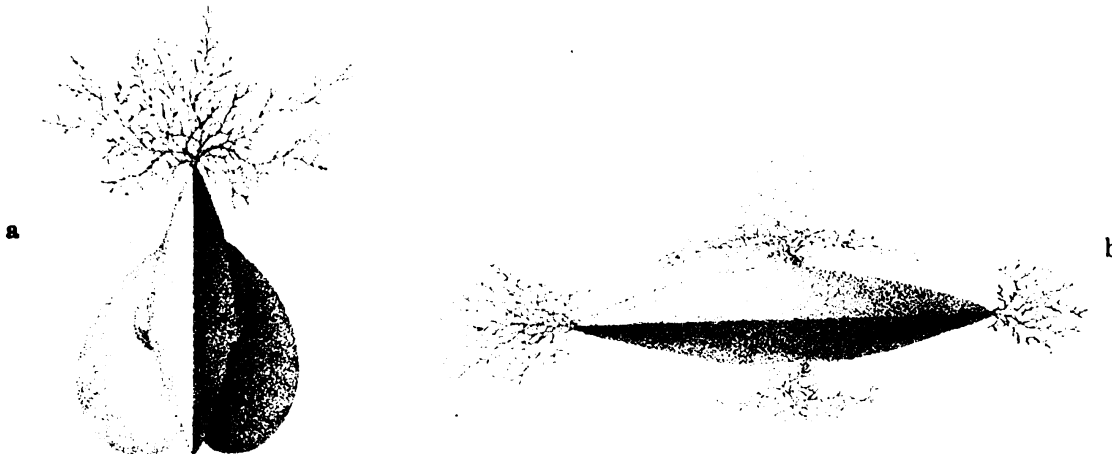


Fig. 36.
Heft 4.

Aussprossung zu beobachten (Fig. 36). Die vom Äquator ausstrahlenden Sproßverbände zeigen eine ungehinderte büschelförmige Verzweigung, dagegen die von den Kernen ausgehenden eine der Linsenoberfläche gleichgerichtete schirmartige und gedrückte Ausbreitung. Die aus dem axialen Spannungsgebiete herauswachsenden Sproßzweige hatten wieder eine freie Verzweigung (b).

Die geprüften zwei pathogenen *Monilia*-Stämme¹⁾ bildeten unter gleichen Umständen dieselben Formen wie *Saccharomyces cerev.*, nur waren hier infolge des etwas langsameren Wachstums die kombinierten Formen weniger zahlreich vorhanden. In 20—30 Tagen alten Kulturen trat eine von den äquatorialen Kanten ausgehende, bald die ganze Oberfläche überziehende mycelartige Aussprossung auf.

Ueberblicken wir die vorstehenden Versuchsergebnisse, so sehen wir, daß die Tiefenkolonien der Spalt- und Sproßpilze im allgemeinen durch entsprechende Modifizierung des Kohäsionszustandes des Nährmediums in allen möglichen Uebergangsstufen von der regelmäßigen Kugel- bis zur Linsenform erhaltbar sind; mit anderen Worten, daß die Form der Kolonien zur Kohäsion des Mediums im selben Abhängigkeitsverhältnis steht, wie wir es bei unseren Gasblasenversuchen beobachtet haben. Bei der für Agarmedien typischen Linsenform läßt sich der Grad dieser Beeinflussung durch das Verhältnis der Achse zum äquatorialen Durchmesser ausdrücken, welches einer Größe entspricht, die im umgekehrten Verhältnisse mit der Agardichte steht. Bei Typhus fanden wir z. B. die Verhältniszahl bei annähernd gleichen sonstigen Bedingungen für 1,5-proz. Agar 1:2,4, für 2-proz. 1:2,6 und für 5-proz. 1:3. Mit dem Altern der Kulturen wird der Unterschied zwischen Achse und Durchmesser infolge Eintrocknung des Nährbodens und Abnahme der Wachstumsintensität immer größer. In 5-proz. Agar war das ADV der Typhuskolonien nach 12 Stunden 1:3,1, nach 24 Stunden 1:3,8, nach 3 Tagen 1:3,9 und nach 5 Tagen 1:4,3. Infolge dieser Veränderlichkeit erscheint die Form der Tiefenkolonien allein bei Bakterien, die keine ganz besondere Kennzeichen, z. B. auffallende Durchwachsungsfähigkeit haben, ohne strenge Beachtung gewisser Bedingungen kaum zur Charakterisierung der Arten geeignet. Haben doch, wie gesehen, die Kolonien von *Staphylococcus pyogenes aureus* in 5-proz. Agar ungefähr dasselbe ADV und infolgedessen die gleiche Farbe und Durchsichtigkeit, wie die von *Bacterium typhi* in 2-proz.

In gleichen Medien und unter gleichen äußeren Bedingungen kann aber das ADV nur vom Maße der den Kolonien innewohnende Wachstumsenergie bzw. der maximalen Druckspannung, bei welcher die lebhafteste Vermehrung der Bakterienindividuen noch möglich ist, abhängen. Da letztere bei den einzelnen Bakterienarten relativ nur sehr geringe Schwankungen zeigt, so ist das die Kolonienform bestimmende ADV bei gleichen äußeren Bedingungen ein ziemlich konstantes. So zeigte dasselbe an 5 verschiedenen großen Typhuskolonien einer 5 Tage alten 2-proz. Dextroseagarkultur (No. 38) folgende Differenzen: 1:2,53, 2,55, 2,63, 2,65 und 2,73. Ob dieser Konstanz eine diagnostische Bedeutung zukommt, läßt sich auf Grund der vorliegenden nicht streng systematischen Untersuchungen kaum entscheiden. Es wäre deshalb von Interesse, das

1) Der eine wurde aus dem Sekrete einer chronisch infiltrierten, nicht tuberkulösen Lunge, der andere von einer schwarzen Haarzunge gezüchtet.

Verhalten des ADV bei den verschiedenen Arten in vollkommen gleichbeschaffenen Medien [die eventuell nach der von Dominikiewicz (7) neuerdings angegebenen Methode herzustellen wären] und unter ganz gleichen sonstigen Bedingungen in noch größerem Maßstabe zu studieren; um so mehr als sich hierbei, wenn auch nicht spezifische, doch recht charakteristische Gesetzmäßigkeiten für einzelne Arten ergeben könnten, welche als genau präzisierbare diagnostische Merkmale verwertbar wären.

Hinsichtlich der Konfiguration des radialen Durchschnittes ist zu beobachten, daß an rasch wachsenden Kolonien die Pole etwas stumpf zugespitzt sind (Fig. 2), später aber, wenn das Wachstum sich langsam wieder verringert, allmählich in spitzere Winkel übergehen (Fig. 23 e). Setzt aber in letzterem Stadium durch irgendein begünstigendes Moment, z. B. Temperatursteigerung, ein erneutes lebhafteres Wachstum ein, so löst sich die Spannung wieder und setzt sich erneut in eine Spaltung um, und die Kolonien zeigen dann an ihrer Peripherie eine schubweise eintretende dünnere Ausbreitung. Mit der Zeit wird aber unter allen Umständen das aktive Prinzip, die Vermehrung der Bakterien an Intensität geringer, während das passive Erzeugnis, namentlich die elastische Spannung des verdrängten Mediums und die Stauung der Stoffwechselprodukte beständig zunimmt, bis das Maximum dieses Mißverhältnisses erreicht ist, bei welchem die Kolonie als einheitliche, scharf abgeschlossene Masse überhaupt nicht weiterwachsen kann. Sind aber die allgemeinen Wachstumsbedingungen sonst noch vorhanden, so setzt eine neue Wachstumsphase, nämlich die in unseren Exempeln gesehene Aussprossung oder Ausschwärmung ein, welche zur Bildung von Tochterkolonien führen. In höherem Grade tritt diese Wachstumsart naturgemäß bei solchen Arten auf, die eine ausgesprochene Eigenbewegung haben, wie von unseren Testbakterien *Bact. typhi*. Bei immobilen Arten kann überhaupt nur eine Aussprossung oder eine passive Verlagerung durch Erweiterung oder Verflüssigung des Mediums zustande kommen. Je geringer der Konzentrationsgrad, überhaupt die Kohäsion des Mediums ist, um so eher treten diese Erscheinungen auf. Bei Typhus haben wir in 3-proz. Gelatine schon sehr bald eine ausgedehnte Ausläuferbildung (Fig. 24, No. 18) gesehen. Diese Erscheinung ist bekanntlich schon von mehreren Autoren beobachtet und teils auch als diagnostisches Merkmal verwertet worden. An älteren Kolonien der konzentrierteren Medien, namentlich des Gelatineagars und Agars kann eine Aussprossung oder Ausschwärmung durch die Wirkung einer Temperatursteigerung (No. 29) bedingt werden, erfolgt jedoch oft auch bei ganz gleichmäßigen Temperaturen (No. 44, Fig. 36). In allen Fällen haben wir diese Erscheinungen bei den flacheren Kolonieförmigkeiten vorwiegend an dem Äquator und an den Kernresten der Kolonien angetroffen. Die Seitenflächen der Linsenscheibe üben gewissermaßen eine hemmende Wirkung auf das Aussprossen resp. Ausschwärmen aus, deren Maximum gerade in der Achsenrichtung lag.

Welche die begünstigenden oder hemmenden Momente sind, die ihr Optimum an dem Äquator resp. an den Seitenflächen der Linsenscheibe haben, ist nach den vorhergehenden Ausführungen leicht zu ersehen. An den Linsenflächen ist nämlich die maximale Druckspannung des Mediums und die Anhäufung von Stoffwechselprodukten als Hemmnis, an den Kanten und Kernen dagegen ein Nullwert der Spannung, ein Optimum der Nährstoffzufuhr und ein Maximum der Diffusion der schädlichen Produkte als das Aufkeimen der Tochterkolonien begünstigende

Momente vorhanden. Der genannte Spannungszustand des Mediums kommt besonders sinnfällig an den mycelartigen Aussprossungen der Hefekolonien zum Ausdruck (Fig. 36). Die eigentümliche reihenförmige Anordnung der nach der Peripherie an Größe zunehmenden Tochterkolonien (Fig. 27 und 28) ist leicht erklärbar. Die später ausschwärmenden Zellindividuen werden nämlich in die Spuren ihrer Vorläufer gezwungen, berichtigen dann durch den Einfluß der chemischen Chemotaxis ihre gegenseitigen Abstände und wachsen an den der Stammkolonie am meisten entlegenen Gebieten, wo die hemmende Wirkung letzterer am geringsten ist, zu den größten Tochterkolonien an.

In den Röhrenkulturen haben wir in der Oberflächenschicht des Nährbodens (No. 37, Fig. 31) eine eigentümliche Form der Aussprossung, und zwar vorzugsweise an den gegen die Oberfläche des Mediums gerichteten Linsenkanten und -kernen gesehen. In dieser Schicht trifft nämlich das relative Maximum der Nährstoffzufuhr und der Diffusion der Stoffwechselprodukte zusammen; die Kanten und Kerne sind aber die optimalen Stellen der Aussprossung. Das Zusammenwirken dieser Umstände bestimmt nun die erwähnte Verteilung der sekundären Auswüchse.

Haben die Tochterkolonien an der Oberfläche der Stammkolonie oder in ihrer Umgebung eine gewisse Größe erreicht, so tritt auch bei diesen ein zweidimensionales Stadium, d. h. eine Spaltung ein. Sind die Wachstumsbedingungen auch weiterhin vorhanden, so wiederholt sich die Aussprossung oder Ausschwärmung und es entstehen Tochterkolonien zweiter, dritter und höherer Ordnung, die sich bei ihrer Entstehung, Spaltung und Berührung durch die Druckausgleichung und negative Chemotaxis in derselben gesetzmäßigen Weise beeinflussen, wie es bei der einfachen Linsenform und bei den ersten Tochterkolonien besprochen wurde. Auf diese Weise entstehen jene gewissermaßen mit geometrischer Regelmäßigkeit aufgebauten, an Reifblumen erinnernden, lockeren Riesentiefenkolonien, die Saul als Einheiten höherer Ordnung oder als einheitlichen Organismus beschrieben hat.

In betreff der Zonenbildung ist aus unseren Beobachtungen zu ersehen, daß dieselbe nicht immer als Ausdruck eines täglichen Temperaturwechsels oder der Schwankung anderer physikalischen Einflüsse, also auch nicht als Tagesringe, betrachtet werden können. Die Zonen entstanden in unseren Kulturen auch im gleichmäßig temperierten und gelüfteten, dunkeln Gelatinethermostaten; andererseits war die Zahl der Schichten unvergleichlich weniger (2—3) als die der Entwicklungsstadien (12—18). Unter gleichmäßigen und natürlich teils auch unter wechselnden Wachstumsbedingungen ist die Zonenbildung allerdings, wie dies meines Wissens auch schon von anderer Seite behauptet wurde, der Ausdruck verschiedener Entwicklungszustände. Der zentrale, dunkle Kern wird gewiß von abgestorbenen oder in Involution begriffenen zusammengepreßten Zellen gebildet; die eventuell eingeschalteten Uebergangsschichten enthalten lebende, aber schon dicht zusammengepreßte, sich nicht weiter vermehrende, die oberflächliche Zone aber sich noch lebhaft vermehrende Zellen. Die Schichten entsprechen also höchstwahrscheinlich den Optimal- resp. Maximal- und Minimalzonen gewisser äußerer und innerer Einflüsse, namentlich der Nahrungszufuhr, der Druckspannung und der Stauung von Stoffwechselprodukten.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß die durch die vorliegenden Auseinandersetzungen für die Entstehung der Bakterientiefen-

kolonien gewonnene Erkenntnis auch zur Erklärung anderer in halbfesten elastischen Medien entstehenden ähnlichen Formbildungen, so z. B. der Augulinse und der Cysten, der Sarkosporidien verwertet werden kann.

IV. Anhang über die Form der Oberflächenkolonien.

Bei dieser Gelegenheit seien anhangsweise in bezug auf die Oberflächenkolonien der gegossenen Plattenkulturen einige Beobachtungen angeführt.

Ein geringer Teil der Oberflächenkolonien entwickelt sich aus direkt an der Plattenoberfläche liegenden Keime, diese Kolonien sind, wenn sie sich ungestört entfalten können, in den ersten Tagen (besonders bei immobilen Arten) kreisrund und haben überhaupt keinen scharf abgegrenzten Kern. Die überwiegende Zahl der Oberflächenkolonien entwickelt sich jedoch aus emporgewachsenen Tiefenkolonien, welche dann den Kern der ersteren bilden. Je näher eine Tiefenkolonie zur Oberfläche steht, um so eher erreicht sie dieselbe und um so kleiner wird der Kern oder Zentralkorn sein. Nach der Lage der betreffenden Tiefenkolonien kann auch der Kern der oberflächlichen die verschiedenen Formen der Tiefenkolonien haben. Die Lage der Tiefenkolonie beeinflusst in Agarkulturen auch die Form der Oberflächenkolonie. Steht die Axe der linsenförmigen Kolonie senkrecht oder parallel zur Plattenfläche, so wird die aus ihr hervorgehende Oberflächenkolonie kreisrund. Steht die Linsenachse aber schief zur Plattenfläche, so daß letztere zuerst von der Linsenkante erreicht wird, so entstehen fächer- und nierenförmige Oberflächenkolonien, Erscheinungen, die aus der negativen Chemotaxis leicht zu erklären sind. In der Fortsetzung des Linsenäquators können nämlich die Bakterien in diesem Falle auf ganz reiner Agarfläche wachsen, über der Kolonie selbst ist aber die Agarschicht von diffusiblen Stoffwechselprodukten erfüllt, die auf die Vermehrung der Bakterien hemmend wirken. Infolge dieser Hemmung bleibt das Wachstum der Oberflächenkolonie über der tiefliegenden zurück, was in der kleineren und größeren Einbuchtung der ersteren zum Ausdruck kommt.

Auch die radiär gelappte Form der älteren Oberflächenkolonien läßt sich durch den Einfluß der negativen Chemotaxis erklären. Erwägt man nämlich, daß das Wachstum aller, so auch der Oberflächenkolonien, im wesentlichen unter der hemmenden Wirkung der negativen Chemotaxis steht, welche im Mittelpunkt der Kolonie ihr Maximum, an der Peripherie aber ihr Minimum hat, ferner daß die genannte Hemmung nach gewisser Zeit auch an der Peripherie, welche relativ langsamer als die Fläche zunimmt, die Vermehrung besonders stark beeinflusst, so ist es leicht verständlich, daß in letzterem Stadium Zellen, welche die Peripherie etwas überragen, in gewissem Vorteile sind und sich rascher vermehren werden als die übrigen. Beim Fortschritt des Wachstums be richtigen diese bevorzugten Stellen wieder durch die negativ-chemotaktische Beeinflussung ihre Abstände und wachsen zu kleineren Lappen aus. Die dazwischen liegenden Teile werden hierdurch naturgemäß noch mehr behindert und bleiben im Wachstum ganz zurück. Die negative Chemotaxis der einzelnen Lappen sucht den Abstand derselben zu erweitern und verhindert somit, wenigstens für längere Zeit, das sekundäre Zusammenwachsen derselben. Später können an den ersten in derselben Weise auch weitere Lappen zweiter und dritter Ordnung entstehen. —

Das frühzeitige Auftreten der genannten Vorsprünge, welche die Ausgangspunkte der Lappen bilden, kann durch die Beweglichkeit der betreffenden Bakterienart oder durch lebhafteres Flächenwachstum bedingte Fältelungen begünstigt werden.

Den Einfluß der negativen Chemotaxis auf die Lappenbildung der Oberflächenkolonien konnte ich besonders sinnfällig beobachten, wenn derselbe infolge der Spärlichkeit des Nährbodens gesteigert war. Es zeigte sich, daß gewisse Bakterien- und Hefearten (mit ersteren habe ich nur einige Versuche angestellt), die auf dicken Nährbodenschichten scharf begrenzte rundliche Kolonien bildeten, auf sehr dünnen Schichten, je nach der Dicke derselben, vielfach gelappte, bis laubmoos- oder mycelartig gegliederte, reich verzweigte Kolonien ergaben.

Davon, daß auf die Form der Oberflächenkolonien auch die Schwere einen gewissen Einfluß haben kann, konnte ich mich bei *Saccharomyces cerev.* überzeugen. Einige der Dextrosegelatineschalen wurden nämlich absichtlich mit dem Deckel nach unten (wie Agarplatten) gelegt. An diesen Platten bildeten die Oberflächenkolonien, welche unmittelbar von der Fläche oder aus der oberflächlichen Schicht ihren Ausgang genommen haben, 3—5 mm lange, an ihrer Basis kaum 1,5 mm breite und nach unten sich verjüngende Eiszapfenformen, während die aus dem Nährboden emporgewachsenen die gewöhnliche, nur etwas dickere plankonvexe Ausbreitung zeigten. — Es läßt sich diese Erscheinung meines Erachtens nur als die Einwirkung der Schwere auffassen, welche bloß bei den ganz oberflächlichen und nicht bei den tiefer eingewurzelten Kolonien zur Geltung kommen konnte. Auf Agarplatten war die Zapfenform nicht zu beobachten. Hier ist die Adhäsion der Zellen, offenbar infolge des Vorhandenseins einer dünnen Kondenswasserschicht, viel größer.

C. Zusammenfassung.

1) Die Form der Tiefenkolonien ist keine autonome Bildung, sondern ein Erzeugnis des elastischen Widerstandes des verdrängten Mediums. Die Bakterien spielen dabei nur durch ihr expansives Wachstum eine aktive Rolle. Für die Modellierung der verschiedenen Formen ist in erster Reihe der Kohäsionszustand des Nährbodens, in geringerem Grade die Wachstumsintensität der betreffenden Bakterien- oder Hefeart und das gegenseitige Verhältnis der Wachstumsbedingungen maßgebend.

2) In der Entwicklung der Tiefenkolonien lassen sich drei Phasen unterscheiden. Die erste entspricht dem Kerne der späteren Kolonienform und entsteht einfach durch die kugelförmige Zusammenlagerung der unter dem Drucke des Mediums stehenden Zellen. — Hat die Kolonie in diesem Stadium die ihr Wachstum überhaupt noch zulassende maximale Verdichtung erreicht, so stellt sich die zweite Phase ein, die in der hauptsächlich zweidimensionalen Ausbreitung der Kolonie besteht und zur Spaltung des Mediums führt. — Hat sich das Kolonienwachstum auch in diesem zweiten Stadium durch die selbst erzeugten Hindernisse (Spannungswiderstand und negative Chemotaxis) erschöpft, so tritt, wenn die allgemeinen Wachstumsbedingungen sonst noch vorhanden sind, die dritte Phase ein, welche in einer von den Stellen des

geringsten Widerstandes ausgehenden Aussprossung oder Ausschwärmung besteht und bei dauerndem Fortschreiten zur Bildung locker gefügter, mycelartiger Riesentiefenkolonieen führt.

3) Langsam wachsende Kolonieen bleiben in der üblichen Nährgelatine dauernd in der primären Kugelform; rascher wachsende gehen aber nach einer gewissen Zeit in die zweite Entwicklungsphase über, der hier die Ellipsoiden- und Saturnusform entspricht. Letztere ist die Kombination der Kugel und des Ellipsoides.

4) In Agarmedien stellt sich die zweite Phase je nach der Dichte derselben etwas früher oder später, im allgemeinen aber sehr bald ein und führt zur Bildung der linsenförmigen Kolonieen, an deren Seitenflächen (besonders in weicheren Medien) die beiden Halbtteile des gespalteten primären Kernes in Form kleiner Knöpfe erhalten bleiben.

Nach asymmetrischer Spaltung des Kolonieenkernes können aus Kolonieen, deren Zellindividuen sich auch in den zentralen Teilen lebhaft vermehren, durch wiederholte Spaltung kompliziertere Kolonieenformationen entstehen, deren Bildungsvorgang von der dem stabilen Gleichgewichtszustande zustrebenden Ausgleichung der Spannungsdifferenzen des Mediums geleitet wird, und die bei vollkommener Ausbildung aus gleichgroßen, mit geometrischer Regelmäßigkeit zusammengeordneten Linsensegmenten bestehen. Aus zwei Spaltungen entsteht das Dreiblatt (Triphyllon); aus drei aber das Sechsbblatt (Hexaphyllon), welches den Halbierungsebenen der Kantenwinkel eines Tetraeders entspricht. Bei den Hefen kann als seltene Erscheinung auch ein Achtblatt (Okta-phyllon) und ein Zwölfblatt (Dodekaphyllon) vorkommen. Erstere Form entsteht durch vier Spaltungen und entspricht ungefähr den Kantenhalbierungsebenen eines halben Oktaeders, letztere geht aus fünffacher Spaltung hervor und entspricht den Kantenhalbierungsebenen eines Hexaeders.

5) Durch die Aenderung der Konzentration der genannten Nährböden, besonders aber durch deren graduelle Mischung, lassen sich alle möglichen Uebergangsformen (Ellipsoiden-, Saturnusform etc.) zwischen den Grenzformen, namentlich der Kugelform und der Linsenform, darstellen.

6) Ein Analogon zu den Tiefenkolonieen sind hinsichtlich der Form die Gasblasen, die in dextrose- oder sodahaltigen Nährböden oder in halbfesten elastischen Medien überhaupt, durch biologische Prozesse gewisser Bakterien oder experimentell durch Säureeinwirkung entstehen. Auch hier lassen sich durch entsprechende Aenderung des Aggregates die verschiedensten einfachen Verbindungsstufen von der regelmäßigen Kugelform bis zur ganz flachen, spaltähnlichen Linsenform herstellen.

7) Das formbestimmende ursächliche Moment der Gasblasen und Tiefenkolonieen ist vollkommen identisch und beruht auf dem Prinzip des kleinsten Kraft- resp. Arbeitsmaßes. — Bei gegebener Volums-

zunahme stellt das halbfeste, mit Gestaltelastizität behaftete Medium linsenförmigen Gasblasen und Kolonien einen geringeren Widerstand entgegen als runden; somit können erstere ein gegebenes Volumen mit relativ geringerer maximaler innerer Druckspannung, also mit geringerer Arbeit erreichen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Jendrássik, E., Ueber eigentümliche, geometrisch-regelmäßige Bakterienkolonien. (Ungar. Arch. f. Med. Bd. 1. 1892. No. 1.)
— —, Geometrialag szabályos bakterium-kolóniákrol. (Magy. Orv. Arch. 1891.) [Ungarisch.]
- 2) Will, H., Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1906.)
— —, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. 21. 1898. No. 33—37.)
- 3) Saul, E., Beiträge zur Morphologie des Staphylococcus albus. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 47.)
— —, Beiträge zur Morphologie des Typhusbacillus und des Bacterium coli commune. (Ebenda. 1901. No. 50.)
— —, Beiträge zur Morphologie der pathogenen Mikroorganismen, Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillus. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 10.)
- 4) Dunham, zit. nach Hutchinson.
- 5) Hutchinson, H. B., Ueber Form und Bau der Kolonien niederer Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1906. No. 3—21.)
- 6) Münden, zit. nach Hutchinson.
- 7) Dominikiewicz, M., Zur Frage über die Einheit der Zusammensetzung und Herstellungsweise von Nährsubstraten für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. No. 2.)

Nachdruck verboten.

Ueber Uebertragungsversuche von Haemoproteus Orizivorae und Trypanosoma paddae, nebst Bemerkungen über den Entwicklungsgang des ersteren.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg
(Leiter Medizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von Dr. German Anschütz,

Sanitätsinspektor des Gesundheitsamts zu Buenos Aires (Argentinien). †

Mit 2 Tafeln.

Infolge des großen Interesses, das der Trypanosomenforschung in der letzten Zeit von medizinischer und zoologischer Seite entgegengebracht worden ist, sind wir auch mit einer großen Zahl von Trypanosomen der Fische, Amphibien, Reptilien und Vögel bekannt geworden.

Ueber Vogeltrypanosomen liegt bereits eine größere Zahl von Untersuchungen von Danilewsky, Ziemann, Schaudinn, Novy, Mesnil, Zupitza u. a. vor. Levaditi entdeckte 1904 das Trypanosoma paddae und Thiroux untersuchte später die Morphologie und Biologie desselben genauer.

Gelegentlich unserer Haemoproteus-Studien fanden wir in einem von den vielen untersuchten Reisvögeln (Padda Orizivora) auch das große Trypanosoma paddae von ungefähr 40 μ Länge und 6 μ Breite; die lange Gestalt ist spindelförmig, lateral flach zusammen-

gedrückt; das Vorderende verjüngt sich und endet mit einer freien Geißel, während das geißellose Hinterende sich allmählich zuschärft (Fig. 1—10).

Die eine Seite des flachen Körpers läuft flach in den Randsaum der undulierenden Membran, die in ihrer Kante den Randfaden trägt, aus. In der äußeren Umhüllung, dem Periplast, sind bei entsprechenden Vergrößerungen, helle Linien beobachtet worden, die den Myophanen entsprechen. In den nach Giemsa mit Eosin-Azur gefärbten Ausstrichen färbt sich der Blepharoplast intensiv rot, ist rundlich oder eiförmig und vom Hinterende wie vom zentralen Kern im allgemeinen ziemlich gleich weit entfernt. Der letztere Kern ist groß, rundlich oder oval, sehr chromatinarm, und besitzt einen zarten alveolaren Aufbau. Im Inneren wurde oft ein kleines, zuweilen spindelförmiges Karyosom nachgewiesen.

Auch bei diesem *Trypanosoma* kann man vielfach zwei Formentypen nachweisen: eine schmälere Form mit etwas länglichem Kern und gut ausgebildetem Blepharoplast, die man als die männliche Form ansprechen kann (Fig. 1, 8, 9) und eine breite Form mit nach Giemsa lichtblau färbbarem Protoplasma, deren Kern oft quer gelagert ist und die den weiblichen Typus darstellen würde; die undulierende Membran ist oft unbedeutend und schwer darstellbar (Fig. 3, 5, 6); bei manchen Formen scheint sie zu fehlen.

Bei der Vermehrung (Fig. 7—10) wird der Blepharoplast größer und teilt sich in zwei Teile, worauf von dem neuen Tochterteil längs der alten undulierenden Membranfibrille eine neue entsteht. Wir konnten einmal im nativen, mit Vaseline umrandeten Präparat aus Lungenpreßsaft den Teilungsvorgang während des Lebens verfolgen. In dem sodann wesentlich verbreiterten Organismus tauchten in der Nähe des geteilten Blepharoplasts 2 Vakuolen auf, die sich bei den heftigen Bewegungen des *Trypanosoma* zu verschieben schienen. Der Zelleib verbreiterte sich zusehends und es bildete sich in der Mitte eine Durchschnürungsrinne aus. Nach etwa 5 Stunden spaltete sich das breite *Trypanosoma* unter eigenartigen Verschiebungen im Inneren, die sich besonders an den beiden Vakuolen bemerkbar machten. Durch die heftigen Bewegungen der beiden Geißelapparate wurde zwischen den beiden Zelleibern eine sich stetig verschmälernde Protoplasmabrücke ausgezogen. Die Lokotionsorgane der beiden Tochterindividuen arbeiteten dann nach verschiedenen Richtungen, da aber die Energie der beiden Sprößlinge zunächst gleich war, fand keine nennenswerte progressive Bewegung statt. Nach 8½ Stunden wurden die *Trypanosomen* gegen eine Luftblase gedrängt und zerrissen hier die letzte Verbindungsbrücke (Fig. 10).

Im nativen Präparat kam einmal bei einer starken Infektion auch eine Rosettenbildung (Agglomeration) wie bei *Trypanosoma Lewisi* zustande, die schon Thiroux¹⁾ beschrieben hatte.

Die Beobachtung der früheren Forscher, daß das *Trypanosoma paddae* bei starken Infektionen die Reissvögel tötet, konnten wir bestätigen.

Es gelang uns ebenso das *Trypanosoma paddae* durch intramuskuläre Injektion auf Kanarienvögel zu übertragen, aber bei unseren Versuchen traten die *Trypanosomen* schon nach 3—4 Tagen meistens

1) Thiroux, Recherches morphologiques et expérimentales sur *Trypanosoma Paddae*. (Ann. Institut. Pasteur. Fév. 1905).

im Blute auf. Es kam auch vor, daß sie in unregelmäßigen Perioden aus dem Blutkreislauf verschwunden sind, um wieder aufzutreten. Die gestorbenen Vögel wiesen eine Splenomegalie und auch Hepatomegalie auf.

Trypanosoma paddae konnten wir nicht auf Tauben, Hühner, Eulen sowie Kaninchen und Ratten übertragen. Es wurden Versuche gemacht, die Trypanosomen auf Kaninchenblutagar nach Novy zu züchten, und nur einmal ist es uns gelungen, die Trypanosomen längere Zeit zu halten. Thiroux kultivierte zuerst *Trypanosoma paddae* vollständig auf Agarnährboden mit Gänseblut, aber es mißlang ihm die Kultur auf Taubenblutagar. Die Morphologie der Kulturformen wird in seiner oben zitierten Arbeit ausführlich beschrieben.

Unter Chinineinfluß 1:500 starb bei unseren Versuchen *Trypanosoma paddae* etwa nach 15 Minuten ab; der Körper schwillt an und rundet sich derart ab, daß die beiden Zehleibenden wie mehr oder weniger lange Spitzen dem zentralen Teil ansitzen. Die übrigen Vorgänge sind ebenso wie bei *Trypanosoma Brucei*¹⁾ nämlich tropfige Entmischung und Kavulation des Protoplasmas, nachträgliche Auslaugung und Schrumpfung des Zelleibes, von dem schließlich nur der Periplast, Kern und Randfaden der undulierenden Membran übrig bleibt (Fig. 11 und 12).

In den der Krankheit erliegenden Vögeln fanden wir mehrmals in den inneren Organen (hauptsächlich Lunge und Gehirn) einen großen, oft zweikernigen pilzartigen Mikroorganismus, der sich der Quere nach Art der Pilze vermehrte (Fig. 13).

Bezüglich des *Haemoproteus Orizivorae*, dessen Entwicklungsgang wir zum Teil im Centralblatt für Bakteriologie Bd. 51 H. 6 beschrieben und von dem wir erwähnt haben, daß in der Leber und Milz eine asexuelle Vermehrung stattfindet, sei auf Grund neuerer Beobachtungen folgendes nachgetragen.

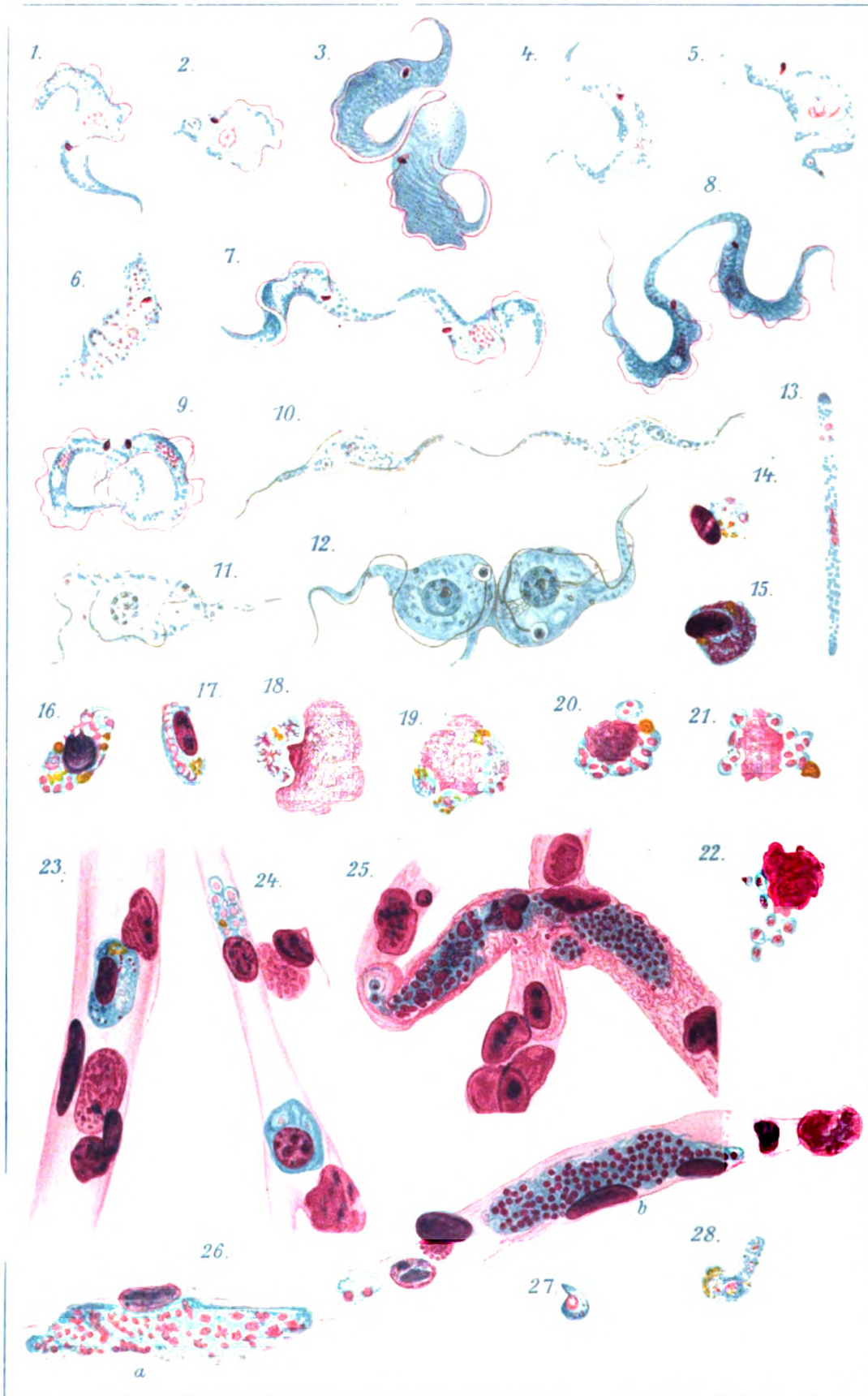
Uns gelang es jetzt, bei einem Reisvogel dieselben Vermehrungsstadien auch in Knochenmark-, Gehirn- und Lungenausstrichen zu finden. Sie sind den Stadien, die Beaurepaire de Aragão für den *Haemoproteus* der südamerikanischen Tauben beschrieben hatte, zum Teil sehr ähnlich.

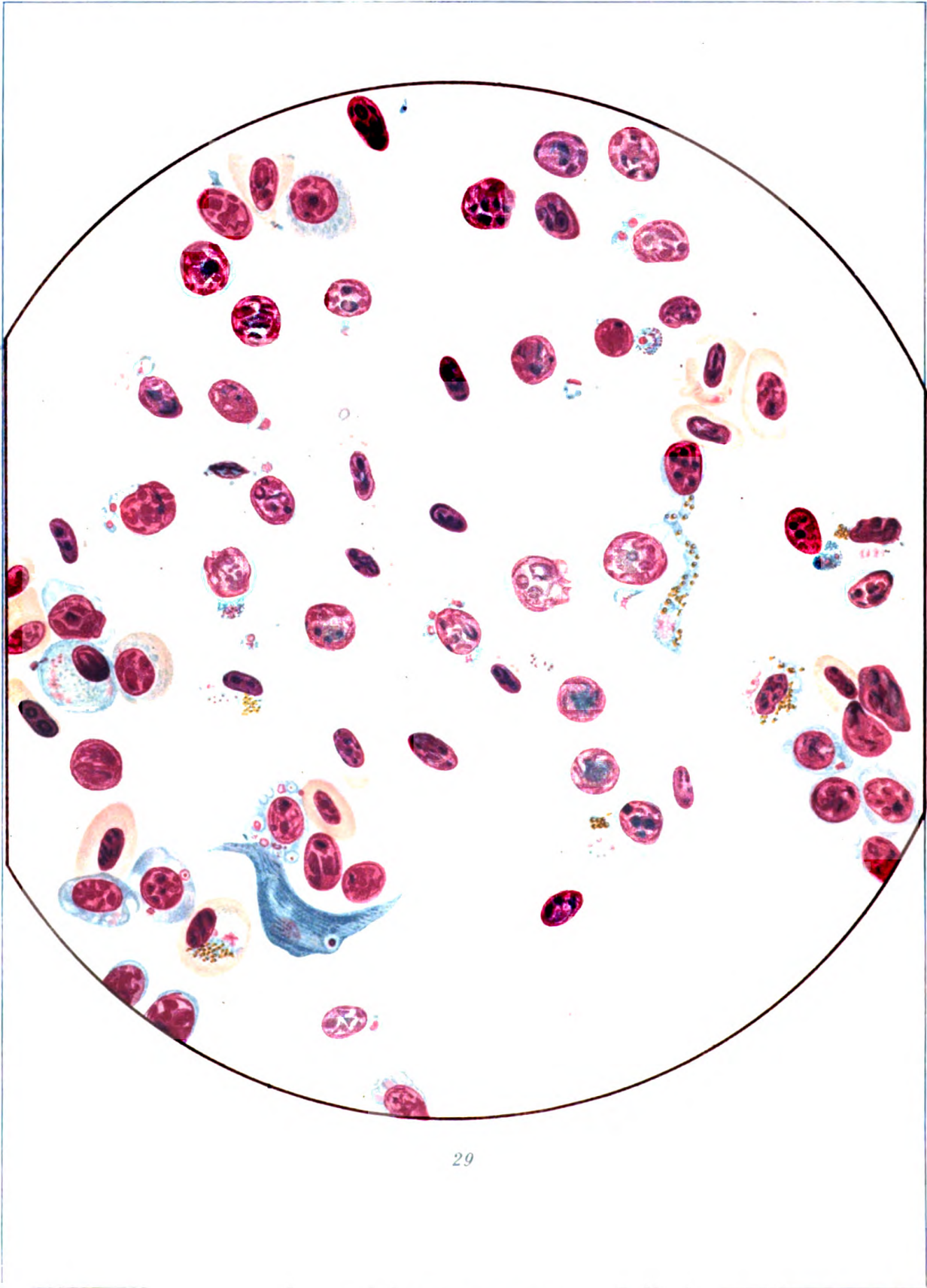
In den Gehirnkapillaren von am 11. und 14. Tage gestorbenen Kanarienvögeln, bei denen wir zum erstenmal die Uebertragung des *Haemoproteus Orizivorae* und des *Trypanosoma paddae* feststellen konnten, sind große offenbar zuerst an Endothelzellen gebunden gewesene Vermehrungsstudien mit zahllosen Kernen gesehen worden (Fig. 24, 25, 26), die die Kapillaren verstopften.

Es sind in Uebereinstimmung mit Aragão zwei Typen dieser schizogonischen Vermehrungsstadien beobachtet worden (Fig. 26 a u. b). Außerdem sind Vermehrungsstadien in den roten Blutkörperchen, die wahrscheinlich von einer Parthenogenese ausgehen, von uns gesehen worden (Fig. 14—23). Diese zweite Art von asexueller Vermehrung ist wohl von der erstgenannten, oben geschilderten Vermehrung streng zu unterscheiden. Die eine Art von Schizogonie bezieht sich auf Formen, die in den roten Blutzellen schmarotzen (natürliche In-

1) Siehe meine Arbeit über Chinineinwirkung auf verschiedene Protozoen. (Centralbl. f. Bakt. 1910.)

Digitized by Google





fektion), die andere spielt sich in endothelartigen Zellen ab; sie war an eine künstliche¹⁾ Infektion geknüpft und besaß Analogieen mit den Formen, die Aragão bei Infektion mit Ookinetenmaterial erhalten hatte.

Ihre eigentliche Bedeutung kann aber erst vollends aufgeklärt werden, bis man den Zwischenwirt dieses *Haemoproteus* und seinen ganzen Entwicklungsgang kennt.

Man kann bloß sagen, daß der *Haemoproteus Orizivorae*, zwei Vermehrungsphasen besitzt, eine, die sich in den endothelartigen Zellen der Organe (Lunge, Milz usw.) abspielt und die andere, die von einer Parthenogenese ausgeht und in den roten Blutzellen vorkommt. Der Kern der Parasiten wird im letzten Fall eigenartig aufgelockert (Fig. 15 und 16) und zerfällt schließlich in runde Schizontenkerne (Fig. 17 bis 22).

Wir haben auch bei Kanarienvögeln eine dreifache Infektion mit *Trypanosoma paddae*, *Haemoproteus Orizivorae* und *Proteosoma* erzielt. Es wurden Kanarienvogel mit latenter Infektion, die zur Zeit keinen *Proteosoma*-Parasiten im freien Blut besaßen, mit den beiden zuerst genannten Parasiten infiziert. In Tupfpräparaten aus dem Herzen eines solchen am 16. Tage nach der Infektion gestorbenen Vogels fand man alle drei Arten von Parasiten, wie aus Fig. 29 hervorgeht; als der Vogel zur Untersuchung gelangte, war der Kadaver bereits starr und in dem Herzblut fand man daher die Ookinetenstadien des *Haemoproteus Orizivorae*, eventuell auch vom *Proteosoma*, sowie die bekannten Retortenformen, die bereits Mc Callum beschrieben und Neumann genauer untersucht hatte (Fig. 27 und 28).

Tafelerklärung.

Tafel I.

- Fig. 1. *Tryp. Paddae*, Okular 4, homog. Immers. Zeichenapparat.
 Fig. 2. Dasselbe, Lungenausstrich.
 Fig. 3. Breite Formen.
 Fig. 4 u. 5. Weibliche Formen mit blassem aufgelockerten Kern. Fig. 4 am 9. Tage der Infektion im selben Ausstrich, Formen mit deutlicher undulierender Membran.
 Fig. 6. Dasselbe, Herzblutausstrich.
 Fig. 7—9. Teilungsstadien.
 Fig. 10. Nach dem Leben beobachtet.
 Fig. 11. *Tryp. Paddae*, Chininmethylenblau 1:500, nach 15 Minuten tot.
 Fig. 12. Dasselbe nach ca. 25 Minuten.
 Fig. 13. Bakterienähnlicher Organismus aus dem Lungenausstrich eines am 10. Tage der Infektion gestorbenen Reisvogels.
 Fig. 14—22. Stadien der Schizogonie im kreisenden Blut gefunden in demselben natürlich infizierten Reisvogel. Fig. 18 u. 19 ist der Kern des Erythrocyten beim Ausstreichen zerdrückt worden.
 Fig. 23—26. Schizogonie zweiter Art. Die Stadien entsprechen zum Teil den von Aragão bei Taubenhaemoproteus beobachteten Formen. Gehirnausstriche von mit *Haemoproteus* künstlich infizierten Kanarienvögeln.
 Fig. 27 u. 28. Zwei Ookineten aus dem Herzblut eines am 16. Tage gestorbenen Kanarienvogels, der erst längere Zeit nach dem Tode sezirt wurde.

Tafel II.

Fig. 29. Herzausstrich von einem mit *Tryp. Paddae*, *Haemoproteus* und *Proteosoma* infizierten Kanarienvogel; tot nach 16 Tagen. Okular 4, homog. Immersion. Das Präparat zeigte Phagozytose, freie Ookineten, junge *Proteosoma*, *Proteosomaschizogonie*, *Haemoproteus* und *Tryp. Paddae*.

1) Die scheinbar früher nicht gelungen ist.

Nachdruck verboten.

Weiteres über den Einfluss, welchen die Extrakte von Lymphgewebe auf die Evolution der experimentellen Tuberkulose ausüben¹⁾.

Weitere Untersuchungen über die Wirkung der Extrakte von normalen, skrofulösen und tuberkulösen Lymphdrüsen.

[Aus der Medizinischen Klinik der Universität Genua
(Vorsteher: Prof. E. Maragliano).]

Von Prof. Dr. Spiro Livierato.

Ich habe in einer anderen Arbeit²⁾, nachdem ich die Frage nach den Beziehungen zwischen der Skrofulose und der Tuberkulose auf Grund der zahlreichen Studien über diesen Gegenstand besprochen und hervorgehoben hatte, daß die Frage nach den Beziehungen, welche im allgemeinen die Skrofulose mit der Tuberkulose verbinden und die Frage, ob die Skrofulose, wie die Mehrzahl der Autoren annimmt, die Kranken empfänglicher für die Tuberkulose macht, oder — da sie als eine abgeschwächte Form von dieser betrachtet wird — die Kranken immunisieren und gegen eine tuberkulöse Infektion schützen kann, noch nicht bei weitem gelöst sind, über die experimentellen Untersuchungen berichtet, welche ich als persönlichen Beitrag zu der so bestrittenen Frage ausgeführt habe.

Bei diesen Untersuchungen habe ich meine Aufmerksamkeit auf das lymphatische System gewendet, und mich bemüht, bei einer Reihe von Tieren durch eine geeignete Behandlung eine langsam verlaufende, abgeschwächte Tuberkulose, besonders der Drüsen, herbeizuführen und somit einen Zustand der Drüsen hervorzurufen, welcher sich möglichst demjenigen der skrofulösen Drüsen beim Menschen näherte, und habe dann beobachtet, welchen Einfluß auf die Evolution der Tuberkulose anderer ebenfalls injizierter Tiere derselben Art das Lymphsystem der Tiere ausüben konnte, bei welchen durch eine geeignete Behandlung eine abgeschwächte torpide Tuberkulose herbeigeführt worden war.

Ich habe damals die Herstellung des Materials und die bei meinen Versuchen angewandte Technik ausführlich beschrieben. Hier will ich nur die Resultate meiner damaligen Untersuchungen kurz erwähnen.

Aus denselben gingen im wesentlichen drei Tatsachen hervor:

1) Daß die mit Extrakten von tuberkulösen Lymphdrüsen behandelten Tiere viel länger am Leben blieben, als die Kontrolltiere.

Während in der Tat alle Kontrolltiere vor Ablauf eines Monats nach der Infektion mit Tuberkulose starben, gingen die mit Extrakt behandelten erst 2¹/₂ und einige sogar 3 Monate nach der Infektion zugrunde.

2) Daß die behandelten Tiere und besonders diejenigen, welche am längsten behandelt worden waren, nur einzelne seltene tuberkulöse Läsionen, und einige sogar keine

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl, Turin.

2) Livierato, Sp., Dell'azione che gli estratti di tessuto linfatico tubercolare esercitano sulla evoluzione della tubercolosi sperimentale. (Riforma medica. 1909. No. 11.)

makroskopisch nachweisbare Veränderungen aufwiesen, im Gegensatz zu den Kontrolltieren, welche alle das typische anatomisch-pathologische Bild der Tuberkuloseleichen aufwiesen.

3) Daß die Tiere, welche mit dem Extrakt von tuberkulösen Lymphdrüsen vor der Einimpfung von Tuberkelbacillenkulturen behandelt worden waren, eine größere Widerstandsfähigkeit aufwiesen und im Durchschnitt 15 Tage länger am Leben blieben, als diejenigen, bei welchen dieselbe Behandlung nach der Infektion vorgenommen wurde.

* * *

In gegenwärtiger Arbeit werde ich über die Resultate weiterer Versuche berichten, welche ich angestellt habe, um zu untersuchen, wie sich das Lymphsystem bei der experimentellen Tuberkulose verhält und welchen Einfluß es auf die Evolution der Tuberkulose selbst ausüben kann.

Bevor ich zur Beschreibung der Technik meiner Versuche und der Resultate, zu welchen ich gekommen bin, schreite, will ich die Ergebnisse der kürzlich von Fontes¹⁾ ausgeführten Untersuchungen erwähnen, welche bezweckten, festzustellen, ob tuberkulöse Drüsen Stoffe enthalten, die imstande sind, den Tuberkelbacillus morphologisch zu verändern und zu zerstören.

Fontes hat seine Untersuchungen in vitro ausgeführt, und bei denselben Emulsionen von normalen (Kontrolltiere) Meerschweinchenlymphdrüsen benutzt. Diese wurden zerschnitten, gewaschen, und 48—72 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung mit Zusatz von 10 Proz. Glycerin und 0,5 Proz. Karbolsäure mazeriert. Jede Emulsion wurde 24 Stunden in Berührung mit Tuberkelbacillen bei 37° C gehalten und nach 48—72—120 Stunden untersucht.

Die Ergebnisse dieser Versuche waren folgende:

Daß die tuberkulösen Lymphdrüsen der Meerschweinchen eine Substanz enthalten, welche „imstande ist, die Zahl der Tuberkelbacillen zu vermindern;

daß diese Substanz in den Lymphdrüsen normaler Meerschweinchen nicht nachweisbar ist;

daß sie den Höhepunkt ihrer Aktivität nach 24 Stunden Kontakt erreicht und danach bis zur 120. Stunde abnimmt;

daß diese Eigenschaft durch Zusatz von Extrakt von tuberkulösen Drüsen nicht reaktiviert wird;

daß dies aber durch Zusatz von Serum normaler Meerschweinchen eintritt.

* * *

Ich habe den Einfluß untersucht, welchen auf die Evolution der experimentellen Tuberkulose drei verschiedene Lymphgewebs-**extrakte** ausüben:

- a) ein Extrakt aus tuberkulösem Lymphgewebe (Meerschweinchen);
- b) ein Extrakt aus skrofulösem Lymphgewebe (Mensch);
- c) ein Extrakt (Kontrollextrakt) aus normalem Lymphgewebe (Kalb).

1) Fontes, A., Ueber eine in den tuberkulösen Lymphdrüsen vorhandene, Tuberkelbacillen tötende Substanz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. H. 1.)

I. Herstellung der verschiedenen Extrakte.

Das Extrakt aus tuberkulösem Lymphgewebe wurde in folgender Weise hergestellt:

5 Meerschweinchen wurden mit Tuberkulose infiziert, und zwar durch subkutane Einspritzung von je $\frac{1}{2}$ ccm einer Tuberkelbacillenemulsion, d. h. einer Aufschwemmung von einer Platinöse von einer üppigen Kartoffelkultur alter Tuberkulose in 10 ccm Bouillon. Nach 6 Tagen wurde dieselbe Dosis auf intraperitonealem Wege eingepflegt. Jedes Tier wurde auf abwechselnd hypodermatischem und intraperitonealem Wege, im ganzen 5mal inokuliert. Die letzte eingepflegte Dosis betrug 1 ccm der Tuberkelbacillenkulturemulsion.

Die Tiere zeigten eine zunehmende Abmagerung und eine entsprechende Gewichtsabnahme; die Leisten- und Achseldrüsen sind deutlich fühlbar und stark infiltriert. Während der Behandlung starben drei der Tiere, und bei der Autopsie fand man die typischen Zeichen der allgemeinen Tuberkuloseinfektion.

Ungefähr 2 Monate nach Beginn der Behandlung wurden alle die Tiere getötet und unter Beobachtung aller Maßregeln der Asepsis die verschiedenen infiltrierten Lymphdrüsen herausgeschnitten, von den daran hängenden andersartigen Gewebsteilen befreit und in einem Mörser zusammen mit sterilen Glasscherben sorgfältig zerstoßen. Nachdem die Drüsen zu einem Brei verarbeitet worden waren, wurde diesem sterile physiologische Kochsalzlösung zugesetzt und das Ganze auf verschiedene Reagenzgläser verteilt. Diese ließ man 48 Stunden im Eisschrank stehen, wonach der Inhalt zuerst durch ein Metalldrahtnetz und der klare Teil noch durch steriles Filtrierpapier filtriert wurde.

Es wurde somit ein Extrakt von tuberkulösen Lymphdrüsen hergestellt, welches eine ziemlich klare, dünne, gelbliche, vollständig sterile Flüssigkeit darstellte, die, auf verschiedene Glasröhren verteilt, mit Zusatz von Chloroform im Eisschrank aufbewahrt wurde.

Das Extrakt skrofulösen Lymphgewebes wurde mit Lymphdrüsen hergestellt, welche Prof. D. Maragliano von dem Halse eines skrofulösen Kindes operativ entfernt und mir freundlich zur Verfügung gestellt hatte. Es waren große, typische, speckartige Drüsen, welche keinen Verkäsungsherd aufwiesen. Das Extrakt wurde in derselben Weise bereitet, wie das vorige.

Zur Herstellung des Extraktes normalen Lymphgewebes wurden Lymphdrüsen junger, gesunder Kälber benutzt. Technik wie bei den beiden anderen Extrakten.

II. Infektion der Tiere mit Tuberkulose und Behandlung mit den verschiedenen Extrakten.

Bei der Untersuchung der Wirkung, welche die drei Extrakte auf den Verlauf der experimentellen Tiertuberkulose ausüben, wurde folgendermaßen vorgegangen:

Es wurden 4 Gruppen von Meerschweinchen genommen, eine für jedes Extrakt und die vierte als Kontrolle. Jede Gruppe bestand aus 9 Tieren und wurde — mit Ausnahme der Kontrollgruppe — in 3 Untergruppen geteilt.

Technik der Infektion.

Alle die verschiedenen Tiere wurden bezüglich der Auswahl der Kultur und der eingepflegten Menge derselben in gleicher Weise in-

fiziert. Es wurde nämlich jedem Tier ein einziges Mal 1 ccm von einer Aufschwemmung von einer Oese einer jungen (20—22 Tage alten) Kartoffelkultur lebender und virulenter Tuberkelbacillen in 5 ccm steriler Bouillon subkutan eingespritzt.

Bezüglich der Zeit, zu welcher die Infektion geschah, wurden die Tiere folgendermaßen eingeteilt:

Die 1. Untergruppe von jeder Gruppe von Meerschweinchen wurde zu gleicher Zeit infiziert und mit dem Extrakt behandelt.

Bei der 2. Untergruppe von jeder Gruppe geschah erst die Behandlung mit Extrakt und 15 Tage nach Beginn derselben wurden die Tiere infiziert.

Bei der 3. Untergruppe von jeder Gruppe wurde zuerst das Tier infiziert und 24 Stunden später die Behandlung eingeleitet.

Technik der Behandlung.

Den verschiedenen Tieren wurde dieselbe Menge Extrakt eingespritzt, und der Zwischenraum von einer Einspritzung zur anderen war für alle Tiere derselbe. Es wurde nämlich jedem Tier jeden 4. Tag 1 ccm des Extraktes eingespritzt.

Die Tiere waren, wie wir gesehen haben, in 3 Gruppen von je 9 Tieren eingeteilt. Die 1. Gruppe wurde mit Extrakt tuberkulösen Lymphgewebes, die 2. mit solchem skrofulösen Lymphgewebes und die 3. mit solchem gesunden resp. normalen Lymphgewebes behandelt.

Jedes Tier bekam 15 Einspritzungen im ganzen.

* * *

Bei den gegenwärtigen, ebenso wie bei früheren Untersuchungen wurden folgende Momente besonders ins Auge gefaßt:

- 1) Das Ueberleben der Tiere, als Index der Schutzkraft der einzelnen Sera;
- 2) die Evolutionsart der experimentellen tuberkulösen Infektion;
- 3) die Entität der pathologisch-anatomischen Läsionen der verschiedenen Tiergruppen.

Die Resultate dieser Untersuchungen können folgendermaßen kurz zusammengefaßt werden:

Von den 36 angewendeten Tieren starben 21 und überlebten 15. Dieselben waren folgendermaßen verteilt:

A.	}	1. Behandlung mit tuberkulösem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 1 Tier überlebt 2 Tiere
Infektion mit Tuberkulose und Beginn der Extraktbehandlung zu gleicher Zeit		2. Behandlung mit skrofulösem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 2 „ überlebt 1 Tier
		3. Behandlung mit normalem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 3 Tiere überlebt 0 Tier

Die am Leben gebliebenen Tiere wurden 4 Monate nach der Tuberkuloseimpfung getötet. Bei der Autopsie fand man bei den Tieren der 1. Gruppe: Leistendrüsen infiltriert; Milz leicht geschwollen, mit einigen seltenen Tuberkeln. Bei einem Tier einzelne Tuberkel in der Leber.

Bei den Tieren der 2. Gruppe: Leistendrüsen infiltriert. Mäßiges Exsudat in der Peritonealhöhle; einzelne Tuberkel in der Leber; Milz vergrößert, mit einigen Tuberkeln.

B. Infektion mit Tuberkulose 15 Tage nach dem Beginn der Extraktbehandlung	1. Behandlung mit tuberkulösem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 0 Tier überlebt 3 Tiere
	2. Behandlung mit skrofulösem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 0 Tier überlebt 3 Tiere
	3. Behandlung mit normalem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 2 „ überlebt 1 Tier

Die am Leben gebliebenen Tiere wurden 4 Monate nach der Tuberkuloseinfektion getötet. Nekroskopischer Befund:

1. Gruppe: Leistendrüsen geschwollen; keine makroskopisch nachweisbare tuberkulöse Läsion.

2. Gruppe: Exsudat in der Peritonealhöhle; Leisten- und Mesenterialdrüsen infiltriert; einzelne kleine Tuberkel im Mesenterium, in der Leber und in der Milz.

3. Gruppe: Tuberkulose der Mesenterialdrüsen; einige Lymphknoten geschwollen, mit verkästen Massen; zahlreiche Tuberkel in Leber, Nieren und Milz; Milz geschwollen, ziegelstein-dunkelrot.

C. Beginn der Extraktbehandlung 24 Std. nach der Infektion mit Tuberkulose	1. Behandlung mit tuberkulösem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 0 Tier überlebt 3 Tiere
	2. Behandlung mit skrofulösem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 1 Tier überlebt 2 Tiere
	3. Behandlung mit normalem Lymphgewebsextrakt	{ gestorben 3 „ überlebt 0 Tier

Auch die am Leben gebliebenen Tiere dieser Gruppe wurden 4 Monate nach der Tuberkuloseinfektion getötet. Nekroskopischer Befund ähnlich wie bei A.

D. Mit Tuberkulose infizierte Kontrolltiere starben alle innerhalb 40 Tagen. Bei der Autopsie fand man die Zeichen von einer allgemeinen Tuberkulose, begleitet von einer solchen der Mesenterialdrüsen; geschwollene Lymphknoten mit verkästen Massen; Tuberkel in der Leber, den Nieren und der Milz, welche letztere stark geschwollen und kongestioniert ist.

* * *

Aus den Ergebnissen meiner Untersuchung kann man folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) daß sowohl die mit tuberkulösem, wie die mit skrofulösem Lymphdrüsenextrakt behandelten Tiere bis zu 4 Monaten nach der Infektion mit Tuberkulose am Leben blieben, während die Kontrolltiere alle innerhalb 40 Tagen starben;

2) daß die mit normalem Lymphdrüsenextrakt behandelten Tiere alle — mit Ausnahme von einem — innerhalb 60 Tagen starben, also nur 20 Tage mehr, als die Kontrolltiere am Leben blieben;

3) daß zwischen den mit tuberkulösem Lymphdrüsenextrakt und den mit skrofulösem behandelten Tieren ein Unterschied hinsichtlich des Ueberlebens besteht, und zwar zugunsten der ersteren;

4) daß der Präventivbehandlung sowohl mit tuberkulösem wie mit skrofulösem Extrakt eine größere Zahl von Ueberlebungsfällen entsprach, als der Behandlung zu gleicher Zeit oder nach der Infizierung;

5) daß bei den mit normalem Lymphdrüsenextrakt behandelten und am Leben gebliebenen Tieren die bei der Autopsie nachgewiesenen

tuberkulösen Läsionen sehr ausgesprochen und mit denjenigen vergleichbar waren, welche die Kontrolltiere aufwiesen, während bei den mit tuberkulösem resp. skrofulösem Drüsenextrakt behandelten die tuberkulösen Läsionen spärlich und wenig entwickelt waren;

6) daß im allgemeinen die tuberkulösen Läsionen bei den mit tuberkulösem Extrakt behandelten Tieren unbedeutender war, als bei den mit skrofulösem behandelten;

7) daß besonders bei den präventiv mit tuberkulösem Lymphdrüsenextrakt behandelten Tieren keine tuberkulöse Läsion makroskopisch nachweisbar war.

* * *

Während nun diese neuen Resultate diejenigen vollständig bestätigen, welche bei den vorigen Versuchen erzielt wurden, weisen sie einerseits auf die Schutzwirkung deutlich hin, welche bei den experimentell mit Tuberkulose infizierten Tieren die tuberkulösen und skrofulösen Lymphgewebsextrakte gegen die Schwere der Injektion ausüben und zeigen andererseits, daß die Evolution dieser letzteren durch das Extrakt normaler Lymphdrüsen ganz oder fast ganz unbeeinflusst bleibt. Sie bekräftigen somit die Annahme hinsichtlich der Beziehungen zwischen der Tuberkulose und Skrofulose des Menschen, daß die Skrofulose bis zu einem gewissen Grade das Auftreten und die Evolution des Krankheitsbildes der Tuberkulose ungünstig beeinflussen kann.

Nachdruck verboten.

Ueber die Empfänglichkeit des Kaninchens gegenüber syphilitischen Reinfektionen.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Pavia (Prof. M. A scoli).]

Von Dozenten Dr. **Mario Truffi**.

Entgegen den anfänglichen Erfahrungen [O s s o l a ¹⁾, Truffi ²⁾], nach welchen mit Syphilis infizierte Kaninchen Reinfektionen gegenüber sich immun erweisen, hob ich in einem in der Mailänder medizinisch-biologischen Gesellschaft gehaltenen Vortrage hervor, daß das Gedeihen neuer spezifischer Keime auf der Haut des Kaninchens mitunter, selbst nachdem das primäre Syphilom bereits aufgetreten, möglich ist. Allein von dieser Möglichkeit abgesehen, die mir als eine auf eine nur kurze Zeitperiode nach dem Auftreten des initialen Syphiloms beschränkte erschien, glaubte ich mich auf Grund meiner Untersuchungen ⁴⁾ zur Annahme berechtigt, daß beim Kaninchen die subkutane syphilitische Infektion eine absolute Immunität gegen Impfungen erzeugt; diese Immunität besteht sowohl dem Kaninchen-

1) Versammlung 1908. Ber. in der Ital. Zeitschr. f. vener. u. Hautkrankh. 1909. H. I.

2) Sitzungsber. der ital. Gesellsch. f. Dermatologie und Syphilogr. 1908.

3) Sitzung v. 1. März 1909.

4) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. p. 555.

passagevirus als auch dem menschlichen Virus gegenüber, und ist nicht lediglich auf die Haut beschränkt, sondern sie scheint sich auch auf die Hornhaut zu erstrecken.

Uebrigens werden diese Anschauungen fast gleichzeitig von Ossola wieder betont¹⁾.

Auf Grund weiterer Untersuchungen habe ich jedoch meine Ansichten über die vom Kaninchen durch vorhergehende Inokulationen erworbene Immunität etwas modifizieren müssen. Auf dem Kongreß der italienischen pathologischen Gesellschaft (Modena, September 1909) habe ich dargetan, daß eine Einimpfung von syphilitischen Affekten wenigstens noch 16 Tage nach der ersten Inokulation positiv ausfallen kann.

Nachträglich angestellte Untersuchungen veranlassen mich nun zur Annahme, daß wenn auch das Vorhandensein einer Immunität des syphilitischen Kaninchens gegen Reinfektionen außer Zweifel steht, dieselbe doch keine so absolute ist, wie die ersten diesbezüglichen Untersuchungen mich glauben gemacht haben.

Unter den Protokollen meiner Untersuchungen greife ich einige heraus, die das soeben Gesagte begründen dürften.

I. Männliches Kaninchen, ungefähr 1400 g schwer. Inokuliert am 28. Aug. mit Fragmenten eines frisch exzidierten menschlichen Syphiloms in subkutane Scrotaltaschen.

9. Sept. Kleine infiltrierte, mit Kruste bedeckte Knoten an der linken Seite des Scrotum. Im Ausschabdetritus einzelne charakteristische blasse Spirochäten.

20. Sept. Deutliche Sklerose rechts mit zahlreichen Spirochäten.

12. Nov. Das Syphilom ist seit 15. Okt. geheilt, fast ohne irgendwelche Spur zu hinterlassen. Abermalige Inokulation am unteren Pol des rechten Scrotums mit Kaninchenpassagevirus (dickes Syphilom des Scrotums).

27. Nov. Kleiner Knoten an der inokulierten Stelle, in der Mitte mit zarten Krusten überzogen und von einem Reaktionshof umgeben. Spirochätenbefund positiv. Nichts an der Cornea.

3. Dez. Die Sklerose ist linsengroß und hat ein charakteristisches Aussehen.

II. Männliches Kaninchen, ca. 2^{1/2} kg schwer. Es ist dies das erste von mir am 16. Juni 1908 mit syphilitischem Menschenvirus inokulierte Kaninchen. Nachträglich wurden noch fünf Inokulationen — subkutan bzw. corneal — mit menschlichem und Passagevirus ausgeführt. Erfolg stets negativ.

Am 12. Nov. 1909 wird eine abermalige Inokulation am Scrotum (Einführung in Hauttaschen) mit demselben Material versucht, das schon beim vorhergehenden Kaninchen verwendet worden.

Am 23. Nov. erscheint an der inokulierten Stelle ein hart sich anführender, an der Peripherie schwach geröteter Knoten. Spirochätenbefund positiv.

29. Nov. Der kleine Knoten zeigt schon die Neigung zurückzugehen. Es werden noch Spirochäten angetroffen.

III. Männliches Kaninchen, ca. 1500 g schwer. 10. Juli. Inokulation am oberen Pol des linken Scrotum und in der rechten Supraciliargegend mit syphilitischem Virus (6. Passage).

20. Juli. Zweite Inokulation mit demselben Virus am oberen Pol des rechten Scrotum und in der linken Supraciliargegend.

24. Juli. An der ersten inokulierten Stelle des Scrotum hat sich ein kleiner spezifischer Knoten gebildet.

5. Aug. Deutliches Syphilom in der rechten Supraciliargegend. Am rechten Scrotum (zweite Inokulation) positiver Erfolg. Spirochätenbefund in beiden Syphilomen +. Inguinaladenitis beiderseits. — Dritte Inokulation am unteren Pol des linken Scrotum.

19. Aug. Das Syphilom in der Supraorbitalgegend ist im Rückgang begriffen. Die zwei Knötchen am Scrotum bestehen noch immer fort; zu demselben hat sich nun an der Stelle der letzten Inokulation ein drittes hinzugesellt.

3. Sept. Die infolge der zweiten und dritten Inokulation entstandenen Läsionen sind geheilt. Fortbestand des an Volumen zugenommenen primären Syphiloms; dasselbe wird exzidiert.

1) Biochimica e Terapia sperimentale. 1909. Fasc. 6.

14. Sept. Vierte Inokulation mit Material der 8. Passage am unteren Pol des rechten Scrotums und an der Hornhaut. — Einführung von Syphilomfragmenten in eine Cornealtasche.

7. Okt. An der Stelle der vierten Inokulation ist ein kleiner Knoten entstanden, der seit einigen Tagen stationär bleibt. Im Ausschabdetritus finden sich blasse Spirochäten.

20. Okt. Obiges Knötchen ist größer geworden und hat in deutlicher Weise die Merkmale einer spezifischen Sklerose angenommen. Gleichzeitig ist die Narbe des exzidierten Syphiloms hart und dick geworden.

1. Nov. Kaum merkliche Spuren des durch die vierte Inokulation bedingten Syphiloms. Dickes Syphilom auf der Narbe des durch die erste Inokulation veranlaßten.

6. Nov. Die corneale Inokulation vom 14. Sept. hatte eine kleine weißliche, in der Dicke des Gewebes sitzende Trübung hinterlassen. Um dieselbe herum machen sich heute corneale Reaktionserscheinungen bemerkbar (Trübung, Vaskularisation des Limbus).

11. Nov. Deutlich ausgesprochene zwei Drittel der oberen Hälfte der rechten Hornhaut einnehmende Keratitis. Charakteristische Läsionen infolgeluetischer Keratitis sind auch am linken Auge wahrnehmbar. — Befund von blassen Spirochäten positiv für beide Hornhäute.

Bei den in Rede stehenden sowie bei anderen später inokulierten Kaninchen, habe ich fast immer dafür Sorge getragen, gleichzeitig mit der Einführung von virulentem Material auch einfache Kontrollskarifikationen vorzunehmen. In keinem Falle habe ich an den nur einfach skarifizierten Stellen spezifische Manifestationen zu Gesicht bekommen.

Meine Erfahrungen liefern also den Beweis, daß ein Gedeihen neuer Keime auf der Hautoberfläche des Kaninchens nicht nur in den auf die primäre Inokulation folgenden Tagen, sondern auch bedeutend später nicht selten möglich ist.

Die durch Wiederinfizierung bedingten Läsionen zeigen minder schwere Symptome, als die des primären Syphiloms und zugleich die Neigung zu spontaner, rascher Heilung. Zuweilen ließe sich, wenn man nur ihre makroskopischen Merkmale in Betracht ziehen wollte, an ihrer wahren Natur auch zweifeln, allein dafür spricht die mikroskopische Untersuchung, insbesondere aber jene im frischen Zustande mit der Dunkelfeldbeleuchtung, mit deren Hilfe es mir gelungen ist, in den durch die neue Impfung herangerufenen Knötchen die blassen Spirochäten zur Anschauung zu bringen. Dieser Befund dürfte wohl geeignet sein, jeden Zweifel über die Natur der herbeigeführten Läsionen zu benehmen.

Die Leichtigkeit der durch spätere Einigungen hervorgerufenen Manifestationen im Verein mit der von mir befolgten abweichenden Technik (Skarifikationen anstatt Einführung von Fragmenten in Hauttaschen) mögen vielleicht die Ursache sein, welche die Empfänglichkeit des Kaninchens für neue Einimpfungen bisher der Beobachtung entzogen haben.

Der Einwand aber, daß die bei der mikroskopischen Untersuchung in den infolge Reinokulation entstandenen Knoten vorgefundenen Spirochäten nicht ein Erzeugnis der in loco inokulierten darstellen, sondern von dem auf dem lymphatischen oder zirkulatorischen Wege bereits infizierten Stellen herkommen, ist kein stichhaltiger. Derselbe verliert an Berechtigung durch die von mir in der Form von einfachen Skarifikationen angestellten Untersuchungen, die stets ein negatives Resultat geliefert haben.

Uebrigens stimmen die von mir bezüglich der Syphilis beim Kaninchen gemachten Erfahrungen mit dem bereits von anderen Forschern für die Syphilis des Menschen und anderer Tiere festgestellten genau überein. So haben in bezug auf menschliche Syphilis Puche, Scheinpf, Wallace, Diday, Bumm, Neumann u. a. schon seit langem

die Möglichkeit einer Wiederinfizierung während der auf die erste Inokulation des syphilitischen Virus folgenden Zeitperiode dargetan.

In neuerer Zeit hat dann Queyrat¹⁾ eine Anzahl Untersuchungen älteren Datums von Pontoppidan wieder aufgenommen und hierbei die bis zum 11. Tage nach dem Auftreten des primären Syphiloms bestehende Möglichkeit einer Autoinokulation des syphilitischen Virus gezeigt. Der Erfolg der Wiedereinimpfung äußert sich in der Form einer nach 12—13-tägiger Inkubation auftretenden und nach ebensoviel Zeit in die resolute Phase eintretenden Papula. Einfache Kontrollskarifikationen ohne Einimpfung haben keinerlei Manifestationen zur Folge.

Die klassischen Untersuchungen Fingers und Landsteiners²⁾ sind doch zu allgemein bekannt, um einer näheren Anführung zu bedürfen. Ich will nur daran erinnern, daß — im Gegensatz zu der damals herrschenden Anschauung — durch dieselben ins Licht gestellt wurde, daß die Syphilitiker in allen Stadien der Krankheit mit lokalen, ausgesprochen spezifischen Erscheinungen dem Virus gegenüber reagieren. Eine solche Reaktion ist in der primären Periode eine lebhaftere, wird aber, namentlich bei Vorhandensein allgemeiner Manifestationen, schwächer und steigert sich schließlich in der Tertiärperiode, wo die Wiedereinimpfung in der Regel eine tiefe lokale Läsion veranlaßt, die den Typus der für gewöhnlich in dieser Periode zutage tretenden Hautsymptome an sich trägt. Die Einführung von abgetötetem Virus hat kein Auftreten von solchen Läsionen zur Folge, wie die bereits erwähnten.

Was die experimentelle Syphilis bei Affen anbetrifft, so haben Metschnikoff und Roux durch ihre Untersuchungen den Beweis erbracht, daß die Nichtempfänglichkeit für neue Infizierungen erst einige Zeit nach dem Auftreten des Primärsyphiloms beginnt. Ferner haben Finger und Landsteiner beim *Macacus rhesus* selbst 5 Tage nach dem Zustandekommen durch die erste Inokulation herbeigeführten Läsion das Gedeihen des neuen Virus erzielen können.

Kraus und Volk³⁾ ist es gelungen, sogar 21 Tage nach der ersten Inokulation positive Resultate zu bekommen. Allein die noch zahlreicheren Untersuchungen Neissers⁴⁾ haben bezüglich der syphilitischen Wiederinfizierung von Affen neue Momente ins Licht gestellt.

Bei Wiedereinimpfung von 45 Tieren (Orang-Utan, Gibbon, speziell *Macacus cynomolgus*) hat Neisser 28mal einen negativen Erfolg gehabt, die betreffenden Inokulationen wurden teils in der ersten, teils in der zweiten Inkubationsperiode nach Auftreten des Syphiloms (bis zu 426—428 Tagen) ausgeführt. 17mal hingegen hat er positive Resultate erzielt, und zwar 8mal nach Inokulationen während der Inkubationsperiode, 9mal nach solchen, die in späteren Stadien (44—65—70—75, ja 301 Tage nach der ersten) vorgenommen wurden.

Was die Inkubationsperiode der Wiedereinimpfungen anlangt, so trat Neisser, im Gegensatz zu Finger und Landsteiner, die eine bedeutende Verkürzung derselben im Vergleich zu jener der ersten Inokulation wahrgenommen haben, angeblich keine bemerkenswerten Veränderungen in dieser Beziehung festgestellt. In dieser Hinsicht würden die

1) Société franç. de dermatol. et syphilogr. 1906. 1. Mars.

2) Sitzungsber. der k. Akademie der Wissenschaften Wien. 1906.

3) Verhandl. d. deutsch. dermatol. Gesellsch. Bern 1906.

4) Die experimentelle Syphilisforschung. Berlin 1906.

Ergebnisse meiner Untersuchungen am Kaninchen mit jenen des Breslauer Syphilographen übereinstimmen.

Es ist also bezüglich der Syphilis bei Menschen und Affen im ganzen erwiesen, daß die durch eine syphilitische Infektion erlangte Immunität noch weit davon entfernt ist, eine absolute zu sein.

Diese Resultate stimmen mit dem überein, was ich bezüglich der Syphilis beim Kaninchen nachgewiesen habe.

Bei diesem Tiere ist das Gedeihen einer neuen Infektion in der Periode der ersten Inkubation sowie in den ersten Tagen nach Auftreten des Primärsyphiloms — ungefähr 16 nach der ersten Inokulation — ein sehr häufiges Vorkommnis; möglich ist dasselbe aber noch, wenn auch in selteneren Fällen, wenn die Reinfektion bedeutend später als die erste Manifestation stattgefunden; mitunter sind selbst weitere Wiedereinimpfungen möglich, wie eben in Beobachtung III. Bei derselben ist eine besonders erwähnenswerte Erscheinung zur Wahrnehmung gelangt: Das Auftreten einer Keratitis (IV), die von der Stelle ausgegangen war, wo 53 Tage vorher eine Inokulation (IV) stattgefunden hatte. Was für ein Zusammenhang zwischen der Keratitis und der vorhergegangenen Inokulation bestehen mag, ist schwer zu sagen, um so mehr als ganz gleichzeitig oder nahezu analoge Veränderungen in der anderseitigen Hornhaut — die doch in keiner Weise inokuliert worden — aufgetreten sind. Wenn wir nun diese beiden Erscheinungen mit dem von mir an anderer Stelle¹⁾ erbrachten Nachweis der erworbenen Immunität der Cornea und der — von Mezinescu bestätigten — Möglichkeit eines spontanen Auftretens der Keratitis bei subkutan syphilitisierten Kaninchen zusammenstellen, so erhält man eine Anzahl Momente, welche der Annahme eines unmittelbaren kausalen Zusammenhanges zwischen der fast zwei Monate vorher erfolgten Inokulation und dem Auftreten der Manifestation an der Cornea widerspricht, es sei denn, daß man daran denkt, es habe die Inokulation lediglich als Gelegenheitsursache in derselben Weise gewirkt, wie es was immer für eine traumatische Ursache hätte tun können. Allein beim gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse der Pathologie der Syphilis des Kaninchens kann man sich vorläufig nur Vermutungen hingeben; ich will keine solche jetzt aussprechen, um so mehr, als ich binnen kurzem Gelegenheit haben werde, auf das Thema wieder zurückzukommen.

1) Società med. di Pavia. Sitzung vom 7. Mai 1909.

Nachdruck verboten.

Entgegnung auf Löwensteins Kritik unserer Arbeit über die Bakteriolyse von Tuberkelbacillen.

Von **G. Deycke** und **H. Much**.

Im September 1909 veröffentlichten wir in der Münch. med. Wochenschrift. No. 39 Versuche über Auflösung von Tuberkelbacillen mit Cholin und Neurin. Neuerdings konnten wir dann in einer anderen Arbeit (Beiträge zur Klinik der Tuberkulose. Bd. 15. Heft 2) darauf hinweisen, daß wir die Bakteriolyse beschleunigen und steigern könnten durch Anwendung einer Temperatur von 50—56°. Wir schrieben dort: „Wir haben z. B. erreicht, daß ein Teil Tuberkelbacillen durch zwei Teile 25-proz. Neurins in 24 Stunden bei 52° glatt und vollständig gelöst wird. Bei dieser Art der Auflösung tritt allmählich eine völlige Klärung der sirupösen Masse ein, die sich beim Stehen in der Kälte wieder trübt. Wir beziehen dies Phänomen auf die Anwesenheit und das Verhalten von Fettkörpern mit höherem Schmelzpunkt.“

In einem merkwürdigen Gegensatze zu diesen und ähnlichen in- zwischen von anderer Seite erhobenen, aber noch nicht veröffentlichten Erfahrungen, stehen die Mitteilungen von Löwenstein, die dieser an dem Hefterschen und Friedbergerschen Institute in Berlin erhoben und in dieser Zeitschrift veröffentlicht hat.

Löwenstein konnte nicht zu den von uns und anderen erhobenen Resultaten kommen, und zweifelt deshalb auch die von uns erhaltenen Ergebnisse an. Dabei versucht er, seine Mißerfolge und unsere Erfolge dadurch zu erklären, daß er bei uns grobe Fehler in der Beobachtung des Phänomens und in der Färbetechnik annimmt. Diese Zurechtweisung quittieren wir dankend, möchten indessen darauf hinweisen, daß wir, die wir uns schon seit Jahren um die Erkenntnis der Morphologie und Biologie des Tuberkulosevirus, wie es scheint, nicht ohne einen gewissen Erfolg bemühen, nicht so auf den Kopf gefallen zu sein glauben, als daß wir nicht wüßten, daß die Haftbarkeit der Tuberkelbacillen durch Behandeln mit Alkalien beeinträchtigt wird.

Wir halten es deshalb für müßig, auf diesen Punkt weiter einzugehen. Wie ließe sich aber dann der Unterschied unserer und der Löwensteinschen Versuche erklären? Für die Versuche mit Cholin ließe sich vielleicht eine Erklärung finden; für die mit Neurin indessen nicht. Wir wollen kurz darauf eingehen.

Das Cholin wird bekanntlich nicht synthetisch rein dargestellt. Es kommen deshalb auch verschiedene Präparate, je nach dem Ausgangsmateriale, das zur Herstellung des Cholins verwandt wurde, in den Handel. Und nun ließe es sich ja denken, daß ein Präparat wirksamer als das andere ist. Ganz unwirksam, wie Löwenstein dies angibt, sind sie aber nie.

In unserer ersten Veröffentlichung haben wir selbst angegeben, daß quantitativ die Auflösung mit Cholin längst nicht so gut ist wie die mit Neurin. Das heißt also: Neurin vermag noch eine Dosis von Tuberkelbacillen aufzulösen, wo durch Cholin nur eine teilweise Auflösung verursacht wird. Wenn man sich nun des Zentrifugierverfahrens zur

Untersuchung der Auflösung bedient, so kann man dabei, selbst wenn eine sehr starke, aber nicht vollkommene Bakteriolyse eingetreten ist, zu ganz irrigen Resultaten kommen, wenn man die quantitativen Verhältnisse vollkommen unberücksichtigt läßt. Denn in das Zentrifugat werden bei einer sehr starken, aber nicht vollkommenen Bakteriolyse alle nicht aufgelösten Bacillen übergehen. Und wenn man diese nun lediglich mit einem mikroskopischen Präparate beurteilt, so kann man sich allerdings nicht über die quantitativen Verhältnisse ein Urteil bilden, ja muß, selbst bei vorhandener starker Bakteriolyse, zu ganz irrigen Anschauungen kommen.

Anhangsweise wollen wir erwähnen, daß die von uns dargestellten Cholintuberkelbacillenpräparate im Tierversuch geprüft, kein lebendes Virus mehr enthalten, daß sie beim Menschen keine oder nur ganz geringe Pirquetsche Tuberkulinreaktion hervorrufen und selbst in großen Mengen dem Menschen eingespritzt werden können, ohne Reaktion und Schaden zu machen.

Da nun aber eine gewisse Inkonzanz in der Herstellung der Cholinpräparate nicht zu umgehen ist, und da ferner die Auflösung durch Cholin quantitativ schlechter ist als durch Neurin, und da endlich das Neurin für den Menschen in den von uns nötig erachteten Dosen vollkommen unschädlich ist, so haben wir schon seit einiger Zeit von dem Cholin Abstand genommen, und uns lediglich auf das synthetisch dargestellte reine 25-proz. Neurin beschränkt.

Um nun die Löwenstein'schen Behauptungen eindeutig ad absurdum zu führen, haben wir am nächsten Tage nach dem Erscheinen seiner Mitteilung einen Versuch angesetzt, den wir dann am Abend desselben Tages im hiesigen ärztlichen Verein demonstrieren konnten. Der Beweis für die Auflösung der Tuberkelbacillen konnte makroskopisch und mikroskopisch erbracht werden, und zwar in jedem Falle auf zweierlei Weise.

Wir verrieben 1 g menschlicher Tuberkelbacillen im Achatmörser mit 10 g 25-proz. Neurinlösung. Als Kontrolle wurde 1 g Tb. in 10 g alkalischer Kochsalzlösung verrieben. Von der Neurintuberkelbacillennischung wurde nun ein Teil sofort zentrifugiert und mikroskopisch untersucht, ein anderer wurde bei 37°, ein dritter endlich bei 56° belassen, in Röhrchen, die mit einem Wattebausch verschlossen waren.

Nun mußte schon makroskopisch folgendes auffallen: Während die 10-proz. Tuberkelbacillennemulsion in alkalischer physiologischer Kochsalzlösung gleichmäßig trübe und undurchsichtig blieb, so klärten sich die Neurintuberkelbacillennemulsionen allmählich immer mehr und mehr auf. Nach 4 Stunden war das Resultat folgendes: Die bei 37° gehaltene Probe war sehr stark geklärt und fast durchsichtig. Die bei 56° gehaltene Probe war ganz durchsichtig und fast klar (der ganz minimale flockige Bodensatz rührte, wie sich im zentrifugierten Präparate zeigte, her von amorphen Resten schwach blau gefärbter Skelettsubstanz). Gerade wegen der Dicke der ursprünglichen Emulsion, d. h. also, wegen der Möglichkeit so enorme Mengen von Tuberkelbacillen in relativ wenig Neurinlösung auflösen zu können, läßt sich diese Aufhellung bzw. völlige Klärung ganz besonders gut, man möchte sagen mit geradezu aufdringlicher Deutlichkeit demonstrieren. Herr Löwenstein scheint nichts Derartiges bemerkt zu haben.

Wir konnten aber nicht nur dieses eine makroskopische Phänomen demonstrieren, sondern noch ein zweites, ebenso überzeugendes. Zentrifugiert man nämlich, so erhält man folgendes Resultat: In der sofort

nach dem Zerreiben zentrifugierten Neurintuberkelbacillenmischung bildet sich ein starker, kompakter Bodensatz. Dieser Bodensatz ist aber schon geringer als der aus der Kontrollmulsion nach 4 Stunden erhaltene. Der Bodensatz der Tuberkelbacillenkochsalzemulsion ist sehr kompakt. Dagegen erhält man aus der fast klaren Neurinmischung, die 4 Stunden bei 37° gestanden hat, einen geringen und zwar sehr lockeren Bodensatz. Der Bodensatz der Neurinmischung, die 4 Stunden bei 56° gestanden hat, ist ganz gering und sehr locker. Also hier läßt sich schon makroskopisch ein ganz gewaltiger Unterschied demonstrieren. Der große Vorteil ist hier wiederum die Möglichkeit, so enorme Mengen von Bacillen in relativ wenig Flüssigkeit auflösen zu können, so daß die Kontrollmulsion ganz dick ist, die Unterschiede also ganz kraß sichtbar werden. So wird das Phänomen selbst für skeptische Gemüter aufdringlich demonstrierbar.

Wir haben dann weiterhin die zentrifugierten und gewaschenen Bodensätze mikroskopisch untersucht unter Benutzung der Methode Löwensteins. Im hängenden Tropfen waren in der Kontrolle und der sofort nach dem Zerreiben zentrifugierten Neurinmischung natürlich massenhaft Bacillen zu sehen. In dem geringen Bodensatz der 4 Stunden bei 37° belassenen Neurinmischung waren ebenfalls noch Tuberkelbacillen nachzuweisen, jedoch viel weniger als in den Kontrollen. In der 4 Stunden bei 56° belassenen Neurinmischung sind keine Bacillen mehr nachweisbar.

Dem entspricht auch das gefärbte Präparat:

- 1) In dem Bodensatz der Kontrollkochsalzmischung: Massig Tuberkelbacillen.
- 2) In dem Bodensatz der sofort zentrifugierten Neurinmischung: Massig Tuberkelbacillen.
- 3) In dem Bodensatz der 4 Stunden bei 37° belassenen Neurinmischung: Mäßig viel Tuberkelbacillen.
- 4) In dem Bodensatz der 4 Stunden bei 56° belassenen Neurinmischung: Keine Tuberkelbacillen.

Nach 24 Stunden sind die Resultate nicht wesentlich verändert.

Es war demnach in der Neurinprobe nach 4 Stunden bei 37° eine außerordentlich starke, aber nicht vollkommene Auflösung eingetreten, dagegen war die bei 56° gehaltene Probe nach 4 Stunden vollkommen aufgelöst.

Wenn man bedenkt, eine wie enorme Masse von Tuberkelbacillen mit einer nur geringen Menge von Neurin emulsiert wurde, so ist auch das bei 37° erhaltene Resultat phänomenal zu nennen, ganz abgesehen von dem bei 56° erhaltenen.

Wir haben nun seit längerer Zeit solche 10 Proz. Tuberkelbacillen enthaltenden, bei 56° gewonnenen Neurintuberkelbacillenpräparate am Tier und Menschen geprüft. Hier sei nur erwähnt, daß diese konzentrierten 10-proz. Neurintuberkelbacillenpräparate keine oder kaum angedeutete Pirquetsche Tuberkulinreaktion geben, und daß man auch subkutan große Mengen von ihnen einspritzen kann, ohne Schädigungen und nennenswerte Reaktionen zu setzen. Wenn man bedenkt, daß man mit minimalsten Dosen toter, aber nicht aufgelöster Tuberkelbacillen, starke Tuberkulinreaktionen auslösen kann, und wenn man demgegenüber die relative Reaktionslosigkeit der massig Tuberkelbacillensubstanz enthaltenden Neurintuberkelbacillenpräparate betrachtet,

so ist dadurch dem makroskopischen und mikroskopischen Nachweis der Tuberkelbacillenbakteriolyse in diesen Präparaten auch der biologische hinzugefügt.

Wir stehen also vor der unzweideutigen Tatsache, daß wir imstande sind, mit nur wenig Neurin ungeheure Mengen von Tuberkelbacillen aufzulösen. Wir haben also prinzipiell nichts zurückzunehmen.

Bisher noch nicht veröffentlichte, von anderer Seite erhobene Resultate bestätigen, wie erwähnt, unsere Befunde. Außerdem sind wir jederzeit bereit, die von uns dargestellten Präparate zur Nachuntersuchung zur Verfügung zu stellen¹⁾.

Da die Frage einigermaßen wichtig ist, sind wir in dieser Weise auf sie eingegangen.

Hamburg, 25. Febr. 1910.

Nachdruck verboten.

Zur Bakteriolyse der Tuberkelbacillen.

Von Dr. William Zeuner in Berlin.

Gegenwärtig erregt wieder die Frage der Auflösung der Tuberkelbacillen viel Interesse, und zwar besonders seitdem Deycke und Much laut einer ganzen Reihe von Publikationen dieses Thema bearbeiten. Schon seit Jahren weiß man, daß es einen wesentlichen Fortschritt bedeuten würde, wenn es endlich gelingen sollte, die ungemein widerstandsfähige Fettwachshülle der genannten Bakterien aufzulösen, die unter anderem auch vom Antiformin, wie Uhlenhuth nachwies, nicht angegriffen wird. Die Säurefestigkeit der Kochschen Bacillen hängt bekanntlich von ihrer Wachsfethülle ab. Deycke und Much glauben nun, durch Lecithin, Neurin und Cholin Bakteriolyse derselben erreicht zu haben, während E. Löwenstein²⁾, der ihre diesbezüglichen Angaben nachprüfte, zu dem Ergebnis gelangt, daß es sich bei diesen Verfahren nicht um Auflösung handelt, weil nämlich Karbofuchsin durch die alkalischen Lösungen des Neurins und Cholins entfärbt, wasserklar wird, wobei sich rote Tröpfchen abscheiden. Wie J. Citron (Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 10. p. 484) sagt, ist es eine der größten Schwierigkeiten, die wir beim Immunisieren gegen Tuberkulose zu überwinden haben, daß man die Tuberkelbacillen nicht oder wenigstens nicht in einfacher Weise in lösliche Form bringen kann. Auch ich habe seinerzeit Lecithin zur Bakteriolyse der Kochschen Bacillen zu benutzen versucht, bin jedoch bald zu Emulsionen des ölsauren Natrons übergegangen. Uebrigens haben Williams und Forsyth (British med. Journ. 1909. 16. Okt.) ebenfalls erwähnt, daß durch Lecithin und ähnliche Körper die Säurefestigkeit reduziert werde. Die beiden englischen Forscher ließen Tuberkelbacillen 2 Monate lang bei 37° C mit gesättigten sowie

1) Für die Herstellung der Präparate hat sich auch schon eine Fabrik interessiert. Diese ist bei der Herstellung im großen auch nicht auf die allergeringste Schwierigkeit gestoßen, 10 Proz. vollkommene Tb-Lösungen herzustellen. Um so merkwürdiger erscheinen die Resultate Löwensteins.

2) Zur angeblichen Auflösung der Tuberkelbacillen durch Cholin und Neurin. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910.)

auch mit ungesättigten Fettsäuren stehen und fanden dann die Mikroben mit gesättigten Fetten unverändert, dagegen die mit ungesättigtem Fett verändert, indem die Fettwachshülle angeblich zerstört (angegriffen?) war.

A. Fontes¹⁾ fand in verkästen tuberkulösen Drüsen eine Substanz, welche die Tuberkelkeime in vitro schädigte und die das Wachs derselben verseifte. Er rechnet diese Substanz zu den „Enzymes hydrolysants“. Nach Livierato Spiro²⁾ entfaltete, nebenbei bemerkt, ein Extrakt aus tuberkulösen Lymphgeweben eine bedeutende Wirkung auf die behandelten Tiere, indem es die Evolution der experimentellen Tuberkulose abschwächte und verlängerte, also Schutzwirkung und in gewissen Fällen auch Heilwirkung bei Meerschweinchen erkennen ließ.

Ich habe nun³⁾ das wasserlösliche ölsaure Natron in verschiedenen Konzentrationen auf Tuberkelbacillen einwirken lassen, weil dasselbe ein chemisch wohlbekannter, genau definierter Körper von gleichmäßiger Beschaffenheit und Wirkung ist, der als solcher die verschiedenen Grade der Verseifung und Auslaugung gegenüber den Tuberkelbacillen bequem zu studieren gestattet und der zugleich eine ausgiebige Ausbeute an wirksamen, spezifischen, kolloiden Stoffen erwarten ließ. Läßt man eine Lösung von Natrium olënicum 1:60 Aqua (oder 1:30) auf die Kochschen Bacillen einwirken, so färben sich dieselben nur noch blau, nicht mehr rot mit Karbolfuchsin; es wäre jedoch ein Fehler, wenn man deshalb glauben wollte, die winzigen Pilze hätten dann schon den Charakter der Säurefestigkeit verloren, denn sobald nur die Oelseifenlösung wieder ausgewaschen wird, tritt wiederum die schönste Rotfärbung bei erneutem Zusatz von Karbolfuchsin ein, wie ein Versuch lehrte. Nachdem ich mich hiervon überzeugt hatte, wurde mir klar, daß die Oelseifenemulsion eben nur ganz oberflächlich die Fettwachshülle angegriffen hatte und daß erstere nur eine ganz lockere chemische Verbindung mit letzterer eingegangen war. Darum mußte es mein Bestreben sein, eine ungleich festere und innigere chemische Bindung zwischen beiden zuwege zu bringen. Als ich nunmehr zu diesem Behufe die verschiedenen Wachsorten, sowie Walrat, Paraffin, Oele, Tierfette usw. mit Emulsionen vom Natriumoleat im Reagensglas, um einen ungefähren Maßstab und Fingerzeig zu bekommen, zur Lösung zu bringen versuchte, stellte sich bald die Unmöglichkeit heraus, ohne kräftige Erhitzung hier zum Ziele zu kommen. Sobald ich indessen gehörig erhitzte und schüttelte, schmolzen die unterschiedlichen Wachse und Fette, die ich verwendete, restlos ein und gingen mehr oder minder leicht in Lösung mit der Seifenmischung über. Demnach machte ich es mir zur Aufgabe, nach diesen Prinzipien ein Verfahren zu ersinnen, welches die Wachsfettstoffe der Tuberkelbacillen mit der Emulsion des ölsauren Natrons aufzulösen ermöglichte.

In Anbetracht der klebrigen, bröckeligen Beschaffenheit der Kulturen hielt ich langandauernde Schüttelung für unerlässlich, um die einzelnen Stäbchen genügend voneinander aus den Klümpchen, die sich bilden, zu trennen, um sie ferner einzeln der fortgesetzten Oelseifenwirkung zu unterwerfen, und um die harte, feste Struktur, das zähe Gefüge der Hüllensubstanzen durch ununterbrochene Erschütterungen mit Schleuder-

1) Berl. klin. Wochenschr. 1909. No. 52. p. 2349.

2) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1909. Heft 3. p. 235.

3) Neue Ziele der spezifischen Tuberkulosebekämpfung. (Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 15. 1909. Heft 2.) — Spezifische Behandlung bei experimenteller Tuberkulose. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 1.)

bewegungen in der umgebenden Flüssigkeit zu lockern. Also ging ich dazu über, die fraglichen Bacillen bei 37° C 4 Tage lang mit Natrium olëinicum 1:60 Aqua im Uhlenhuthschen Kinothermapparat zu schütteln, hierauf 1 Stunde hindurch (oder länger) auf 70–72° C im Wasserbade zu erhitzen und dann noch 3 Tage hindurch wiederum bei 37° C zu schütteln. Durch dieses komplizierte Verfahren wird natürlich eine ganz intensive durchgreifende Verseifung, Auslaugung, Erweichung und Einschmelzung der Kochschen Krankheitserreger bewirkt. Inwieweit hierbei auch wahre Bakteriolyse erfolgt, möchte ich gern weiterer Nachprüfung unterzogen sehen.

Wenn nämlich auch bei dieser Methode der Verseifung keineswegs etwa sämtliche Bakterienleiber völlig aufgelöst sind, so ergibt sich doch immerhin, daß die Säurefestigkeit mehr oder weniger stark beeinträchtigt ist: Viele der so behandelten Tuberkelbacillen zeigen als Beginn der Einschmelzung, wie ich das nennen möchte, kolbige, verdickte, aufgetriebene Enden, während andere ihre gewöhnliche Form noch behalten haben und noch andere je nach der Dauer der Erhitzung stellenweise oder massenhaft deutliche Zeichen vom Eintritt der Bakteriolyse erkennen lassen, indem sie in Körnchen zerfallen sind, die, durch Zwischenräume getrennt, keine feste Umhüllung mehr besitzen und doch in ihrer Lagerung als Reste von Bacillenleibern imponieren. Nach diesem Bilde der teilweisen Bakteriolyse zu urteilen, scheint es wirklich, als ob die fettwachsartigen Substanzen nicht nur eine Hülle (Haut) für die Kleinwesen bilden, sondern vielmehr, als ob dieselben auch den Bakterienleib imprägnieren, wie Deycke sagt, oder als ob Zwischenwände, intermediäre Schichten solcher Wachsfettmassen die einzelnen Körnerchen voneinander trennen resp. miteinander verbinden. Neben der äußeren Umhüllung mit Wachsfett scheinen also auch ziemlich breite, dicke Querleisten von solchem zu existieren, die der Auflösung, der Einschmelzung ebenso wie die Enden der Stäbchen verfallen sind. Ob die einzelnen Körnerchen irgendwelche Beziehungen zu den Muchschen Granula haben, wage ich nicht zu entscheiden, das lasse ich zunächst ganz und gar dahingestellt sein, obwohl der Gedanke recht verlockend ist, hierbei einen Zusammenhang zu vermuten. Genauere Untersuchungen und Vergleiche sind selbstverständlich erst nötig, um hierüber weitere Aufklärung zu schaffen. Mir kommt es vorderhand bloß darauf an, darzutun, wie bei protrahierter Schüttelung unter Brutschrankwärme und bei sehr langer Erhitzung auf 72° C doch schließlich teilweise Bakteriolyse der unglaublich resistenten Keime, wenn auch nur in mäßigem Umfange, erreicht werden kann. Gerade das Stufenweise, Graduelle der verschieden weit fortgeschrittenen Auflösung von den ersten Anfängen an bis zum Zerfall erscheint mir bei diesem teils warmen, teils heißen Verseifungsprozeß, der mit der Schüttelprozedur vergesellschaftet ist, lehrreich. Einzelne Tuberkelbacillen färben sich nur noch blau, andere blaßrosa oder rot.

Für mich handelte es sich, als ich diese Experimente durchführte, gar nicht darum, vollständige, durchgängige, allgemeine Bakteriolyse höchsten Grades mit den Kochschen Bacillen erzielen zu wollen, ich beabsichtigte vielmehr nur, in erster Linie mit vollkommener Sicherheit die spezifischen Kleinwesen samt und sonders einwandfrei abzutöten und weiter die abgetöteten so weit zu verändern, zu verseifen, daß sie möglichst reichliche spezifische, kolloide Substanzen liefern, die eines teils zu Zwecken der Immunisierung mit entgifteten Bacillenleibern sowie anderenteils zu Heilversuchen dienen sollen.

Daß in mancher Beziehung mit der Seife sich wohl etwas wird erreichen lassen, hat, glaube ich, außer Senator u. A., der seit langem äußerlich bei Skrofulose etc. grüne Seife einreiben läßt, v. Winiwarter¹⁾ in Lüttich bei chirurgischer Tuberkulose wahrscheinlich gemacht, der durch subkutane Injektionen von grüner Seife mit Wasser oder Alkohol zu gleichen Teilen meist Abstoßung der pyogenen Membran bewirkte. Er hält die flüssige Seife für ein treffliches Gewebsantiseptikum, weil sie die Vitalität der Gewebe anregt, während die meisten Antiseptika diese eher schädigen, ehe sie die infektiösen Keime verletzen. Es schien ihm fast, als ob die Seife einen spezifischen Einfluß auf den lokalen tuberkulösen Prozeß ausübt. Nach ihm bzw. seinem Assistenten Delrez beruht die Wirkung der flüssigen Seife nicht auf der Produktion einer akuten Entzündung, sie spielt sich vielmehr in der tuberkulösen Neubildung direkt ab. Die flüssige Seife entspricht seiner langjährigen Erfahrung zufolge ziemlich gut den Forderungen einer idealen Antisepsis, weil sie nicht, wie andere antiseptische Lösungen, die Gewebsalbumine eher zur Gerinnung bringt, als die Mikroben getötet sind.

Nach Zanger (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1909. p. 207) kann das ölsaure Natron, ein Kolloid, zum Teil als Komplement verwendet werden; durch Oelseife komplementiert, haben viele Sera die Eigenschaften von natürlichen Immunsereen. Die Bakterienmembran kann ihm zufolge als Kolloid elektrisch entgegengesetzt geladene Kolloide adsorbieren.

H. Raubitschek und K. Russ²⁾ zeigten, daß den Seifenemulsionen neben ihren bakteriziden und hämolytischen Eigenschaften auch eine entgiftende Wirkung auf gewisse Bakterientoxine zukommt. Es gelang ihnen, durch frisch hergestellte Aufschwemmungen von Natrium oléicum in Aqua dest. bedeutende Mengen von Diphtherie- und Tetanustoxin unwirksam zu machen, wenn man Seife und Toxinlösung entsprechend lange Zeit aufeinander einwirken läßt. Parallelversuche zeigten, daß freie Oelsäure bedeutend schwächer Toxinlösungen entgiftet, als Emulsionen ihres Natriumsalzes. Den Autoren liegt der Gedanke nahe, ob nicht die indissoziierten Seifenteilchen als solche die Entgiftung bewirken. Die stark entgiftende Wirkung einer Seifenemulsion im Gegensatz zu anderen Lipoiden erscheint ihnen *ceteris paribus* in der außerordentlichen Kleinheit und der deshalb enorm großen Oberfläche der adsorbierenden Teilchen einer Seifenemulsion begründet, da wir uns ja zweifellos vorstellen müssen, daß die Adsorptionsaffinität als solche ein Vorgang ist, der von der Oberflächengröße des Adsorbens in weitem Maße abhängig ist. Ferner meinen Raubitschek und Russ, daß die koktostabile, bakterizide Eigenschaft der Pyocyanase auf das Vorhandensein von Lipoiden resp. Seifen zu beziehen ist.

Vorstehendes führe ich nur an, um zu zeigen, welche große, bedeutungsvolle Rolle der Seife bei vielen bakteriologischen und biochemischen Vorgängen zukommt. In betreff der Bakteriolyse der Tuberkelbacillen möchte ich für diejenigen, die es auf möglichst durchgreifende Auflösung abgesehen haben, vorschlagen, die Erhitzung der Kochschen Mikroben in der Emulsion des Natriumoleates nicht unter 70° zu wählen, sondern

1) Delrez, Seifeninjektionen in der chirurgischen Therapie, speziell bei chirurgischer Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 15. 1910. Heft 6.)

2) Ueber entgiftende Eigenschaften der Seife. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1909. Heft 3. p. 395.)

lieber neben ergiebigster, warmer Schüttelung die Temperatur von 72° noch viel, viel länger zu benutzen, als ich es getan habe.

Um auch die Wirkung von Benzoylchlorid, welches Deycke zur Bakteriolyse herangezogen hat, auf tuberkulöse Meerschweinchen kennen zu lernen, injizierte ich 2 Tieren erst mehrfach (je 2 mal) ganze, später 3—4 halbe Pravaz-Spritzen voll von folgender Lösung: 10 ccm Olivenöl, 0,02 Bienenwachs und 0,2 Benzoylchlorid subkutan am Rücken. Beide Tiere bekamen nach 2—3 Wochen große, offene Abscesse in der Kniebeugenfalte, wo sie infiziert waren; das eine bekam außerdem auf dem Rücken eine große Nekrose, weshalb die Versuche mit diesem Mittel, welches übrigens Deycke selbst schon als zu gefährlich zur praktischen Verwendung befunden hat, nicht fortgesetzt wurden.

Wer unterm Mikroskop die verschiedenen Grade der Bakteriolyse der äußerst hartnäckig widerstehenden Kochschen Bacillen beobachten will, ohne freilich gleichmäßigen Zerfall aller Stäbchen zu erwarten, der versucht es vielleicht einmal mit geduldiger Anwendung und Nachprüfung des Natriumoleat nach obiger Methode, bis er sich davon überzeugen kann, daß die Tuberkelbacillen meist erst nach recht langwieriger Erhitzung in der Oelseifenmischung ihre Säurefestigkeit definitiv eingebüßt haben und an manchen Punkten der Präparate auch deutlicher Zerfall in Körnerchen daneben zu sehen sein wird. Ich vermute, daß die jungen Individuen relativ leicht nach obigem Verfahren der Bakteriolyse verfallen, während die älteren, ausgereiften, weil sie eine viel festere Hülle als jene haben, der Auflösung ungleich größeren Widerstand entgegensetzen.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Bakteriolyse der Tuberkelbacillen.

[Aus dem Chemischen Laboratorium des Kaiserl. Institutes für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.]

Von **N. Sieber** und **S. Metalnikoff**.

Die in No. 32, 1909 und No. 5 des laufenden Jahres der München. med. Wochenschr. erschienenen Veröffentlichungen von DDr. Deycke und Much über die Bakteriolyse und Immunisierung gegen Tuberkulose veranlassen uns zu einer vorläufigen Mitteilung über unsere im Laufe längerer Zeit auf demselben Gebiete angestellten Versuche und erzielten Resultate.

Die Veränderung der Tuberkelbacillen wurde schon vor einigen Jahren im Raupenblut und im Serum anderer Tiere (Pferde, Ziegen, Hunde, Kaninchen, Meerschweinchen u. a.) beobachtet. Alle genannten Tiere zeigten eine mehr oder weniger ausgesprochene Immunität gegen die Tuberkelinfektion, und sogar das am wenigsten resistente Meerschweinchen muß in seinem Organismus gewisse Prinzipien gegen Tuberkulose besitzen. Nur durch die natürliche Widerstandsfähigkeit kann bei diesen Tieren der chronische Verlauf des tuberkulösen Prozesses erklärt werden. Von Interesse sind die zahlreichen Beobachtungen über die Abwesenheit der Tuberkelbacillen im Blute und den Exsudaten, dafür aber eine Lokalisation des tuberkulösen Prozesses in verschiedenen Organen bei diesen Tieren.

Markl¹⁾ berichtet über eine von anderen Forschern später bestätigte Zerstörung der Tuberkelbacillen in der Bauchhöhle des Meer-schweinchens. Alles das spricht für die Anwesenheit von Schutzkörpern gegen die Tuberkelinfektion sogar bei wenig resistenten Tieren. Die mehr resistenten müssen natürlich einen größeren Vorrat von Schutzkörpern den weniger resistenten gegenüber in sich tragen.

Alles das führte uns auf den Gedanken, die Wirkung des Serums verschiedener Tiere, der Organextrakte sowie aus Tierkörpern isolierter Stoffe und verschiedener Fermente, Exkrete (wie Speichel, Galle und ihre Bestandteile) dann Fleischextrakt und viele andere auf die Tuberkelbacillen zu untersuchen, wobei zu diesen Versuchen die der Tuberkulose gegenüber resistentesten Tiere gewählt wurden.

Unter dem Einfluß des Blutes der *Galeria melonella* wurden die Tuberkelbacillen schon *in vitro* verändert, wobei sie unter dem Mikroskop glänzend erschienen und sich nach Ziehl nicht mehr färben ließen. Das Serum anderer Tiere verhielt sich mehr oder weniger ähnlich, und zeigte in allen unseren zahlreichen Versuchen mit Tuberkelkulturen spezifisch identische Eigenschaften. Hier sei erwähnt, daß verschiedenen Kulturen gegenüber das Serum, was Angreifen anbetrifft, sich verschieden verhielt, außerdem, daß eine vollständige Zerstörung aller Tuberkelbacillen niemals beobachtet werden konnte, denn sogar sehr stark aktives Serum und Organextrakte konnten auf gewisse Tuberkelbacillen der einen und der gleichen Kultur starke Wirkung, auf andere scheinbar keinen Einfluß ausüben, d. h. daß einige Bacillen sehr leicht, andere dagegen schwach oder gar nicht durch die angewandten Stoffe zerstört werden.

Wir haben viel Zeit verloren, um auf den Grund dieser Erscheinung zu kommen, und versuchten, in dem verschiedenen Virulenzgrad die Erklärung zu finden. Die Versuche lehrten aber, daß die Virulenz in diesem Falle keine Rolle spielt und daß die verschiedene Widerstandsfähigkeit der Bacillen von unaufgeklärten Ursachen abhängt.

Aus dem Grunde, daß die Tuberkelbacillen eine wachsartige Hülle besitzen, welche das Durchdringen und überhaupt das Befeuchten durch die umgebenden Flüssigkeiten verhindert, bearbeiteten wir dieselben mit verschiedenen Lösungen, z. B. einer sehr verdünnten anorganischen (wie schwache Sodalösung) oder organischen Lauge (wie Imid-Harnstoff resp. das stark basische, wasser- und alkalkollösliche, kohlen-saure Guanidin), um den durch diese Hülle gebotenen Schutz zu entfernen und den Einfluß auf das Stäbchen selbst möglich zu machen. Die meisten, aber nicht alle, dem Serumeinfluß gegenüber resistenten Bacillenformen waren nach einem solchen Bearbeiten leicht zerstörbar.

Dann gingen wir zu den erwärmten Sera über, die in gleichem Sinne untersucht wurden. Es stellte sich heraus, daß beim Erwärmen bis 75–80° das Serum seine früheren Eigenschaften, auf die Tuberkelbacillen zu wirken, verlor, und daraufhin kamen wir auf den Gedanken, daß es sich hier um eine Fermentwirkung handeln könne, weil die aus Wachs-fett bestehende Schutzhülle der Tuberkelbacillen ca. 40 Proz. Fettsubstanzen enthält und also leicht durch das in dem Serum vorhandene fettspaltende Ferment, Lipase, angegriffen werden könnte.

Die von einem von uns vor einigen Jahren ausgesprochene Vermutung wird von Bergell²⁾, der offenbar mit unseren Arbeiten nicht

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 69.

2) Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 2.

bekannt war, bestätigt. Er berichtet über einen Einfluß der Lipase auf die Tuberkelbacillenzerstörung im Organismus und des Tuberkelleiters auf reine Wachsplatten.

Fissinger und Marie¹⁾ bestätigten diese Mitteilungen, und berichteten über den Einfluß der fettspaltenden Fermente auf die Tuberkelinfektion und den Zusammenhang zwischen dieser Infektion und Fettstoffwechselstörung bei Menschen und Tieren. Auch die in der praktischen Medizin ausgearbeiteten Heilmethoden resp. reichliche Nahrung von fettreichen Produkten (Butter, Milch und Kumys) stehen mit dieser Ansicht in keinem Widerspruch. Wir beobachteten einen mehr oder weniger starken Einfluß verschiedener Lipasen pflanzlicher oder tierischer Herkunft, sowie des Trypsins und des Tuberkelleiters auf die betreffenden Bacillen. In letzter Zeit berichten verschiedene Forscher (Fontes)²⁾ über die bakteriziden Tuberkelleitereigenschaften auf den Tuberkelbacillus. Möglich ist es, daß die Beobachtungen von Jochmann³⁾ über die Behandlung der chirurgischen tuberkulösen Erkrankungen mit tryptischen Fermenten durch die Anwesenheit von lipolytischen und anderen Fermenten im Trypsin bedingt sind.

Wir stellten Immunisierungs- und Heilungsversuche an tuberkulösen Tieren mit lipasereichen Substraten an, welche aber noch nicht abgeschlossen sind, weil die zur Lipasegewinnung aus dem Pflanzen- und Tierreich nötige Technik noch lange nicht genügend ausgearbeitet ist.

Endlich haben wir seit 2 Jahren eine systematische Forschung über die Einwirkung verschiedener Körper, nicht allein endo-, sondern auch exogener Herkunft, sowie anorganischer und organischer Verbindungen, wie Kohlenhydrate, ein- und mehrwertiger Alkohole, Ketone, Aldehyde, Ester, Amide, Azo- und Diazoverbindungen, Hydrazine, organische Basen, Ureide, methylierte Ammoniumverbindungen, Alkaloide, Pyridinderivate, Terpen, Kampfer und andere zur Aufklärung des Einflusses überhaupt und der Lyse auf die Tuberkelbacillen begonnen, um eine Tuberkelbacillenlyse zu erreichen. Viele zu den Versuchen ausgewählte Substanzen zeigten entweder keine oder schwache Wirkung auf die Tuberkelbacillen, andere aber waren in der gewünschten Richtung von Bedeutung. Zu den letzteren gehörten in erster Linie die Lipoide resp. Lecithin sowie seine Bestandteile und die ihm nahe stehenden Verbindungen, worüber die Herren Deycke und Much ebenfalls berichten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Lipoide, Lecitane resp. Lecithin bei verschiedenen Infektionen, speziell bei Tuberkulose, eine hervorragende Rolle spielen. Wie aus der Arbeit von Dr. Zienkiewicz, welche im vorigen Jahre aus unserem Laboratorium als russische Dissertation erschien, über die Wirkung verschiedener Infektionen auf die Zusammensetzung des Blutes und den Lecithingehalt zu ersehen ist, ist die Lecithinmenge im Blute bei Tuberkuloseinfektion bedeutend erhöht (bis 50 Proz.).

Von diesen Beobachtungen ausgehend, stellten wir uns die Aufgabe, durch detaillierte, in großem Maßstabe ausgeführte Versuche nicht nur in vitro, sondern auch in vivo die Wirkung des Lecithins und ihm nahe stehender Produkte auf die Tuberkelbacillen zu erforschen. Es wurde übereinstimmend mit den Angaben von DDr. Deycke und Much gefunden, daß die genannten Substanzen resp. verschiedene Lecithinpräparate,

1) Compt. rend. soc. biol. 1909.

2) Fontes, Ueber eine in tuberkulösen Lymphdrüsen vorhandene, Tuberkelbacillen tödende Substanz. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)

3) Münch. med. Wochenschr. 1908. p. 2473.

einerseits käufliche, andererseits in unserem Laboratorium, wo die Lecithinforschung in verschiedenen Richtungen Objekt langjähriger Untersuchung ist, aus verschiedenen Organen und Tierarten (Säugetiere, Vögel, Kaltblüter) hergestellte eine zerstörende Wirkung auf die Tuberkelbacillen ausüben. Ueber verschiedene Wirkungen verschiedener Lecithine auf Tuberkelbacillen werden wir in nächster Zeit ausführlich berichten.

Auch wie die Herren Deycke und Much, stellten wir Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose mittels Kombination von verschiedenen Tuberkelbacillenprodukten mit Lecithin an, und schon im Jahre 1906/07 berichtete der eine von uns über die Immunisierung mit verschiedenen Tuberkelbacillusfettarten, und schlug schon damals vor, zur Erreichung positiver Immunisierungsergebnisse gegen Tuberkulose isolierte Produkte des Fettes, Wachses und des Tuberkelbacillengehaltes zu benutzen.

Ueber einen Lipoid- resp. Lecithineinfluß auf verschiedene Tuberkelkulturen und die Immunisierung verschiedener Tiere mit Lecithin und Tuberkelbacillenprodukten wollen wir in nächster Zeit berichten, weil die Versuche sehr zahlreich, verschiedenartig und kompliziert sind, was alles einen längeren Zeitraum erfordert, und nur die Veröffentlichungen von DDr. Deycke und Much veranlassen uns zu dieser kurzen Mitteilung.

Während des Druckes dieser Mitteilung erschien in diesem Centralblatt Bd. 53. p. 541 eine Abhandlung von Dr. E. Löwenstein, in welcher ein Zweifel über das Zustandekommen der Bakteriolyse der Tuberkelbacillen durch die von den Herren G. Deycke und H. Much angegebenen Stoffe geäußert wird. Was uns anbetrifft, so haben wir sehr oft beobachtet, daß gewisse Kulturen der Tuberkelbacillen sehr leicht, andere dagegen trotz langdauernder Einwirkung und sogar bei 37,5° nicht angetroffen werden, so daß unserer Ansicht nach die Meinungsdivergenz sowie die verschiedenen Resultate in dieser Richtung durch verschiedene Eigenschaften der Tuberkelbacillen der verschiedenen Kulturen zu erklären ist.

Nachdruck verboten.

Zur Frage des Tetanotoxins und des Tetanoantitoxins.

Von Prof. S. P. v. Fedorow und P. C. Ikonnikow, St. Petersburg.

In Anbetracht der immer noch nicht gelösten Frage der Eigenschaften des Tetanusgiftes und dessen Antidots hielten wir es für angebracht, Experimente mit Tetanotoxin und Tetanoantitoxin, die von dem einen von uns (Prof. Fedorow) bereits im Jahre 1894 dargestellt worden sind, anzustellen.

Das Gift wurde durch Eindampfung einer Tetanusbacillen-Bouillonkultur unter Beimischung von Traubenzucker im Vakuum bei einer Temperatur von ca. 45° C dargestellt. Das Tetanoantitoxin wurde aus dem Blute von immunisierten Hunden gewonnen, wobei das Blutserum dieser Hunde zunächst bei Kälte in bezug auf fließendes Wasser dialysiert, dann ebenso wie das Gift im Vakuum bei einer Temperatur von ca. 45° C eingedampft wurde. Sowohl das Toxin wie das Antitoxin

wurden hierauf zu einem Pulver steril verrieben und in sterile Glasdosen hermetisch eingeschlossen¹⁾.

Zwei solcher Dosen, und zwar die eine mit Tetanotoxin, die andere mit Tetanoantitoxin in Pulverform, wurden bei Prof. Fedorow bis Ende 1909 aufbewahrt, und diese Dosen waren es auch, die zur Vor- nahme einer Reihe von Experimenten benutzt wurden, um die Frage zu lösen, ob das Tetanotoxin seine Fähigkeit, Tiere unter Tetanuserscheinungen zu töten, bezw. ob das Tetanoantitoxin seine Fähigkeit, gegen Toxininjektionen zu immunisieren, bewahrt habe. 15 Jahre 4 Monate lang wurden sowohl das Tetanotoxin wie das Tetanoantitoxin in Pulverform in Glasdosen mit geschliffenen Pfropfen, die obendrein mit Paraffin über- gossen waren, in einem dunklen Schrank bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

**Experimente mit dem Tetanotoxin und Tetanoantitoxin,
die in trockenem Zustande von Juni 1894 bis Oktober 1909
aufbewahrt wurden.**

I. Feststellung der minimalen tödlichen Toxindosis.

0,002 g Toxin wurden in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung (0,75-proz. NaCl) gelöst; davon wurde Mäusen am 24. Okt. 1909 um 3¹/₂ Uhr nachmittags eine subkutane Injektion gemacht.

Tabelle No. 1.

No.	Gewicht der Maus	Quantität des injizierten Toxins	Ausgang
1	10,5 g	1,0 ccm der Lösung = 0,001 g Toxin	25. Okt. morgens deutlich aus- gesprochene Krämpfe, † nach 29—32 Std.
2	10,5 "	0,5 " " " = 0,0005 " "	Dgl., † nach 29—32 Std.
3	10,5 "	0,25 " " " = 0,00025 " "	26. Okt. deutlich ausgesprochene Krämpfe, † nach 50 ¹ / ₂ Std.

Beim folgenden Experiment wurden geringere Toxindosen genommen, nämlich 0,02 g Toxin wurden in 2 ccm einer 75-proz. Kochsalzlösung aufgelöst. Von dieser Lösung wurden in mit physiologischer Kochsalz- lösung gefüllten Reagensgläschen weitere Verdünnungen gemacht, wobei in jedem folgenden Reagensgläschen die Toxinquantität zehnmal geringer war als im vorigen. Davon wurden Mäusen subkutan injiziert:

Tabelle No. 2.

No.	Gewicht der Maus	Quantität d. injiz. Toxins	Ausgang
1	9,5 g	0,00025 g	Deutlich ausgesprochene Krämpfe am 2. Tag, † nach 51—63 Std. (nachts)
2	9,5 "	0,0001 "	Dgl., † nach 78 Std.
3	8,5 "	0,0001 "	" † " 75 "
4	7,5 "	0,00005 "	" † " 100 "
5	10,5 "	0,00005 "	Es wurde nur Schläffheit geringen Grades beobachtet;
6	10,5 "	0,00001 "	deutlich ausgesprochene Krämpfe waren nicht vorhanden. Blieben am Leben. Krankhafte Erscheinungen waren absolut nicht wahrzunehmen.

1) Die Details der Darstellung des Tetanotoxins und des Tetanoantitoxins in trockenem Zustand, sowie zahlreiche Experimente mit denselben an Tieren und deren Anwendung bei Tieren sind in der im Jahre 1895 in Moskau erschienenen Dissertation „Zur Frage des Tetanus“ von Prof. S. P. v. Fedorow beschrieben.

Die geringste Dosis, die den Tod des Tieres unter typischen Tetanuserscheinungen herbeigeführt hat, betrug somit 0,00005 g Toxin ¹⁾.

II. Injektion von Toxin zugleich mit Antitoxin; minimale Antitoxin-Schutzdosis.

A. 0,02 g Antitoxintrockenpräparat wurden in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Nach einem 20-stündigen Verweilen im Brutschrank bei 37° C bei häufigem Schütteln ist eine vollständige Auflösung der Substanz nicht eingetreten.

B. 0,01 Toxin wurden in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Die Lösung wurde an einem kühlen Orte 20 Stunden lang aufbewahrt.

Es wurden Toxin- und Antitoxinlösungen hergestellt. Zu 4 Reagensgläsern mit Toxinlösung zu je 0,0001 g in jedem (unbedingt tödliche Dosis) wurde folgende Antitoxinquantität hinzugesetzt:

1) 0,0002 g Antitoxin	} + 0,0001 g Toxin	{	Sämtliche Reagensgläsern (Mischung von Toxin und Antitoxin) wurden im Brutschrank bei 37° C für die Dauer von 2½ Stunden stehen gelassen.
2) 0,0005 „ „			
3) 0,001 „ „			
4) 0,01 „ „			

Die Mischung wurde Mäusen subkutan injiziert.

Tabelle No. 3.

No.	Gewicht der Maus	Quantität des Antitoxins	Quantität des Toxins	Ausgang
1	12,5 g	0,0002 g	0,0001 g	† nach 112—124 Std. (nachts). Deutlich ausgeprägte Krämpfe nicht vorhanden
2	11,8 „	0,0005 „	0,0001 „	Gesund
3	11,0 „	0,001 „	0,0001 „	Dgl.
4	10,0 „	0,01 „	0,0001 „	Dgl.
5	14,0 „	0,000 „ (Kontr.)	0,0001 „	† nach 92 Stunden. Krämpfe wurden zu Beginn des 2. Tages wahrgenommen

Die Antitoxindosis von 0,0005 g schützte vollständig vor Erkrankung. Die Antitoxinmenge von 0,0002 g schob den Tod nur hinaus, ohne jedoch das Tier davor zu schützen.

III. Versuch mit gleichzeitiger, aber an verschiedenen Stellen ausgeführter subkutaner Injektion von Toxin und Antitoxin (ohne vorangehende Mischung) in vitro.

Lösung und Verdünnung des Toxins und des Antitoxins wie im vorangehenden Experiment (II). Das Toxin wurde den Mäusen unter die Haut der einen, das Antitoxin unter die Haut der anderen Thoraxseite injiziert (s. Tabelle No. 4).

Der Einfluß des Antitoxins im Sinne eines Schutzes gegen eine unbedingt tödliche Toxindosis machte sich auch bei der Injektion ohne vorangehende Mischung dieser Substanzen im Reagensglas bemerkbar. Nur ist bei einer Antitoxindosis von 0,0005 g im vorangehenden Experiment (vorangehende Mischung im Reagensglas) eine Erkrankung überhaupt nicht eingetreten. Hier aber stellten sich typische und stark ausgesprochene Tetanuserscheinungen ein, die jedoch in chronische Form und dann in Heilung übergegangen sind.

1) Durch Aussaat auf Nährmedien wurde die tödliche Wirkung des Toxintrockenpräparats kontrolliert.

Tabelle No. 4.

No.	Gewicht der Maus	Quantität des Antitoxins	Quantität des Toxins	Ausgang
1	11,0 g	0,01 g	0,0001 g	Gesund
2	13,0 „	0,001 „	0,0001 „	Gesund
3	13,5 „	0,0005 „	0,0001 „	Am 2. Tage wurden konvulsive Kontraktionen der hinteren Extremitäten bemerkt. 7 Tage lang waren die Tetanuskrämpfe so intensiv ausgesprochen, daß die Maus nicht imstande war, sich fortzubewegen. Dann begannen die Erscheinungen nachzulassen, und nach weiteren 8 Tagen war die Maus dem Aussehen nach bereits vollkommen normal.

Unsere Experimente haben somit ergeben, daß sowohl das Tetanustoxin wie auch das Tetanoantitoxin, die in trockenem, pulverförmigem Zustande aufbewahrt wurden, ihre spezifischen Eigenschaften selbst nach einem Verlauf von mehr als 15 Jahren bewahrt haben.

Die tödliche Minimaldosis für weiße Mäuse betrug 0,00005 g, was auf bedeutende Virulenz des im Pulver enthaltenen Giftes hinwies.

Die minimale Antitoxindosis, welche eine Maus vor Erkrankung schützte und 0,0005 g betrug, wies gleichfalls auf die hohen Werte des Tetanoantitoxinpulvers hin.

Die in der Tabelle 4 verzeichneten Experimente haben wir zu dem Zwecke angestellt, um nachzuweisen, daß in vitro eine Zerstörung des Tetanusgiftes unter dem Einfluß der unmittelbaren Berührung mit dem Antitoxin stattfindet. In der Tat kann man, um ein Tier vor Erkrankung an Tetanus zu schützen, geringere Dosen von Tetanoantitoxin verwenden, wenn man vor der Injektion das Gift in vitro mit Antitoxin vermischt.

Wir hielten es für überflüssig, zahlreiche Experimente in ein und derselben Richtung vorzunehmen, weil Prof. Fedorow schon eine ganze Reihe von analogen Experimenten ausgeführt hat, die stets ergaben, daß das Tetanoantitoxin stets in geringeren Dosen vor Tetanus schützt, wenn es nach vorangehender Vermischung mit Tetanotoxin injiziert wird ¹⁾.

Nachdruck verboten.

Ueber Veränderungen der Geißeln bei der Agglutination. [Aus dem Institut für Hygiene u. Bakteriologie der Universität Straßburg (Direktor: Prof. Dr. Forster).]

Von Oberstabsarzt a. D. Dr. **Georg Kühnemann**,
Hilfsarbeiter an der bakteriologischen Untersuchungsanstalt für Typhusbekämpfung.
Mit 1 Tafel.

Gelegentlich meiner Untersuchungen über die Geißeln der Typhusbakteriengruppe ²⁾ bemerkte ich, daß die Geißelfärbung bei den durch spezifisches Immenserum agglutinierten Bacillen versagte oder nur dann positive Resultate ergab, wenn durch stärkere Verdünnung des Serums

1) Cf. Fedorow, Wirkt das Tetanusantitoxin auch giftzerstörend? (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 16. No. 12/13.)

2) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. 53. 1910. p. 473.

die Agglutination eine schwache oder partielle geworden war. Diese bei etwa 200 Färbungen gemachte Beobachtung war mir deshalb besonders auffallend, weil sie den wenigen, bisher hierüber angestellten Untersuchungen in keiner Weise entsprach. Aus diesem Grunde erscheint es notwendig, auf die letzteren kurz einzugehen.

Hinterberger¹⁾ wandte bei seinen Färbungen agglutiniertes Typhusbacillen mit Silbernitrat Serum in einer Verdünnung von 1:400 an und prüfte zugleich auch die agglutinierende Wirkung von Saffranin, Vesuvin und Sublimat auf Typhusbacillen. Die Serumverdünnungen sowohl des normalen wie des Immunsersums wurden in Brunnenwasser (Wiener Hochquelle) gemacht, „da dieses einerseits zur Agglutination nötige Salze liefern konnte, andererseits destilliertes Wasser bekanntermaßen ein die Geißeln nicht unberührt lassender Stoff ist“. Er ließ die mit der Typhusbacillenemulsion vermischten Flüssigkeiten 1—1 $\frac{1}{2}$ Stunde im Thermostaten und färbte dann nach seiner Silbermethode. Die Färbung ergab, daß weder der Aufenthalt im Wasser noch in den beiden Serumemulsionen weder die Geißeln der Typhusbacillen noch deren Körper irgendwie verändert hatte. Auch in den seinen Photogrammen beigegebenen Erläuterungen bemerkt Hinterberger ausdrücklich, daß das für die Präparate verwendete agglutinierende Serum in Wasser (1:400) gelöst sei. Im Gegensatz zur Serumagglutination zeigte sich bei der Agglutination durch Saffranin deutlich, daß mit den Geißeln etwas geschehen ist. Viele Geißeln sind abgerissen, zu kleinen Kreisen gerollt, die an den Bacillenkörpern noch hängenden Geißeln sind kurzweilig gebogen, stellenweise wie Korkzieher aussehend, auch winklig wie geknickt, dabei im Bilde scharf hervortretend. Vesuvin bietet einen ähnlichen Befund, wenn auch weniger deutlich. Mit Sublimat agglutinierte Typhusbacillen zeigen zwar halbwegs zarte Geißeln, aber die Geißeln sind ebenfalls geknickt, unregelmäßig gebogen, oft abgerissen, auch verknäuelnd oder entzwei gebrochen.

Weitere Untersuchungen über die durch die Agglutination verursachten Geißelmodifikationen hat de Rossi²⁾ angestellt; zugleich gibt er einen Ueberblick über die frühere, dieses Gebiet behandelnde Literatur. De Rossi bereitete sich für seine Versuche agglutinierende Sera vom Typhusbacillus, *Bacterium coli* und *Bacillus subtilis* mit einem Titer von 1:8000, 1:4000 und 1:2500. Alsdann verteilte er genau gemessene Quantitäten von gut entwickelten, sehr beweglichen Bouillonkulturen jener Mikroorganismen in geeignete Probierröhrchen und fügte das betreffende Serum in verschiedenen Mengen hinzu. Die entsprechenden Verdünnungen variierten von einem Minimum von 1:50 bis zu einem Verdünnungsmaximum, das eine gute, vollkommene Agglutination hervorbrachte. Die Probierröhrchen wurden mit Wattepfropfen geschlossen, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° und 12 Stunden im Eisschrank gehalten. Alsdann wurde die Zentrifugierung ausgeführt, um den flockigen Niederschlag auf dem Boden des Röhrchens anzusammeln und zu agglomerieren. Die klare Flüssigkeit wurde sorgfältig dekantiert und dem Niederschlage ein Tropfen sterilisiertes Destillierwasser hinzugefügt. Durch die genaue Untersuchung der auf diese Weise erhaltenen Präparate mittels der Geißelfärbung gelangte man bei den drei Mikroorganismen zu einem und demselben Schluß, unabhängig von der Kon-

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 36. 1904. p. 457.

2) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 36. 1904. p. 685.

zentration des angewendeten Serums, d. h. die Geißeln der Mikroorganismen zeigten keine Modifikation weder der Form noch der Anordnung noch der Struktur. Weiterhin aber erklärt de Rossi, daß die Geißeln die Hauptrolle bei der Agglutininfixierung spielen, die Körper dagegen eine sehr kleine. Die größere Deutlichkeit, mit welcher das Phänomen bei den beweglichen Bakterien zu bemerken ist, finde ihre Erklärung durch eine besondere Empfindlichkeit der Geißeln gegenüber den agglutinierenden Substanzen der spezifischen Sera. De Rossi kommt in einer späteren Arbeit „Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien“¹⁾ auf seine Beobachtungen zurück und unterwirft die Untersuchungen von Guastiaburu (Cronica medica di Lima, 15. Dez. 1904) über denselben Gegenstand einer Kritik. Dieser Autor mischte nämlich, um den Einfluß des normalen und spezifischen Serums zu untersuchen, kleine Quantitäten einer 24-stündigen Agarkultur mit verschiedenen Verdünnungen dieser Sera; hiervon brachte er ein Tröpfchen auf ein Deckglas, das er der Färbung unterwarf. Zu gleicher Zeit brachte er auf dasselbe Glas ein in destilliertem Wasser emulsionierte Bouillon enthaltendes Tröpfchen, das der Kontrolle dienen sollte. „Es ist aber bekannt“, sagt hierzu de Rossi, „daß die Anwesenheit von sehr kleinen Mengen irgendeiner organischen, den Bakterien fremden Substanz ein sehr schweres Hindernis für die Färbung bildet. Kein Wunder daher, wenn in den hergestellten Präparaten die Färbung eine absolut negative war, sogar bei einer Serumverdünnung von 1:1000 bis 1:2000, was den Untersucher zu dem unrichtigen Schluß führte, daß sie vernichtet seien. Und in der Tat konnte er die Geißeln in den Präparaten beobachten, die er mit sehr verdünntem, normalem oder spezifischem Serum herstellte.“

Zur Färbung der Geißeln hat Zettnow ein Verfahren angegeben, das auch bei agglutinierten Bakterien stets positive Resultate ergab. Es besteht bekanntlich darin, daß vor der Beizung und Färbung der Bakterienaufschwemmung eine 4-proz. Formaldehydlösung hinzugesetzt wird. Man hat es bei dieser Methode also nicht mit lebenden, sondern mit abgetöteten, somit unbeweglich gemachten Bakterien zu tun, die später der Agglutination unterworfen werden.

Auf Grund der angeführten Untersuchungen hat sich nun die Anschauung allgemeine Geltung verschafft, daß die agglutinierten Bakterien nicht anders aussehen als normale, und daß etwa vorhandene Geißeln trotz aufgehobener Bewegung in ihren Formen erhalten bleiben.

Nun gilt es aber nach den heutigen Ansichten als unerlässlich, daß für das Zustandekommen der Agglutination die Aufschwemmung der Bakterien in einem mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Immuserum, nicht aber in Bouillon oder in Brunnenwasser unter Zusatz von Immuserum geschehen muß. Dieser Forderung entspricht indes keine der angeführten Methoden. Hinterberger hat zu seinen Versuchen ein mit Brunnenwasser verdünntes Serum, de Rossi Serum in Nährbouillon verwendet. Aus diesem Grunde können ihre Beobachtungen nicht als beweisend angesehen werden. Es muß ja schon von vornherein als sehr auffallend bezeichnet werden, daß so zarte Gebilde, wie die Geißeln, die selbst bei vorsichtigster Behandlung leicht in ihren Formen verändert werden, durch den Vorgang der Agglutination unberührt bleiben sollten. Läßt sich doch schon makroskopisch beobachten, wie

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 40. 1906. p. 562.

eine Bakterienaufschwemmung durch Einwirkung des Immunserums auseinandergerissen und mit gleichsam zentrifugaler Kraft verschleudert wird.

Ich kann nun auf Grund der eigenen, nachstehend aufgeführten Untersuchungen die von Hinterberger und de Rossi gemachten Beobachtungen nicht bestätigen. Bei den Versuchen kamen zur Verwendung 20-stündige Agarkulturen von Choleravibrionen, Typhus- und Paratyphusbacillen sowie hochwertiges Immunserum für Cholera vom Titer 1 : 4000, für Typhus und Paratyphus B vom Titer 1 : 40000. Von diesen Seris wurden Verdünnungen hergestellt 1 : 100, 250, 500, 750, 1000, 2500, 4000, ferner 5000, 10000, 20000, 40000, und zwar in 0,85-proz. Kochsalzlösung. Bis zu den Verdünnungen, in welchen sofort oder nach wenigen Minuten eine vollständige Agglutination eintrat, erfolgte die Aufschwemmung der Bakterienkulturen in der auf das Deckgläschen gebrachten Immunserumlösung, ohne daß sie in den Brüttschrank gebracht wurden. Die Färbung geschah vielmehr unmittelbar nach Eintrocknung des Tröpfchens. Bei höheren Verdünnungen hingegen (von 2500 an aufwärts) wurden die Untersuchungen sowohl in der eben beschriebenen Weise als nach einstündigem Verweilen der vor Eintrocknung in feuchter Kammer geschützten Aufschwemmung im Brüttschrank angestellt. Zur Färbung habe ich die bewährte Loefflersche Methode angewandt, die nie versagte. Als nur unwesentliche Modifikation möchte ich erwähnen, daß ich die eigentliche Färbung mit Fuchsin-Anilinwasser oder Karbol-fuchsin auf 10 Minuten ausdehnte und von einem Zusatz von Natronlauge auch bei stark säurebildenden Bakterien, z. B. Coli, Abstand nahm. Die kräftige Färbung empfiehlt sich besonders für diejenigen Präparate, die zur photographischen Reproduktion verwendet werden sollen.

Werden Choleravibrionen mit dem beschriebenen Immunserum bis zur Verdünnung 1 : 1000 agglutiniert, so sind die Geißeln bei starker Verklumpung überhaupt nicht darstellbar; nur die vereinzelt liegenden Vibrionen zeigen mehr oder weniger zart angedeutete Geißeln. Bei stärkeren Verdünnungen bis zur Titergrenze dagegen gelingt die Sichtbarmachung ohne weiteres, gleichgültig, ob die Untersuchung sofort oder nach einstündigem Verweilen der Bakterienaufschwemmung zusammen mit dem Immunserum im Brüttschrank vorgenommen wird. Allerdings erscheinen auch hier die Geißeln in ihrer Form weniger scharf begrenzt als bei den nicht mit agglutinierendem Serum behandelten Bakterien. (S. Photogramme.)

Aehnliche Verhältnisse lassen sich beim Typhus- und Paratyphus B-Bacillus nachweisen. Immunserum von Verdünnungen bis zu 5000 bewirkt rasche Häufchenbildung und läßt die Geißeln entweder gänzlich verschwinden oder nur an vereinzelt Stellen, wo die Agglutination weniger in die Erscheinung getreten ist, schwach hervortreten. Bei stärkeren Verdünnungen von 10000 bis 40000 zeigen sich die Geißeln, wenn die Untersuchung gleich nach der Mischung der Kultur mit dem Immunserum geschieht, unverändert. Werden dagegen die mit einem Tropfen derartiger Mischung beschickten Deckgläschen, vor Eintrocknung geschützt, 1 Stunde lang in den Brüttschrank gestellt, so erscheinen die Geißeln nur schwach angedeutet und gleichsam aus kleinsten Pünktchen zusammengesetzt (vgl. Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 53, Geißeln der Typhus- und Paratyphusbacillen, p. 475, Fig. 12). Ferner kann man bei Einwirkung eines auf etwa 20000 verdünnten Immunserums nicht

selten beobachten, wie zahlreiche Geißeln eine korkzieherartig gewundene Form annehmen, so daß sie einer Spirochäte täuschend ähnlich sehen, ein Bild, das bei nicht mit Serum behandelten Bacillen niemals angetroffen wird. Ähnliches konnte Hinterberger bei Typhusbacillen feststellen, die durch Saffranin agglutiniert waren. Wird das Immunsérum bis zur Titergrenze und darüber verdünnt, so sind mit dem Aufhören des Agglutinationsphänomens auch die Geißeln wieder leicht und deutlich darstellbar.

Auch Normalserum wirkt bis etwa zur Verdünnung von 1:100 auf die Struktur der Geißeln ein in der Weise, daß sie entweder gar nicht oder nur mit undeutlichen, schwachen Konturen hervortreten. Bei schwachen Verdünnungen zeigt sich dabei meist deutliche Agglutination, bei stärkerer Verdünnung jedoch nicht mehr. Höhere Serumverdünnungen üben keinerlei Einfluß auf die Färbbarkeit der Geißeln aus. Näheres siehe in untenstehender Tabelle.

Es könnte nun der Einwand erhoben werden, den de Rossi bereits gemacht hat, daß bei den beschriebenen Versuchen das Immunsérum als organische Substanz die Färbung und Darstellbarkeit der Geißeln beeinträchtigt habe, da bekanntlich jeder Niederschlag die Geißelfärbung erschwert. Um diesem Einwand zu begegnen, habe ich in einer zweiten Versuchsreihe die Möglichkeit eines derartigen Hindernisses ausgeschaltet und das nachfolgend beschriebene Verfahren angewendet:

Von Typhus-Kaninchen-Immunsérum, von inaktivem und frischem Normal-Kaninchensérum werden die in der folgenden Tabelle angegebenen Verdünnungen in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und zu diesen Verdünnungen je 0,2 ccm einer mit derselben Kochsalzlösung vorsichtig abgeschwemmten, 24-stündigen Agarkultur von Typhusbacillen hinzugefügt. Die durch Zentrifugieren beschleunigte Agglutination geschieht nach der vortrefflichen, von Gaehstgens angegebenen Methode¹⁾. Nach 10 Minuten wird mit Kapillarpipette die klare Serumlösung abgehebert, so daß nur der für den Grad der Agglutination charakteristische Bodensatz bleibt. Dieser wird noch dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert, um jede Spur des Serums zu entfernen. Alsdann erfolgt die Aufschwemmung einer geringen Menge des Bodensatzes in einem Tröpfchen Leitungs- oder destillierten Wassers, welches zur Verteilung der Bakterienmasse dient. Die Färbung geschieht in gewöhnlicher Weise. Genau ebenso werden die in physiologischer Kochsalzlösung ohne Serumzusatz aufgeschwemmten Kontrollen behandelt. Das Ergebnis ist folgendes:

Typhusbacillenaufschwemmung in Typhus-Kanin.-Immunsérum	Agglutination	Geißeln
1:100	sehr stark	fehlen
1:250	vgl.	„
1:500	„	ganz vereinzelt
1:1000	„	vgl.
1:2500	„	„
1:5000	„	„
1:10 000	deutlich	spärlich an den nicht agglutin. Bac.
1:25 000	„	vgl.
1:50 000	schwach	ziemlich zahlreich

1) Beitrag zur Agglutinationstechnik. (München. med. Wochenschr. 1906. p. 1351. — Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 25. 1907. p. 218.) — Ueber die Beschleunigung der Agglutination durch Zentrifugieren. (Arch. f. Hyg. Bd. 46. 1908. p. 377.)

Typhusbacillenaufschwemmung in inakt. Kanin.-Normalserum	Agglutination	Geißeln
1:25	deutlich	fehlen
1:50	fehlt	"
1:100	"	vereinzelt
1:500	"	zahlreich
1:1000	"	zahlreich und deutlich
in frischem Kanin.-Normalserum (junges Tier)		
1:5	deutlich	fehlen
1:10	"	"
1:25	fehlt	"
1:50	"	"
1:100	"	"
1:500	"	ziemlich zahlreich
1:1000	"	zahlreich und deutlich

Alle Kontrollen zeigen keine Spur von Agglutination und überall deutliche Geißeln.

Hieraus geht hervor, daß beide Untersuchungsmethoden, sowohl die der unmittelbaren Mischung und Agglutination auf dem Deckgläschen, als auch die Agglutination nach der Gaetgensschen Methode mit nachheriger völliger Ausschaltung des Serums bei der Färbung, die gleichen Resultate geben.

Es zeigt sich also, daß spezifisches Immunserum noch in starken Verdünnungen, normales Serum hingegen nur in schwächerer Verdünnung (etwa 1:100) eine die Substanz der Geißeln beeinflussende (tricholytische) Wirkung ausübt. Dies Phänomen geht zwar mit dem der Agglutination im allgemeinen parallel, steht aber nicht notwendig mit ihm in Zusammenhang, da auch Normalserum bis zu bestimmten Verdünnungen die Geißeln zerstört, ohne daß zugleich Agglutination erfolgt.

Erklärung der Photogramme.

Fig. 1. Cholera vibrien aus einer 20 Stunden alten Agarkultur, in 0,85-proz. Kochsalzlösung, nach Loeffler gefärbt. Aufnahme mit Zeiss Apochromat 2 mm, Kompensationsokular 12 (Vergrößerung 1500).

Fig. 2. Cholera vibrien aus derselben Kultur, jedoch in Choleraimmunserum 1:500 agglutiniert. Färbung wie in Fig. 1 nach 10 Minuten langer Einwirkung des Serums. Aufnahme und Vergrößerung wie in Fig. 1.

Fig. 3. Cholera vibrien aus derselben Kultur, in Choleraimmunserum 1:1000 agglutiniert. Färbung wie in Fig. 1 nach 10 Minuten langer Einwirkung des Serums. Aufnahme und Vergrößerung wie in Fig. 1.

Fig. 4. Cholera vibrien aus derselben Kultur, in Choleraimmunserum 1:4000 nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank schwach agglutiniert. Färbung, Aufnahme und Vergrößerung wie in Fig. 1.

Fig. 5. Typhusbacillen aus einer 24 Stunden alten Agarkultur, nach 5 Minuten langem Verweilen in Typhusimmunserum 1:20 000. Hier zeigt sich der Beginn der Wirkung des Immunserums auf die Geißeln, die zum Teil korkzieherartige Krümmung aufweisen. Färbung, Aufnahme und Vergrößerung wie in Fig. 1.

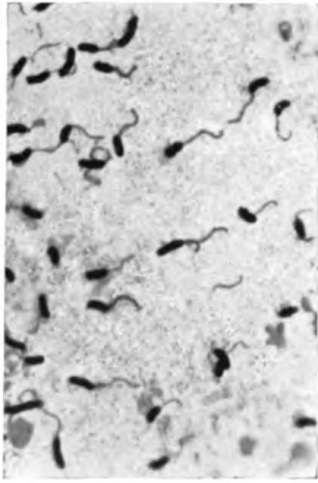


Fig. 1.

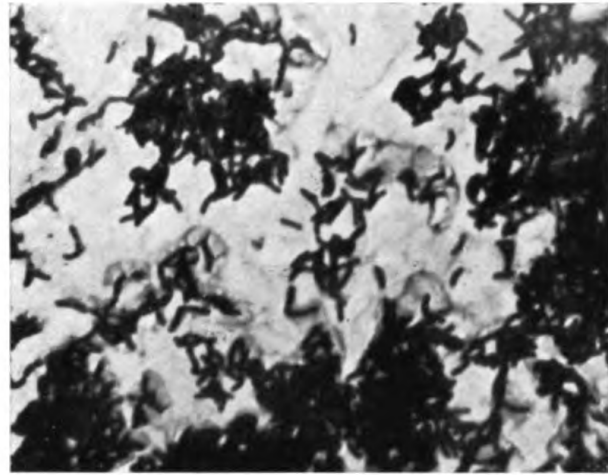


Fig. 2.



Fig. 3.

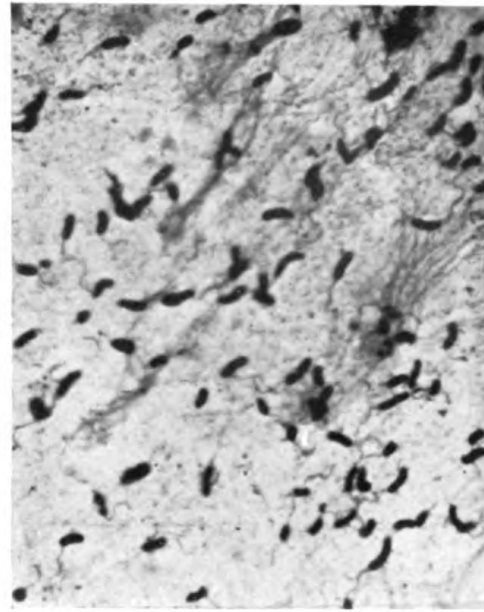


Fig. 4.

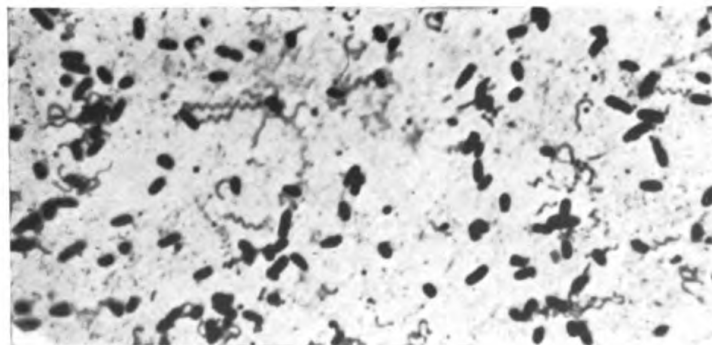


Fig. 5.

Nachdruck verboten.

Ueber Agglutinationsversuche mit normalem Rinderserum.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
(Vorstand: Hofrat Prof. Dr. F. Hueppe).]

Von Dr. **Wilhelm Spät**, k. u. k. Regimentsarzt.

Bordet und Gay¹⁾ haben beim Rinderserum eine besondere Wirkungsweise beschrieben, nach welcher dieses die Eigenschaft besitzt, mit Immunkörper und Komplement beladene (sensibilisierte und alexinierte) Blutkörperchen stark auszuflocken und zu hämolysieren. Diese Eigenschaft nennen die Autoren Konglutination, deren Zustandekommen sie auf das im normalen Rinderserum enthaltene „Colloid de bœuf“ zurückführen.

Von diesen Befunden ausgehend, untersuchte Streng²⁾, ob das normale Rinderserum auch gegenüber Bakterien ein analoges Verhalten aufweist. Zu diesem Zwecke agglutinierte er mit Rinderserum eine Reihe von Mikroorganismen und konstatierte einen verschiedenen Einfluß desselben auf differente Bakteriengruppen. So fand er, daß einerseits z. B. Typhus- und Cholerabacillen von 0,1 ccm Rinderserum sowohl im frischen wie im inaktivierten Zustande ausgeflockt werden, während andererseits Tuberkel- und Diphtheriebacillen in derselben Quantität nur von frischem, nicht aber von inaktiviertem Serum beeinflußt werden. Daraus folgert Streng, es handle sich im ersten Falle um die gewöhnliche Agglutination, die Ausflockung der Tuberkel- oder Diphtheriebacillen sei dagegen eine andere, eigenartige Erscheinung, nachdem das Agglutinin bei Erhitzung auf 56° keine Einbuße erleide. Streng deutet die durch das normale Rinderserum bewirkte Ausflockung als Konglutination in dem oben angedeuteten Sinne, indem er sich vorstellt, das Rinderserum gebe den Immunkörper und das Komplement an die Bakterien, worauf diese, derart beladen, durch das Rinderkolloid ausgeflockt werden.

Um die Richtigkeit dieser Auffassung zu beweisen, bringt Streng in einem Versuche Bakterien mit einem differenten Immunkörper und Komplement zusammen und setzt dann ein durch Erschöpfung vom Agglutinin befreites Rinderserum hinzu. Nach seinen Angaben kommt es in einer derart beschickten Probe schon nach 15 Minuten zu einer groben Ausflockung der Bakterien.

Da die von Streng angeführten Befunde über das Verhalten des Rinderserums, welche den Ausgangspunkt zu seinen Untersuchungen bilden, mit unseren Erfahrungen im Widerspruch stehen (worauf wir weiter unten noch zurückkommen werden), haben wir sowohl diese als auch die Kardinalversuche über die Erscheinung der Konglutination einer Nachprüfung unterzogen. Wir befolgten hierbei genau die Strengsche Technik und Versuchsanordnung mit dem Unterschiede, daß wir statt Bouillonkulturen Aufschwemmungen von Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung benützten.

Wir wollen gleich auf den wichtigsten und beweisendsten Teil der Versuche eingehen. Es handelt sich hier darum, den Bakterien einen nicht vom Rinde stammenden Immunkörper, ferner isoliert Komplement

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1906.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 1.

und schließlich das vom Agglutinin befreite Rinderserum, als das supponierte Rinderkolloid, zuzusetzen. Keines von diesen Stoffen darf an sich die Bakterien agglutinieren, um eben die Möglichkeit der Agglutination mit Sicherheit ausschließen zu können. Zu diesem Zwecke wählten wir als Immunkörper ein Typhusimmunserum vom Schaf und ermittelten die Menge, welche Typhusbacillen nicht mehr agglutiniert (0,001 ccm). Als Komplement wurde Meerschweinchenserum in der Dosis von 0,1 ccm verwendet. Behufs Absorption der Agglutinine behandelten wir eine bestimmte Quantität von Rinderserum (1 ccm) abwechselnd mit verschiedenen Mengen von Typhusbacillen ($\frac{1}{10}$ Agarkultur bis 2 ganze Kulturen); nach erfolgter Agglutination wurde das klar abzentrifugierte Serum verwendet.

Gleich der erste Versuch zeigte, daß die im Vorversuche als sicher nicht mehr wirksam ermittelte Menge des Typhusimmunserums noch eine deutliche Agglutination für sich allein bewirkte.

Versuch.

- 1) 1 ccm Aufschwemmung von Typhusbacillen + 0,1 ccm Komplement.
- 2) Dieselbe Aufschw. + 0,1 ccm Komplement + 0,001 ccm Immunserum.
- 3) " " + 0,001 ccm Immunserum.
- 4) " " + 0,1 ccm Komplement + 0,001 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
- 5) " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
- 6) " " + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
- 7) " " + 0,1 ccm Komplement + 0,001 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- 8) " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
- 9) " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- 10) " " allein.

Nach $\frac{1}{2}$ Stunde üppige Agglutination in den Röhrchen 4, 5 und 6; nach etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden eine schwache Agglutination in feinsten Flöckchen in den Proben 2, 3 und 7. Die im Röhrchen 7 erfolgte Agglutination mußte daher dem Typhusimmunserum zur Last gelegt werden.

Wir waren daher genötigt, die Menge des Immunserums von 0,001 ccm auf 0,0005 ccm zu verkleinern. Wir machten folgende Aufstellung:

- 1) 1 ccm Typhusbac. + 0,1 ccm Komplement.
- 2) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunserum.
- 3) 1 " " + 0,0005 ccm Immunserum.
- 4) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
- 5) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
- 6) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
- 7) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- 8) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
- 9) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- Grad der Erschöpfung (in den Röhrchen 7, 8, 9): 2 Kulturen auf 1 ccm Serum.
- 10) 1 ccm Typhusbac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- 11) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
- 12) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- Grad der Erschöpfung (in den Röhrchen 10—12): 1 Kultur auf 1 ccm Serum.
- 13) 1 ccm Typhusbac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- 14) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
- 15) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- Grad der Erschöpfung (in den Röhrchen 13—15): $\frac{1}{3}$ Kultur auf 1 ccm Serum.
- 16) 1 ccm Typhusbac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunserum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- 17) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
- 18) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- Grad der Erschöpfung (in den Röhrchen 16—18): $\frac{1}{6}$ Kultur auf 1 ccm Serum.

- 19) 1 ccm Typhusbac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunsrum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 20) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
 21) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 Grad der Erschöpfung (in den Röhren 19—21): $\frac{1}{6}$ Kultur auf 1 ccm Serum.
 22) 1 ccm Typhusbac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Immunsrum + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 23) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,2 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
 24) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 Grad der Erschöpfung (in den Röhren 22—24): $\frac{1}{10}$ Kultur auf 1 ccm Serum.
 25) 1 ccm Typhusbac. + 0,2 ccm aktives Rinderserum.
 26) 1 " "

Nach den Angaben Strengs genügen 15 Minuten bei 37° zum Auftreten der Konglutination, welche sich in grober Ausflockung der Bakterien äußert. Wir fanden nach dieser Zeit eine Ausflockung nur in den Kontrollen mit nativem, nicht erschöpftem Rinderserum (Röhren 4, 5 und 6), sowie in der Probe mit aktivem Rinderserum (Röhren 25). In allen übrigen Proben war nicht die geringste Veränderung zu konstatieren, also auch nicht in den Röhren 7, 10, 13, 16, 19 und 22, wo alle Bedingungen zum Zustandekommen der Konglutination vorhanden waren und nur das für diese Reaktion angeblich nicht erforderliche Agglutinin fehlte. Es kam also zu einer Ausflockung nur da, wo das im normalen Rinderserum enthaltene Agglutinin zur Wirkung gelangen konnte. Auch nach 2-stündigem Aufenthalte im Brutschrank war das Resultat das gleiche. Erst nach 15—20 Stunden zeigte sich in einigen Röhren ein feiner Satz bei Trübung und zwar in denjenigen, wo offenbar die Erschöpfung des Agglutinins keine vollkommene war (Röhren 19, 20, 22 und 23), in diesem Falle also auch in Proben, wo der für die Konglutination unentbehrliche Sensibilisator ausgeschaltet wurde (Röhren 20 und 23).

Das Ergebnis dieser Versuche rief den Eindruck hervor, daß die agglutinierenden Flüssigkeiten in den angewendeten Mengen einzeln, für sich allein, unwirksam waren, mehrere oder alle zusammen aber sich nach längerer Zeit zu einer Beeinflussung der Bakterien summiert haben.

Ganz analoge Resultate lieferten die mit Cholera bacillen durchgeführten Versuche. Auch hier wurden zunächst in Vorversuchen die nicht mehr agglutinierenden Mengen der einzelnen in Betracht kommenden Sera ermittelt, doch zeigte sich auch diesmal ebenso wie in den Versuchen mit Typhusbacillen, daß diese Quantitäten in den späteren Versuchen an und für sich schon manchmal eine, wenn auch schwache Agglutination erzeugten. Beispiel:

- 1) 1 ccm Cholera bac. + 0,1 ccm Komplement.
 2) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Choleraimmunsrum.
 3) 1 " " + 0,0005 ccm Choleraimmunsrum.
 4) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Choleraimmunsrum. + 0,02 ccm inaktiviertes Rinderserum.
 5) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,02 ccm inaktiviertes Rinderserum.
 6) 1 " " + 0,2 ccm inaktiviertes Rinderserum.
 7) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Choleraimmunsrum. + 0,02 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 8) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,02 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
 9) 1 " " + 0,02 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 Grad der Erschöpfung (in den Röhren 7—9): $\frac{1}{4}$ Kultur auf 1 ccm Serum.
 10) 1 ccm Cholera bac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0005 ccm Choleraimmunsrum. + 0,02 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 11) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,02 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
 12) 1 " " + 0,02 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 Grad der Erschöpfung (in den Röhren 10—12): $\frac{1}{4}$ Kultur auf 1 ccm Serum.
 13) 1 ccm Cholera bac. + 0,02 ccm aktives Rinderserum.
 14) 1 " "

Nach 15 Minuten starke Ausflockung in den Röhrrchen 4, 5, 6 und 13, eine schwache in den Röhrrchen 1, 2, 7 und 10. Es ist daher die Ausflockung lediglich dem Immunserum und dem Meerschweinchenkomplement zuzuschreiben. Nach 2 Stunden Ausflockung in allen Proben, in denen Immunserum und Komplement zugesetzt wurden. Besonders erwähnenswert ist in den Versuchen mit Cholera bacillen das Verhalten des Komplements, welches häufig — nicht immer — in der üblichen Menge von 0,1 ccm schon an sich agglutinierte. In den folgenden Versuchen wurde deshalb das Komplement auch in kleineren Mengen zugesetzt und die Dosis des Choleraimmunserums auf 0,0002 ccm herabgedrückt.

Versuch.

- 1) 1 ccm Cholera bac. + 0,1 ccm Komplement.
 - 2) 1 " " + 0,05 " "
 - 3) 1 " " + 0,025 " "
 - 4) 1 " " + 0,1 " " + 0,0002 ccm Choleraimmunserum.
 - 5) 1 " " + 0,05 " " + 0,0002 " "
 - 6) 1 " " + 0,0002 ccm Choleraimmunserum.
 - 7) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,0002 ccm Immunserum + 0,015 ccm inaktiviertes Rinderserum.
 - 8) 1 " " + 0,05 ccm Komplement + 0,0002 ccm Immunserum + 0,015 ccm inaktiviertes Rinderserum.
 - 9) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,015 ccm inaktiviertes Rinderserum.
 - 10) 1 " " + 0,05 " " + 0,015 " " "
 - 11) 1 " " + 0,015 " inaktiviertes Rinderserum.
 - 12) 1 " " + 0,1 " Komplement + 0,0002 ccm Immunserum + 0,015 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 - 13) 1 " " + 0,05 ccm Komplement + 0,0002 ccm Immunserum + 0,015 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 - 14) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,015 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
 - 15) 1 " " + 0,05 " " + 0,015 " " "
 - 16) 1 " " + 0,015 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- Grad der Erschöpfung (in den Röhrrchen 12—16): 1 Kultur auf 0,2 ccm Serum, 10-fach verdünnt.
- 17) 1 ccm Cholera bac. + 0,1 ccm Komplement + 0,0002 ccm Immunserum + 0,015 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 - 18) 1 " " + 0,05 ccm Komplement + 0,0002 ccm Immunserum + 0,015 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
 - 19) 1 " " + 0,1 ccm Komplement + 0,015 ccm inakt. erschöpftes Rinderserum.
 - 20) 1 " " + 0,05 " " + 0,015 " " "
 - 21) 1 " " + 0,015 ccm inaktiviertes erschöpftes Rinderserum.
- Grad der Erschöpfung (in den Röhrrchen 17—21): 1 Kultur auf 0,4 ccm Serum, 10-fach verdünnt.
- 22) 1 ccm Cholera bac. + 0,015 ccm aktives Rinderserum.
 - 23) 1 " "

Auch hier zeigte sich wie bei den Versuchen mit Typhusbacillen weder nach 15 Minuten noch nach 2 Stunden die geringste Veränderung. Erst nach längerer Zeit (mehr als 2 Stunden) trat neben den Kontrollen mit nativem Serum auch in den Proben 12, 13, 14, 17, 18 und 19 eine deutliche Ausflockung auf.

Wenn es also — nach längerer Zeit — überhaupt zu einer positiven Reaktion in den für die Konglutination in Betracht kommenden Röhrrchen gekommen ist, so zeigte sich der gleiche Befund auch da, wo der Immunkörper fehlte (Röhrrchen 14 und 19), wo also nach der Strengschen Definition der Konglutination ein negativer Ausfall erwartet werden mußte.

Wir können demnach auf Grund obiger Versuche der Anschauung Strengs nicht beistimmen, daß dem Rinderserum eine besondere Wirkungsweise, die er als Konglutination bezeichnet, zukommt. Wir müssen nach wie vor die in Rede stehende Ausflockung als Agglutination auffassen, nachdem aus unseren Versuchen unzweideutig hervorgeht, daß in allen Fällen, wo das Agglutinin mit Sicherheit entfernt wurde, jede Ausflockung ausgeblieben ist.

Die positiven Resultate Strengs können wir uns nur auf die Art erklären, daß seine Sera nicht ganz erschöpft waren, so daß sie im Vereine mit den sozusagen unteragglutinierenden Mengen des Immunkörpers und, wie wir gesehen haben, auch des Komplements sich zu einer Wirkung summiert haben. Für sich allein konnte dieses Serum eine Ausflockung nicht hervorrufen und wir finden daher in den betreffenden Kontrollen ein negatives Resultat. Wenn aber neben diesem Serum, welchem die Agglutinine zwar zum Teil, aber nicht vollständig entzogen waren, noch andere Sera zugesetzt wurden, die in den betreffenden Quantitäten allein nicht agglutinierten, aber sicherlich noch geringe Agglutininmengen enthielten, so ist es nicht befremdend, daß alle diese geringen Mengen zusammen genommen eine Höhe erreichten, welche eine sichtbare Ausflockung erzeugen kann.

Was das eigenartige Aussehen der Reaktion betrifft, so betont Streng als besonders charakteristisch die grobe Ausflockung bei der Konglutination im Gegensatz zur feineren bei der Agglutination. Bail¹⁾ deutete diese grobe Ausflockung als eine kombinierte Wirkung von Agglutination und Bakteriolyse und wir konnten uns ebenfalls stets von der Richtigkeit dieser Auffassung in ganz einfacher Weise überzeugen, indem wir einen Tropfen der ausgeflockten Emulsion mikroskopisch betrachteten. Das Bild zeigte neben unversehrten Stäbchen Häufchen von Granulis.

Wenn wir nun eine Konglutination im Sinne Strengs nicht bestätigen können, so verdienen seine Versuche doch eine besondere Beachtung, und zwar aus dem Grunde, weil sie, allerdings von einem anderen Gesichtspunkte, eine Frage von prinzipieller theoretischer Bedeutung berühren. Wir kehren hiermit zum Ausgangspunkt der Strengschen Erwägungen und Versuche zurück. Seine Hauptprämisse war die Beobachtung, daß das normale Rinderserum in der Menge von 0,1 ccm Tuberkel- oder Diphtheriebacillen nur im aktiven, nicht aber im inaktivierten Zustande ausflockt. Nun hat schon Bail früher Befunde mitgeteilt, nach denen die Agglutination als komplexer Vorgang zu deuten ist und wo die Anschauung zum Ausdruck gebracht wird, daß die Inaktivierungstemperatur nur relativ zu nehmen ist, in dem Sinne, daß im Serum nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Erhitzung auf 56° nur ein Teil des Komplements vernichtet wird, daß der übrig bleibende Rest jedoch häufig noch zum Zustandekommen der Reaktion hinreicht. Was speziell den negativen Ausfall der Strengschen Agglutinationsversuche mit Tuberkel- und Diphtheriebacillen betrifft, so hat ebenfalls Bail (l. c.) darauf hingewiesen, daß in diesem Falle der Unterschied zwischen der Wirksamkeit des aktiven und inaktiven Serums bloß ein quantitativer ist, denn es genügt, nur die Menge des inaktiven Serums zu steigern, um eine positive Reaktion zu erhalten. Auch wir konnten uns von der Richtigkeit dieser Angaben überzeugen. Beispiel:

- | | | | |
|----|------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 1) | 1 ccm einer Tuberkelbacillenemuls. | + 0,2 ccm inakt. Rinderser. | |
| 2) | 1 " | " | + 0,4 " " " |
| 3) | 1 " | " | + 0,6 " " " |
| 4) | 1 " | " | + 0,8 " " " |
| 5) | 1 " | " | + 1,0 " " " |
| 6) | 1 " | " | + 0,2 " " " + 0,1 ccm Komplement. |
| 7) | 1 " | " | + 0,2 " aktives Rinderserum. |
| 8) | 1 " | " | " |

Nach ca. $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden bei 37° üppige Ausflockung in den Röhren 6 und 7. Nach mehreren Stunden eine deutliche Agglutination in

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. Heft 2.

den Proben 3 und 4. Versuche mit Diphtheriebacillen gaben in gleicher Anordnung dieselben Resultate¹⁾.

Diese Versuche zeigen einerseits, daß eine 1/2-stündige Erhitzung des normalen Rinderserums auf 56° keineswegs das Agglutinationsvermögen desselben für die in Frage stehenden Mikroorganismen absolut zerstört, sondern lediglich abschwächt; andererseits lehren sie, daß das inaktive Serum durch Zusatz von Meerschweinchenkomplement in seiner agglutinatorischen Wirksamkeit wieder reaktiviert werden kann (Röhrchen 6). Diese Befunde können nur so gedeutet werden, daß die Agglutination — wenigstens soweit es sich um das normale Rinderserum handelt — ein komplexer Vorgang ist, indem das Vorhandensein des Komplementes zum Zustandekommen der Reaktion notwendig ist; daß aber schon sehr geringe Mengen desselben hierzu genügen, Mengen, welche auch nach einer 1/2-stündigen Erhitzung bei 56° im Serum unversehrt zurückbleiben²⁾.

Ein sehr schönes Beispiel von komplexer Wirkung ist auch folgender Versuch, den wir nach Bail (l. c.) wiederholt haben:

2 Agarkulturen von Diphtheriebacillen werden in 20 ccm aktiven Rinderserums aufgeschwemmt und diese Emulsion 2 Stunden bei 40° gehalten, wobei rasch Agglutination eintritt. Der abzentrifugierte und gewaschene Bakteriensatz wird in 1,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verteilt und behufs Abspaltung der Agglutinine 1 Stunde bei 42° digeriert. Hierauf wird diese Emulsion zentrifugiert und der wasserklare „Extrakt“ verwendet:

1)	1 ccm einer Diphtheriebacillenaufschw.	+ 0,05 ccm Extrakt	+ 0,1 ccm NaCl-Lösung.
2)	1 " "	+ 0,1 " "	+ 0,1 " "
3)	1 " "	+ 0,2 " "	+ 0,1 " "
4)	1 " "	+ 0,4 " "	+ 0,1 " "
5)	1 " "	+ 0,05 " "	+ 0,1 " Komplement.
6)	1 " "	+ 0,1 " "	+ 0,1 " "
7)	1 " "	+ 0,2 " "	+ 0,1 " "
8)	1 " "	+ 0,4 " "	+ 0,1 " "
9)	1 " "	" "	" "

Nach etwa 2 Stunden deutliche Agglutination in den Proben 5, 6, 7 und 8; in den übrigen ist der Befund auch nach vielen Stunden negativ.

Auf Grund unserer Versuche glauben wir uns zu folgenden Schlüssen berechtigt:

1) Die nach Zusatz von normalem Rinderserum in Bakterienemulsionen auftretende Ausflockung kann nur als Agglutination aufgefaßt werden und es bestehen nicht die geringsten Anhaltspunkte, welche die Annahme einer besonderen Wirkungsweise, der Konglutination, rechtfertigen würden.

2) Hingegen bringen die diesbezüglichen Versuche von Streng einen neuen Beweis für die Komplexität der Agglutinine.

1) Es sei allerdings hinzugefügt, daß wir sowohl bei Diphtherie- als auch Tuberkelbacillen einen positiven Ausfall der Agglutinationsversuche nicht immer, d. h. nicht mit jedem Stamm erhielten, eine Erscheinung, welche nicht weiter befremden kann, nachdem wir auch anderweitig schlecht agglutinierenden Stämmen begegnen.

2) Wie schwankend der Begriff und die Höhe der Inaktivierungstemperatur ist, konnten wir uns auch gelegentlich anderer Versuche überzeugen. So fanden wir bei Untersuchungen über die hemmende Wirkung der Präzipitoide, daß die Erhitzung des präzipitierenden Serums durch 1 Stunde bei 70° — diese Temperatur wird allgemein als für diese Zwecke sicher hinreichend bezeichnet — die hemmende Wirkung bei späterem Zusatz von aktivem Serum nicht immer aufhebt und daß in solchen Fällen die Inaktivierung bei noch höherer Temperatur durchgeführt werden mußte. Diese Erscheinung konnten wir sowohl beim normalen Rinderserum als auch bei Immuneris beobachten.

Nachdruck verboten.

Ueber einige atypische Erscheinungen bei Anwendung der Gruber-Widalschen Reaktion in der Typhusdiagnostik.

[Aus der Kaiserl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt für Typhusbekämpfung Diedenhofen (Leiter: Oberarzt Klehmet).]

Von Dr. F. Grimm (†)¹⁾, Oberarzt im Inf.-Reg. 26, kommand. z. Anstalt.

Die Bedeutung der praktischen Bakteriologie liegt zum großen Teil in ihrer Brauchbarkeit als diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Infektionskrankheiten. Mit der Erweiterung unserer bakteriologischen Kenntnisse haben sich bei der Lösung dieser Aufgabe jedoch mancherlei Schwierigkeiten eingestellt. Es hat sich nämlich nicht nur gezeigt, daß die Anwesenheit von Krankheitskeimen im menschlichen Organismus nicht gleichbedeutend mit Krankheit zu sein braucht, sondern daß vor allem auch die eigenartigen Veränderungen des Blutserums, die indirekt auf die Anwesenheit bestimmter Krankheitskeime im Organismus hindeuten sollen, bezüglich ihrer Spezifität häufig im Stich zu lassen scheinen. So hat bereits Krencker (1) darauf aufmerksam gemacht, wie gar nicht selten z. B. auch bei Tuberkulose Typhusagglutinine im Serum des Patienten auftreten, ohne daß er selbst dafür eine befriedigende Lösung geben konnte. Ob die von ihm veröffentlichten Fälle geeignet sind, die Spezifität der Reaktion in Frage zu stellen, möchte ich hier nicht erörtern. Daß dieselbe aber immerhin mit einer gewissen Vorsicht anzuwenden ist, beweisen auch folgende, in der hiesigen Anstalt beobachtete Fälle.

Aus nachstehender Tabelle geht hervor, daß auch innerhalb derselben Verwandtschaftsgruppe von Erregern paradoxe Erscheinungen beobachtet werden konnten, die die Spezifität der Gruber-Widalschen Reaktion etwas zu erschüttern scheinen, denn die Serumdiagnose wies in allen Fällen auf einen anderen Erreger hin, als nachher im Blut oder in den Exkrementen gefunden wurde oder als die epidemiologischen Beobachtungen erwarten ließen.

Unterziehen wir nun die einzelnen Fälle einer genaueren Betrachtung, so fällt allerdings auf, daß in den Fällen I—III, in denen zweimal Blutuntersuchungen bei denselben Patienten vorgenommen wurden, eine eigentümliche Erhöhung des Titers im Serum für Typhus festgestellt werden konnte. Während bei Fall I am 25. Juni sich nur ganz schwache Agglutinine für Typhus befanden, ließen sich dieselben bereits am 28. Juni bis zu einer Verdünnung von 1:100 feststellen. Im Fall II wiederum finden wir am 30. Sept. noch gar keine Typhusagglutinine, während sie sich bereits am 5. Oktober ebenfalls bis zu einer Verdünnung von 1:100 nachweisen ließen. Wenn nun auch im I. Falle der Titer für das Paratyphusagglutinin gleichfalls noch stieg und auch im II. Fall die Agglutination für Typhus noch nicht so deutlich herauskam wie für Paratyphus, so ist es doch immerhin bemerkenswert, daß am selben Tag Typhusbacillen im Stuhl gefunden wurden. Fall III ist besonders deshalb interessant, weil wir in ihm im Verlauf der Krankheit nicht nur ein energisches Ansteigen des Titers für Typhus, sondern auch das völlige Verschwinden der Paratyphusagglutinine beobachten können. Aus diesem

1) Anmerkung: Der junge hochstrebende Verfasser dieses Aufsatzes hat in treuer Pflichterfüllung dem wissenschaftlichen Beruf sein Leben geopfert. Er starb am 24. März 1910 infolge einer Laboratoriumsinfektion an Typhus. Die Redaktion.

Lfd. No.	Name d. Pat.	Datum der Untersuch.	Ausfall der Agglutinationsprobe		Bemerkungen
I.	Schä.	25. Juni	Ty 20 ± 50 — 100 —	Para 20 + 50 + 100 —	28. Juni Stuhl Typhusbac.
		28. Juni	Ty 20 + 50 + 100 +	Para 20 + 50 + 100 +	
II.	Br.	30. Sept.	Ty —	Para + (1:100)	5. Okt. Stuhl Typhusbac.
		5. Okt.	Ty 20 + 50 + 100 ±	Para 20 + 50 + 100 +	
III.	Pe.	13. Juli	Ty 20 + 50 ± 100 —	Para 20 + 50 + 100 ±	Kein Bacillenbefund
		28. Juli	Ty 20 + 50 + 100 +	Para 20 — 50 — 100 —	
IV.	Lo.	10. Dez.	Ty —	Para 20 + 50 + 100 +	Im Blutkuchen Typhusbacillen
V.	Schau.	18. Okt.	Ty 20 + 50 + 100 —	Para 20 + 50 + 100 +	Typhusbacillen
VI.	Cat.	11. Okt.	Ty 20 + 50 + 100 ±	Para 20 + 50 + 100 +	Typhusbacillen
VII.	Gru.	15. Juli	Ty —	Para + (1:100)	18. Juli Stuhl Typhusbac.
VIII.	Cham.	21. Okt.	Ty 20 + 50 — 100 —	Para 20 + 50 + 100 +	26. Okt. Stuhl Typhusbac.
			IX.	Sar.	
X.	Stu.	24. Okt.	Ty 20 + 50 — 100 —	Para 20 ++ 50 ++ 100 ++	Kein Bacillenbefund (in der Umgebung Typhusfall)
XI.	Ba.	19. Juli	Ty 20 + 50 ± 100 —	Para 20 + 50 + 100 +	Kein Typhusbefund (Schwester und Hausnachbar typhuskrank)
XII.	Jei.	24. Okt.	Ty 1:100 +	Para —	22. Okt. Paratyphusbacillen im Stuhl 4. Nov. dgl., 13. Nov. dgl. 23. Nov. neg., 28. Nov. neg.

Verlauf der Agglutinationskurven muß geschlossen werden, daß es sich tatsächlich um Typhus und nicht um Paratyphus gehandelt hat, wenn es auch nicht gelang, die Bacillen im Blut oder Ausleerungen nachzuweisen. Fall III muß vielmehr in Analogie gesetzt werden mit den folgenden 3 Fällen, in denen trotz des positiven Ausfalles der Gruber-Widalschen Reaktion für Paratyphus gleichzeitig Typhusbacillen im Blut nachgewiesen werden konnten, wobei besonders Fall IV auffällt, bei dem es nicht einmal in schwachen Verdünnungen möglich war, Typhusagglutinine festzustellen. Die folgenden Fälle VII, VIII, IX zeigten trotz negativen „Widals“ für Typhus und trotz ausgesprochen positiven Ausfalls der Reaktion für Paratyphus Typhusbacillen im Stuhl, während sich bei Fall IX und X zwar kein Bacillenbefund erheben ließ,

die für Paratyphus positive Serumdiagnose aber im Gegensatz stand zu der Tatsache, daß beide Patienten in der Nähe von echten Typhusfällen erkrankten. Der letzte Fall (Jei.), der das umgekehrte Bild zeigt wie die vorhergehenden, d. h. positiven Ausfall für Typhus mit positivem Paratyphusbefund in den Exkrementen, scheint zwar einer besonderen Kategorie anzugehören, findet jedoch, wie wir unten sehen werden, gleichfalls aus den übrigen Fällen heraus seine Erklärung.

Was nun zunächst die Beobachtung anderer Untersucher über analoge Befunde betrifft, so hat erst in neuerer Zeit wieder Fischer (2) ähnliche Fälle mitgeteilt, unter denen besonders auch ein solcher mit absolut negativer Widal-Reaktion für Typhus, positivem Ausfall desselben für Paratyphus und gleichzeitigem Typhusbacillenbefund im Blut auffällt. Früher schon haben Jürgens (3), Grünberg und Rolly (4), v. Drigalski (5), Zupnick (6) und für Paratyphus A auch Brion (7) über ähnliche Beobachtungen berichtet.

Wie können wir uns nun an der Hand unserer Tabelle das Paradoxe dieser Erscheinungen erklären? Es gibt meines Erachtens drei Möglichkeiten:

- Entweder: Die Rezeptoren der betreffenden Typhusseren hatten für die von uns verwendeten Prüfungsstämmen eine zu geringe „Avidität“, so daß das Agglutinationsphänomen für Typhus überhaupt ausblieb oder wenigstens während der vorgeschriebenen Beobachtungszeit nicht sichtbar wurde (Manteuffel, Kutscher);
- oder: In den betreffenden Seren befanden sich bereits vor der Bildung des spezifischen Typhusagglutinins Immunagglutinine für Paratyphus;
- oder: Es befanden sich vorgebildete Normalagglutinine in ihnen.

Was nun zunächst die erste Möglichkeit anbetrifft, so ist durch Untersuchungen von Pfeiffer und Kolle, Klinger, Bruns und Kayser, Wassermann, Cole und in neuerer Zeit von Falta und Noeggerath (8) festgestellt worden, daß verschiedene, auch eine Zeitlang fortgezüchtete, sichere Typhusstämmen durch ein und dasselbe Krankenserum verschieden in ihrer Agglutinabilität beeinflußt werden können. Auch Manteuffel (9) ist der Ansicht, daß analoge Atypien auf der Verwendung eines schwer agglutinablen Typhusstammes und eines leicht agglutinablen Paratyphusstammes beruhen und empfiehlt daher in zweifelhaften Fällen das Austitrieren der betreffenden Seren mit mehreren Typhusstämmen. Diesen Beobachtungen stehen nun aber Untersuchungsergebnisse von Falta und Noeggerath (8) gegenüber, wonach die Unterschiede zwischen den einzelnen Typhusstämmen sich bei längerer Dauer der Krankheit mit dem Steigen des Serumtiters verwischen, so daß, wie auch die Untersucher zugeben müssen, bei gelegentlichen Atypien wohl auch der jeweilige Rezeptorenapparat des infizierten Organismus mit zur Erklärung herangezogen werden muß. Sehr gegen die Annahme eines schwer agglutinablen Typhusstammes spricht übrigens auch in unseren Fällen die Tatsache, daß wir stets nur bewährte, bis zur Titergrenze eines hochwertigen Testserums agglutinable Stämme benutzten und daß bei den ersten 3 Fällen wahrscheinlich sogar bei der zweiten Blutuntersuchung dieselben Stämme verwendet worden sind. So ist es also meines Erachtens naheliegender, den Grund für gelegentliche Atypien im Serum selbst zu suchen, und wir nähern uns so den beiden anderen Erklärungsmöglichkeiten.

In welcher Weise wird also in den oben geschilderten Fällen der Ambozeptorenapparat des Organismus durch die Invasion von Typhusbacillen in das Blut beeinflußt? Stellen wir uns die Agglutinine als

Körper vor, die die Bakterienzelle zum Aufquellen und Verkleben mit anderen Bakterienzellen bringen, so scheint es, als ob durch diese Wirkung in manchen Patientenserien die eigentlichen Erreger zunächst gar nicht oder nur schwach, dagegen diesen nahe verwandten Bakterienzellen viel stärker beeinflußt werden. Wir sehen nun in den ersten beiden Fällen, daß im Verlauf einiger Tage die Typhusagglutinine ebenfalls in Erscheinung treten bzw. die Titergrenze des Serums für sie stieg und daß im Fall III sogar die Paratyphusagglutinine verschwanden. Der Gedanke an eine Mischinfektion erscheint mir in Anbetracht der Tatsache, daß in allen Fällen nicht ein einziges Mal Paratyphusbacillen nachgewiesen werden konnten, ja daß sogar in Seris, die nur Paratyphusbacillen agglutinierten, Typhusbacillen gefunden wurden, zu erzwungen. Und doch läßt es sich meines Erachtens nach den neuesten Erfahrungen über zahlreiche Befunde von Bacillen aus der Paratyphusgruppe bei gesunden und so natürlich auch bei typhuskranken Personen nicht von der Hand weisen, daß solche Bacillen durch gelegentliche Invasionen in das Blut zur Bildung von Paratyphusagglutininen Veranlassung geben können. Da diese häufig mit der Nahrung in den menschlichen Darm gelangenden Keime zuweilen, wie gesagt, durchaus harmloser Natur sind, so darf es nicht verwunderlich erscheinen, wenn auch ohne das klinische Bild einer Krankheit öfter ein ähnlicher Zustand entsteht, wie nach einer akuten Infektion mit Typhus oder Paratyphus, d. h. wenn auch in solchen Fällen der „Widal“ noch wochen- und monatelang nach der Invasion der betreffenden Keime positiv bleibt. Rimpau (18) ist es allerdings in seinen Untersuchungen niemals gelungen, bei positivem Paratyphusbefunde in den Exkrementen oder im Blute Gesunder gleichzeitig homologe Agglutinine im Serum nachzuweisen. Ganz abgesehen davon, daß in der Tat eine Anzahl dieser parasitären „Darmpassanten“ gar nicht zur Resorption gelangen, scheinen mir die Rimpauschen Beobachtungen vorläufig nur zu beweisen, daß die Reaktion des Organismus auf die stets ja nur in sehr geringen Mengen eindringenden Keime eben nicht eine so stürmische ist, wie bei den virulenten Vertretern und erst sehr langsam zur Agglutininbildung führt. Nehmen wir also an, daß auch die parasitären Paratyphusbacillen vielfach nicht reaktionslos im Blut zirkulieren, so wird es vielleicht auch verständlich, wie in manchen Seris die infolge einer neuen Infektion ins Blut dringenden Typhusbacillen zunächst nur die verwandten Paratyphusagglutinine vorfinden und von diesen nur schwach oder auch gar nicht beeinflußt werden können. Erst später entsteht dann, wie wir gesehen haben, das spezifische Typhusagglutinin. Da dessen Bildung bekanntlich erst nach einer Inkubationszeit von 2—10 Tagen erfolgt, so lassen sich meines Erachtens nunmehr diejenigen Fälle zwanglos erklären, in denen wir trotz des positiven Typhusbacillenbefundes im Blut zwar hohe Paratyphusagglutinine, aber noch keine Typhusagglutinine feststellen konnten.

So befriedigend nun diese Erklärung auch wäre, so scheint sie doch nicht für alle Fälle zuzutreffen. Wir sahen nämlich im Fall III bei der zweiten Blutuntersuchung die Paratyphusagglutinine nicht mehr in Erscheinung treten. Nach den herrschenden Anschauungen (Castellani) paßt ein solches Verschwinden von Immunagglutininen nicht ohne weiteres in das obige Bild, d. h. eine völlige Absorption solcher Agglutinine lediglich durch verwandte Erreger, also hier durch Typhusbacillen, ist nicht möglich. Da dies aber offenbar hier geschehen ist, so kann es sich nur um Partialagglutinine für Paratyphus, d. h. um eine Mittagglutination gehandelt haben. Dies scheinen auch Untersuchungen zu beweisen, die Jürgens (3) seiner Zeit bei einer Typhusepidemie in Trier

machen konnte. Auch er beobachtete ähnliche Atypien (Typhus 50 +, Paratyphus 400 +; Typhus 1000 +, Paratyphus 1500 +) bei echten Typhusfällen, konnte aber durch den Castellanischen Absorptionversuch nachweisen, daß bei Absättigung solcher Sera mit Typhusbacillen auch die sehr hohen Paratyphusagglutinine verschwanden, daß es sich also auch hier nur um Partialagglutinine gehandelt haben konnte.

Wie aber steht es nun mit denjenigen von unseren Fällen, in denen wir gar keine, oder wenigstens nur ganz schwache Typhusagglutinine (1:20) im Gegensatz zu der sehr hohen Paratyphusagglutination feststellen konnten und in denen doch also von Mitagglutination der Paratyphusbacillen nicht die Rede sein konnte? Sind wir berechtigt, von vornherein so hohe Normalagglutinine schon vor dem Auftreten der Immunagglutinine anzunehmen? Was die bisher vorgenommenen Spezialuntersuchungen in dieser Richtung anbetrifft, so haben z. B. Posselt und Sagasser (10), Stern (11), Köhler (12) u. a. in den Seren nicht typhuskranker Personen für Typhus selten eine höhere Titergrenze als 1:30 gefunden. Es ist natürlich schwer zu entscheiden, ob wir für Paratyphus dieselben Verhältnisse annehmen dürfen oder ob sich diese Erregergruppe mehr den Coli-Bacillen nähert, die nach Jatta (13) u. a. auch in Normalseris in noch recht hohen Konzentrationen (1:100) agglutiniert werden. Paltauf (14) betrachtet indes auch diese hohe Coli-Agglutination als erworben, da nach Pfaunder (15) Kinder und Säuglinge keine Agglutination auf Coli-Bacillen bis 1:10 zeigen. Die Resorption derselben und ihre Aufnahme ins Blut findet also auch erst im Lauf des späteren Lebens statt, nur mit dem Unterschied, daß der Coli-Bacillus im Gegensatz zum Paratyphusbacillus nicht erst mit der Nahrung in den Darm zu gelangen braucht. Wieweit dies überhaupt für eine „Spezifität“ der Normalagglutinine spricht, will ich hier nicht näher erörtern, doch scheinen mir die Fälle von Jürgens und Fall III dagegen zu sprechen. Wir müssen also wohl annehmen, daß es sich in allen Fällen, in denen es uns überhaupt nicht gelang, spezifische Typhusagglutinine nachzuweisen, nicht um Normalagglutinine, sondern um selbständige Haupt- bzw. Immunagglutinine für Paratyphus gehandelt hat. So ergibt sich also von selbst, daß wir in obiger Tabelle zwei ganz verschiedene Arten von Fällen vor uns haben, nämlich erstens solche, die bei Anstellung der Reaktion nur Immunagglutinine für Paratyphus im Serum enthielten (Fall I, III, IV, VII, VIII, IX, X) und zweitens solche, bei denen das Serum neben dem sich bildenden spezifischen Typhusagglutinin bereits vorgebildete Normalagglutinine enthielt, die durch den beginnenden Immunisierungsprozeß in ihrer Titergrenze abnorm hoch gesteigert wurden: Mitagglutination (Fall III, V, VI, XI).

In welchem Zusammenhang steht nun der Fall XII, der positiven Ausfall der Serumreaktion für Typhus und dreimaligen Paratyphusbefund im Stuhl zeigte, mit den übrigen Fällen? Wir haben oben gesehen, wie häufig wir spezifische Paratyphusagglutinine bei nicht paratyphuskranken Menschen beobachten konnten und uns diese Erscheinung mit den neuerdings häufig erhobenen Bacillenbefunden aus der Paratyphusgruppe auch bei gesunden Personen, die nachweislich niemals Paratyphus hatten, erklärt [Conradi (16), Hübner (17), Rimpau (18), Fornet (19), Gaetgens (20) u. a.]. Da auch das Anstaltsmaterial häufig Gelegenheit zu solchen Beobachtungen bot, so bin ich geneigt, im Fall XII den Hauptwert auf den für Typhus positiven „Widal“ zu legen und im Gegensatz zu den anderen Fällen den Paratyphusbefund im Stuhl als

einen rein zufälligen, auf Bacillenträgertum beruhenden, anzusehen. Hierzu kommt noch, daß wir gleich Rimpau (18) bei Auffindung virulenter Paratyphusbacillen so gut wie niemals die homologen Serumreaktionen vermißten. Es ist dies meines Erachtens dadurch zu erklären, daß die Invasion jener im Gegensatz zu den parasitären Vertretern stets eine so massenhafte ist, daß der Organismus sozusagen spontan mit der Bildung der homogenen Agglutinine reagiert. Von dieser Auffassung ausgehend, liegt meines Erachtens im Fall XII, in dem sogar schon vor der Blutentnahme Bacillen nachgewiesen werden konnten, der Gedanke an eine Mischinfektion recht fern. Jedenfalls ist es, wie wir sehen, häufig ungemein schwierig, ja geradezu unmöglich, aus gelegentlichen Paratyphusbefunden schon auf das Vorliegen dieser Infektionskrankheit zu schließen. Die große Paratyphusgruppe enthält eben anscheinend so verschiedenartige, mit unseren jetzigen Untersuchungsmethoden noch nicht zu differenzierende Vertreter, daß erst das Zusammenwirken vieler Faktoren (Aetiologie, Serumreaktion und Bacillenbefund) uns zu der Diagnose eines Paratyphus berechtigt und die rein parasitäre Natur der Befunde ausschließt.

Um nun auch den Stimmen der Kritik, die den vor uns beobachteten analogen Erscheinungen gegenüber laut wurden, gerecht zu werden, wollen wir noch erwähnen, daß Kutscher (21) die Verwendung von Bouillonkulturen und -verdünnungen [Grünberg und Rolly (4)] wegen der dadurch leicht möglichen Spontanagglutinationen als „Fehlerquelle“ für das Auftreten solcher Atypieen ansieht. Ich glaube jedoch, daß solche Spontanagglutinationen auch bei Agarkulturen und Kochsalzverdünnungen, so wie wir sie stets verwandten, gelegentlich beobachtet werden können, zu Täuschungen jedoch, wenigstens im Großbetriebe, schon wegen der Kontrolle, die man durch andere gleichzeitig angesetzte Serumproben hat, niemals führen können. Eine weitere Forderung Kutschers (21), sowie Korte und Steinbergs (22) geht dahin, bei der Anstellung der Gruber-Widalschen Reaktion beide Bakterienarten bis zu den höchsten noch wirksamen Verdünnungen auszutitrieren. Wengleich wir ja nun auch mit dem Titrieren der betreffenden Seren stets erst aufhörten, sobald das Typhusagglutinin deutlich verschwunden war, so könnte vielleicht doch der Vorwurf erhoben werden, daß wir gewisse Hemmungszonen für die Typhusbacillen dabei außer acht gelassen haben. Nach unseren Erfahrungen liegen solche Hemmungszonen jedoch selten über Konzentrationen von 1:50 und wurden darüber hinaus von Paltauf (24) nur bei künstlich hergestellten, hochwertigen Seris nach längerem Lagern beobachtet.

Es scheint also doch, als ob selbst bei Ausschaltung aller Fehlerquellen, die von uns und vielen anderen beobachteten Atypieen vorkommen können und wir ihre Erklärung besser in der Eigenart mancher Normalseris suchen. Auch Kutscher (24) ist daher der Ansicht, daß die Differentialdiagnose zwischen Typhus und Paratyphus häufig nur durch die Untersuchung einer zweiten Blutprobe bzw. durch den gleichzeitigen Nachweis der spezifischen Erreger im Blut oder Ausleerungen zu erbringen ist. Durch diese Forderung, der wir uns durchaus anschließen, wird aber, wie ich mich oben zu zeigen bemühte, die Spezifität der Gruber-Widalschen Reaktion innerhalb derselben Verwandtschaftsgruppe in keiner Weise erschüttert.

Haben nun obige Betrachtungen lediglich ein wissenschaftliches oder auch ein praktisches Interesse? Schon die viel günstigere Prognose eines Paratyphus läßt es sicherlich nicht unwesentlich erscheinen, ob bakteriologisch die Diagnose eines solchen oder eines echten Typhus

gestellt wird. Dazu kommt noch, daß von jetzt ab der Paratyphus aus der systematischen Typhusbekämpfung im Südwesten des Reichs auscheiden soll. Während also bei der Feststellung eines echten Typhusfalles der kranke Mensch und seine Umgebung der strengsten Isolierung und Desinfektion unterworfen werden, wird die Sanitätsbehörde bei Feststellung eines Paratyphus erst von Fall zu Fall zu entscheiden haben, ob und welche prophylaktischen Maßnahmen zu treffen sind. Es erhellt ohne weiteres aus diesen Betrachtungen, eine wie große praktische Bedeutung die obigen Beobachtungen neuerdings erhalten haben; ich fasse sie daher nochmals zu folgenden Sätzen zusammen:

1) Die Spezifität der Gruber-Widalschen Reaktion gibt innerhalb derselben Verwandtschaftsgruppe von Erregern vorläufig zu Zweifeln keinen Anlaß.

2) Gelegentliche Atypieen beruhen offenbar auf dem Vorhandensein von vorgebildeten Agglutininen in manchen Seris, die teils als Normal-, teils als Immunagglutinine aufzufassen sind.

3) Es ist deshalb häufig unmöglich, auf Grund einer einmaligen Serumuntersuchung die Differentialdiagnose zwischen Typhus und Paratyphus zu stellen.

4) Die gelegentliche Feststellung eines hohen Agglutinationstiters im menschlichen Blutserum für Paratyphusbacillen beweist ebensowenig wie der gelegentliche Befund dieser Bakterien in den Faeces, daß die etwa vorhandenen Krankheitssymptome auf eine Infektion mit Paratyphusbacillen zurückzuführen sind.

5) Bei einer Infektion mit den für den Menschen virulenten Paratyphusstämmen ist neben dem Bacillenbefund fast regelmäßig der positive Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion festzustellen.

6) Auch die parasitären Vertreter der Paratyphusgruppe scheinen zuweilen zur Bildung spezifischer Agglutinine im Serum zu führen, doch konnten diese bisher niemals gleichzeitig mit homologen Bacillenbefunden beobachtet werden.

Literatur.

- 1) Krencker, Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 20. p. 1016.
- 2) Protok. d. Leiter-Konferenz der südwestdeutschen Typhusstationen Okt. 1909.
- 3) Jürgens, Zeitschr. f. Hyg. 1903. No. 43. u. Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 34.
- 4) Grünberg und Rolly, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 3.
- 5) v. Drigalski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
- 6) Zupnik, Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 44.
- 7) Brion, Sitzungsber. d. Unterelsäss. Aerzterver. Straßburg. — Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 22.
- 8) Falta u. Noeggerath, Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 83. 1905.
- 9) Manteufel, Münchn. med. Wochenschr. 1902. No. 21.
- 10) Posselt u. Sagasser, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 24.
- 11) Stern, } zitiert nach Paltauf u. d. Arbeit: Die Agglutination im Handb. d.
- 12) Köhler, } pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Bd. 4. Teil I.
- 13) Jatta, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900.
- 14) Paltauf, Die Agglutination. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Bd. 4. Teil I. p. 671.)
- 15) Pfaundler, Jahrb. f. Kinderheilkunde. Bd. 50. p. 295.
- 16) Conradi, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 2.
- 17) Hübner, Dtsche med. Wochenschr. 1908. p. 1044.
- 18) Rimpau, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 30. 1909. Heft 2.
- 19) Fornet, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 25. 1907. Heft 1. p. 247.

- 20) Gaehtgens, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 24. 1906. Heft 2 u. Zentralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906.
 21) Kutscher, Arbeiten über Abdominaltyphus. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Ergänzungsband. Heft 1. p. 267.)
 22) Korte u. Sternberg, Münchn. med. Wochenschr. 1905 No. 21.
 23) Paltauf, Die Agglutination. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Bd. 4. Teil I. p. 660.)
 24) Kutscher, Abdominaltyphus. (Handbuch von Kolle-Wassermann. [1 u. 21.] p. 262 u. 268.)

Nachdruck verboten.

Die Gruber-Widalsche Reaktion bei klinisch Gesunden in der Umgebung Typhuskranker.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der hyg.-chem. Untersuchungsstelle
beim Sanitätsamt X. Armeekorps in Hannover
(Vorstand: Stabsarzt Prof. Dr. Otto).]

Von Stabsarzt Dr. **Dennemark** in Braunschweig,
s. Zt. kommandiert zur Abteilung.

Mit 4 Temperaturkurven.

Im Sommer 1909 wurde das X. Armeekorps von einer Typhus-epidemie heimgesucht, die leicht größeren Umfang hätte annehmen können, durch rechtzeitige und energische Maßnahmen aber mit Erfolg bekämpft wurde. Der Verlauf dieser interessanten Epidemie wurde bereits von Generalarzt Dr. Hecker und Stabsarzt Prof. Dr. Otto in der militärärztl. Zeitschr.¹⁾ eingehend geschildert, so daß es sich hier erübrigt, eine Beschreibung der Epidemie zu geben. Nur einige wenige Angaben seien der Wiedergabe der bakteriologischen Ergebnisse dieser Epidemie kurz vorausgeschickt.

In ätiologischer Beziehung war bemerkenswert, daß die Infektion in Hannover während der dort alle Jahre stattfindenden Krankenträgerübung, zu der fast alle Garnisonen des Armeekorps Mannschaften entsenden, erfolgte, die Erkrankungen aber außer in Hannover noch in Celle, Hildesheim, Oldenburg, Hameln und Munsterlager auftraten. Da sofort festgestellt wurde, daß die Erkrankten an der kurz zuvor beendigten Krankenträgerübung teilgenommen hatten, so mußte man für alle diese Fälle eine gemeinschaftliche Infektion annehmen und dementsprechende Maßnahmen ergreifen. Es wurden daher nicht nur die Krankenträger, die an der Übung in Hannover teilgenommen hatten, sondern auch die Stubenkameraden der Erkrankten, die mit diesen auf einer Stube lagen, einer Isolierung und genauen Beobachtung unterzogen.

Nach Ausschließung von anderen Möglichkeiten mußte angenommen werden, daß die Infektion in der Küche des Kasernements, in dem die Krankenträger untergebracht waren, erfolgt war. Es gelang nämlich, dort eine Bacillenträgerin festzustellen, die vor 36 Jahren einen Typhus überstanden hatte. Die fünfmal bei ihr in verschiedenen Zeitabständen ausgeführten Gruber-Widalschen Reaktionen hatten jedesmal ein positives Ergebnis, und zwar war der Endtiter der Agglutination stets gleichmäßig 1:200. In ihrem Stuhl gelang es zweimal, Typhusbacillen nachzuweisen. Leider ließen sich die Stuhluntersuchungen nicht länger fortsetzen, da diese Frau die Materialabgabe später verweigerte.

Jahrg. 1909. Heft 22.

Mit großer Wahrscheinlichkeit konnte angenommen werden, daß die Infektion durch einen Kartoffelsalat, bei dessen Zubereitung die Bacillenträgerin, die sonst nur als Schälfräule mit ungekochten Kartoffeln hantierte, nachgewiesenermaßen aushilfsweise mitgewirkt hat, vermittelt wurde. Auf Einzelheiten soll hier nicht näher eingegangen werden, vielmehr nur die Tatsache hervorgehoben werden, daß die Auffindung der Bacillenträgerin durch die Gruber-Widalsche Reaktion eingeleitet wurde, und daß später durch dieselbe Reaktion weitere interessante Beobachtungen über die Verbreitung des Infektionskeimes während der Epidemie ermöglicht wurden.

Es erkrankten infolge der ersten Infektion 21, infolge von Kontakt 6 Mannschaften, zusammen also 27. Von diesen klinischen Fällen ist einer gestorben, einige Fälle verliefen schwer, die Mehrzahl mußte als mittelschwere und einzelne als sehr leichte Erkrankungen bezeichnet werden. Gerade diese letzteren Fälle sowie die später noch näher zu erwähnende Tatsache, daß bei völlig gesunden Leuten Typhusbacillen im Stuhl gefunden wurden, machten es sehr wahrscheinlich, daß außer den klinisch Erkrankten noch ein gewisser Prozentsatz mit Typhus infiziert worden war, ohne daß wahrnehmbare klinische Erscheinungen aufgetreten waren. Die Feststellung dieser Leute war von außerordentlicher Wichtigkeit, da hierdurch die weiteren Bekämpfungsmaßnahmen wesentlich beeinflußt werden mußten. Doch nicht nur aus diesem praktischen Grunde schien diese nachträgliche Feststellung erfolgter Infektionen geboten, sondern auch aus rein wissenschaftlichem Interesse. Denn es ließ sich in unserem Falle mit Leichtigkeit feststellen, welche Mannschaften einer Infektion ausgesetzt gewesen sein konnten. Es waren dies sowohl die Krankenträger, die an der Uebung in Hannover teilgenommen hatten, als auch die Stubenkameraden, mit denen sie in nähere Berührung gekommen waren. Man hatte es also mit einer genau bestimmbaren Anzahl Verdächtiger zu tun, war demgemäß in der Lage, einen genauen Prozentsatz der Infektionen zu berechnen. Allerdings waren es hier insgesamt 479 Mannschaften, davon 319 Krankenträger und 160 Stubenkameraden, gewiß eine große Zahl, wenn man bedenkt, daß, um einigermaßen günstige und gleichwertige Resultate zu erhalten, diese Massenuntersuchungen möglichst zu gleichen Zeiten oder wenigstens in kurzen Zwischenräumen ausgeführt werden mußten. Trotz der großen Anzahl ließ sich eine Isolierung und Ueberwachung leicht und sicher durchführen, da die zu beobachtenden Mannschaften sich nicht an einem gemeinsamen Orte befanden, sondern sich auf 6 Garnisonen verteilten.

Zwecks nachträglicher Feststellung von entweder bereits abgelaufenen oder zwar noch bestehenden, aber ohne klinische Erscheinungen verlaufenden Infektionen wurden in jedem Falle mehrfache Stuhl- und Urinuntersuchungen vorgenommen, stets aber außerdem das Serum auf das Agglutinationsvermögen (Gruber-Widalsche Reaktion) geprüft. Es wurde dies für erforderlich gehalten, einmal weil die Stuhl- und Urinuntersuchungen nur unsichere Resultate liefern, da die Bacillen meist periodisch ausgeschieden werden¹⁾ und die Stuhluntersuchungsmethoden nicht sehr zuverlässig sind, ein negatives Ergebnis also keine Gewähr bot, daß eine Infektion nicht trotzdem stattgefunden hatte. Andererseits konnte man nach den allgemeinen Erfahrungen erwarten,

1) Simon u. Dennemark, Dtsche militärärztl. Zeitschr. 1907, und Scheller, Centralbl. f. Bakt. Ref. 1909.

daß die Agglutinationsbestimmung des Serums mit größerer Sicherheit Aufschluß über stattgehabte Infektionen geben konnte. Es wurde die Agglutinationsprobe benutzt und nicht die Bestimmung anderer Antikörper, wie Bakteriolyse, Opsonine, Komplementablenkung, da diese Reaktion sehr viel einfacher, schneller und bequemer besonders bei Massenuntersuchungen auszuführen ist, ohne den anderen Verfahren, soweit bis jetzt bekannt, an Zuverlässigkeit wesentlich nachzustehen¹⁾.

Ausgeführt wurde die Gruber-Widalsche Reaktion nach der Kolleschen Vorschrift, und zwar folgendermaßen: Es wurden stets die Verdünnungen im Reagensglase angesetzt, und zwar 1:50, 1:100 und 1:200 je 1 ccm. Durch scharfes Zentrifugieren wurde das verdünnte Serum von den Blutkörperchen befreit. Vor Ansetzen der Proben wurde jedesmal mit der Lupe festgestellt, daß sämtliche Blutkörperchen entfernt waren, damit nicht durch dieselben bei makroskopischer Betrachtung eine Agglutination vorgetäuscht würde. In diese klaren Verdünnungen wurde je 1 Normalöse frischer, 20-stündiger Typhus- bzw. Paratyphus B-Kultur sorgfältig verrieben. Die Kulturen wurden stets auf ihre Reinheit und Echtheit geprüft durch Ansetzen von Testkulturen (Lackmusmolke, Bouillon, Zuckeragar), durch Austitrieren bis zum Endtiter des Typhus-Kaninchenserums, durch Kontrolle mit Normalserum und physiologischer Kochsalzlösung, sowie durch mikroskopische Kontrolle im hängenden Tropfen. Die angesetzten Proben wurden ca. 1 Stunde lang einer Brüttemperatur von 37° ausgesetzt, die endgültige Beurteilung erfolgte jedoch erst nach ca. 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur²⁾. Hierbei zeigte es sich, daß bei den positiven Reaktionen etwa ein Drittel aller bereits nach dem 1-stündigen Aufenthalt in Brüttemperatur ein sicheres positives Ergebnis lieferte, und daß bei den übrigen aber erst am nächsten Tage, also nach 24 Stunden, die Reaktion deutlich positiv ausfiel. Bei der großen Mehrzahl dieser letzteren positiven Reaktionen war jedoch eine geringe Andeutung von Agglutination bereits nach 1 Stunde Brüttemperatur meist nur in der Verdünnung 1:50 erkennbar, doch war diese Erscheinung zu gering, um daraus schon ein positives Resultat zu folgern. In allen Fällen, in denen diese leichte Andeutung gerade erkennbar war, trat auch die positive Reaktion vollständig innerhalb 24 Stunden auf. Schlüsse auf die Höhe des Titers ließen sich jedoch aus dieser langsam sich entwickelnden Agglutination nicht ziehen, da sowohl Titer von 1:50 wie 1:100 und 1:200 beobachtet werden konnten. Nur in wenigen Fällen fehlte diese Andeutung, obwohl nach 24 Stunden deutliche Agglutination bis 1:200 nachweisbar war.

Die Beurteilung der Proben erfolgte stets nur makroskopisch durch Betrachten des Röhrchens in schräger Lage von unten her³⁾ event. unter Zuhilfenahme einer schwachen Lupe. War unter solchen Voraussetzungen deutliche Häufchenbildung sichtbar, dann wurde die Reaktion als positiv bezeichnet. Doch wurden diese positiven Befunde ständig noch mikroskopisch (schwache Vergrößerung) kontrolliert.

Obwohl im allgemeinen der positive Ausfall der Reaktion in einer Verdünnung von 1:100 als beweisend angesehen wird, haben wir stets trotz der großen Zahl der Untersuchungen noch die Verdünnung 1:200 angesetzt. Wurde dieser Titer bei der ersten Untersuchung nicht er-

1) Nach Gaetgens (Dtsche med. Wochenschr. 1909) sollen allerdings die Opsonine den Vorzug verdienen.

2) Kutscher, Kulle-Wassermann. I. Ergzbd.

3) Hetsch, Die Grundlagen der Serumdiagnostik. 1904.

reicht, so wurden die Untersuchungen so oft wiederholt, bis er erreicht wurde oder bis es sich erwies, daß der Höchstitter des zu prüfenden Serums unter 1:200 bezw. dauernd negativ geblieben war.

Es scheint nach unseren Untersuchungen bis zu einem gewissen Grade ein Unterschied zu bestehen in dem Zeitpunkte des Eintritts der Agglutination bei klinisch Erkrankten und bei Gesunden. Denn im allgemeinen ist die Agglutination bei Erkrankten nach ziemlich kurzer Zeit (ca. 2 Stunden Brüttemperatur) beendet oder sie tritt überhaupt nicht ein. Eine Nachagglutination kommt hier zwar zuweilen ebenfalls vor, doch ist dies gewöhnlich nur im Anfange der Erkrankung der Fall, wenn der Titer des Serums noch nicht sehr hoch ist. Wiederholt man aber in solchem Falle nach wenigen Tagen die Probe, dann wird bei Steigerung des Titers die Reaktion schnell, meist sogar nach ganz kurzer Zeit vorhanden sein. Anders verliefen die Reaktionen bei dem größten Teil der untersuchten Gesunden mit positivem Resultat. Hier trat die Agglutination auch bei den Wiederholungen nur langsam ein, obwohl der Titer in vielen Fällen in der Zwischenzeit eine wesentliche Steigerung erfahren hatte, ein schnelleres Auftreten des positiven Resultates also eigentlich zu erwarten war. Diese Erscheinung ist nicht als ein Fehler der Gruber-Widalschen Reaktion selbst aufzufassen oder auf ein fehlerhaftes Ansetzen derselben zurückzuführen. Dagegen spricht einerseits das prompte Auftreten derselben unter denselben Bedingungen (gleiche Temperatureinflüsse, gleiche Verdünnungsflüssigkeiten und gleiches Bakterienmaterial), andererseits aber ebenfalls unter denselben Bedingungen der negative Ausfall in der überwiegenden Mehrheit der Untersuchungen trotz des langen Stehenlassens. In unserem Falle, in dem eine größere Anzahl klinisch und bakteriologisch sicherer Typhusinfektionen erfolgt war, und in dem daher der positive Ausfall der Reaktion auch bei Gesunden auf eine Typhusinfektion schließen läßt, muß ein solcher Ausfall als charakteristisch bezeichnet werden. Es folgt aus dieser Tatsache, daß man die Gruber-Widalsche Reaktion, die bei Gesunden in der Umgebung von Typhuskranken vorgenommen werden soll, nicht zu früh, vielmehr, falls ein positives Resultat nach etwa 1-stündigem Aussetzen der Brüttemperatur nicht eingetreten ist, erst nach Ablauf von 24 Stunden, bei Zimmertemperatur gehalten, beurteilen soll.

Bemerkenswert ist, daß das Ansetzen der Verdünnungen mit Paratyphus B sonst stets ein negatives Ergebnis zeitigte. Nur selten wurde eine schwache Mitagglutination bis 1:50 beobachtet.

Das Ergebnis der einzelnen Untersuchungen bei den Krankenträgern ist in Tabelle I zusammengestellt.

Diese einzelnen Resultate der Tabelle I sind in Tabelle II zusammengefaßt und übersichtlich veranschaulicht.

Die übrigen 238 Blutproben von Krankenträgern hatten ein negatives Resultat.

Ebenso wie die Krankenträger wurden auch die Stubenkameraden der Erkrankten untersucht. Eine Uebersicht über diese Untersuchungsergebnisse gibt Tabelle III.

Eine Zusammenfassung dieser Resultate ergibt Tabelle IV:

Bei den übrigen 116 Stubenkameraden verlief die Reaktion stets negativ.

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß bei 33 Fällen eine Steigerung der Reaktionen eintrat, bei 58 Fällen die Reaktion auf derselben

Tabelle I.

Lfd. No.	Dienstgrad	Name	Truppenteil	Garnison bzw. Ort der Feststellung	Tag der Blutentnahme		
					ca. 20. Juli	ca. 19. Aug.	ca. 2. Sept.
1	Musk.	H.	8/164	Hameln	1:100 +	negativ	
2	Gefr.	S.	5/164	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
3	Musk.	K.	1/164	"	1:100 +	1:200 +	
4	Gefr.	B.	2/164	"	1:100 +	1:200 +	
5	Musk.	S.	4/164	"	1:100 +	1:200 +	
6	Vizefeldw.	H.	8/164	"	1:200 +		
7	San.-Serg.	P.	6/164	"	1:200 +		
8	Gefr.	K.	3/164	"	1:200 +		
9	Musk.	Sch.	"	"	1:200 +		
10	"	Sch.	1/164	"	1:200 +		
11	"	L.	2/164	"	1:200 +		
12	"	St.	2/77	Celle	1:50 +	1:100 +	1:100 +
13	Gefr.	On.	1/77	"	1:50 +	1:100 +	1:100 +
14	Musk.	Z.	11/77	"	1:200 +	1:200 +	1:200 +
15	"	E.	10/78	Munsterlager	negativ	1:100 +	1:200 +
16	Gefr.	E.	6/78	"	"	1:200 +	
17	Musk.	K.	2/78	"	"	1:200 +	
18	Gefr.	Sch.	3/78	"	"	1:200 +	
19	Serg.	R.	4/78	"	"	1:200 +	
20	San.-Serg.	St.	8/78	"	"	1:200 +	
21	Gefr.	T.	11/78	"	1:50 +	1:200 +	
22	Musk.	J.	9/78	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
23	"	N.	8/78	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
24	"	H.	9/78	"	1:100 +	negativ	
25	"	O.	1/78	"	1:200 +		
26	"	K.	3/78	"	1:200 +		
27	"	G.	7/78	"	1:200 +		
28	"	Schr.	5/78	"	1:200 +		
29	"	St.	6/78	"	1:200 +		
30	"	U.	2/91	"	negativ	1:100 +	1:200 +
31	"	K.	4/91	"	"	1:200 +	
32	"	P.	"	"	"	1:200 +	
33	"	R.	6/91	"	"	1:200 +	
34	"	F.	"	"	"	1:200 +	
35	"	B.	5/91	"	1:50 +	1:100 +	negativ
36	"	B.	8/91	"	1:200 +		
37	"	K.	1/91	"	1:200 +		
38	"	W.	7/91	"	1:200 +		
39	Unteroff.	F.	2/91	"	1:200 +		
40	Musk.	H.	11/91	"	1:200 +		
41	Serg.	K.	"	Oldenburg	1:100 +	1:100 +	1:200 +
42	Musk.	E.	5/91	"	1:100 +	1:200 +	
43	Unteroff.	A.	"	"	1:200 +		
44	Musk.	B.	2/91	"	1:200 +		
45	"	N.	10/79	Hildesheim	1:50 +	negativ	
46	"	S.	12/79	"	negativ	1:100 +	1:200 +
47	"	N.	6/79	"	1:100 +	negativ	
48	"	K.	11/79	"	negativ	1:50 +	negativ
49	"	R.	3/79	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
50	"	F.	"	"	1:100 +	1:200 +	
51	"	K.	6/79	"	1:200 +		
52	San.-Vizefeldw.	H.	9/79	"	1:200 +		
53	Musk.	P.	12/79	"	1:200 +		
54	Füs.	S.	11/73	Hannover	1:200 +		
55	"	L.	6/73	"	1:200 +		
56	"	B.	1/78	"	1:200 +		
57	Trains.	W.	Tr. 10	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
58	"	B.	"	"	1:200 +		
59	Musk.	G.	9/92	Braunschweig	1:100 +	1:200 +	

Tabelle II.

Zahl der Proben	Tag der Blutentnahme		
	ca. 20. Juli 09	ca. 19. Aug. 09	ca. 2. Sept. 09
1	negativ	1:50 +	negativ
1	"	1:100 +	1:100 +
3	"	1:100 +	1:200 +
10	"	1:200 +	
1	1:50 +	negativ	negativ
1	1:50 +	1:100 +	1:100 +
1	1:50 +	1:200 +	
3	1:100 +	negativ	
5	1:100 +	1:100 +	1:100 +
1	1:100 +	1:100 +	1:200 +
5	1:100 +	1:200 +	
27	1:200 +		
Sa. 59			

Tabelle III.

Lfd. No.	Dienst-grad	Name	Truppenteil	Garnison bzw. Ort der Fest-stellung	Tag der Blutentnahme		
					ca. 6. Aug.	ca. 19. Aug.	ca. 2. Sept.
1	Musk.	N.	7/164	Hameln	1:50 +	1:50 +	
2	"	L.	"	"	1:50 +	1:200 +	
3	"	R.	2/164	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
4	"	B.	"	"	1:100 +	1:200 +	
5	"	U.	"	"	1:200 +		
6	"	H.	"	"	1:200 +		
7	"	B.	"	"	1:200 +		
8	"	B.	6/164	"	1:200 +		
9	"	S.	"	"	1:200 +		
10	"	K.	"	"	1:200 +		
11	"	K.	8/164	"	1:200 +		
12	"	L.	"	"	1:200 +		
13	"	U.	"	"	1:200 +		
14	"	R.	2/77	Celle	1:50 +	1:50 +	1:100 +
15	"	D.	"	"	1:50 +	1:200 +	
16	"	B.	5/77	"	1:100 +	negativ	
17	"	W.	"	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
18	"	P.	9/77	"	1:100 +	1:200 +	
19	"	W.	2/77	"	1:200 +		
20	"	St.	5/77	"	1:200 +		
21	"	C.	9/77	"	1:200 +		
22	"	B.	"	"	1:200 +		
23	"	P.	5/77	"	1:200 +		
24	"	T.	"	"	1:200 +		
25	"	H.	"	"	1:200 +		
26	"	B.	"	"	1:200 +		
27	"	U.	1/77	"	1:200 +		
28	"	L.	2/78	Osnabrück	1:200 +		
29	"	L.	"	"	1:200 +		
30	"	K.	2/79	"	1:200 +		
31	"	B.	"	"	1:200 +		
32	"	U.	8/79	"	1:100 +	1:50 +	
33	Bäcker	J.	Proviantamt	Hannover	1:100 +	1:200 +	
34	"	P.	"	"	1:100 +	1:200 +	
35	"	S.	"	"	1:50 +	1:200 +	
36	"	K.	"	"	negativ	1:50 +	1:100 +
37	Musk.	B.	8/77	Munsterlager	1:100 +	1:50 +	
38	"	T.	6/Art. 10	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +
39	"	K.	8/79	"	1:100 +	1:100 +	1:100 +

Tabelle IV.

Zahl der Proben	Tag der Blutentnahme		
	ca. 6. Aug. 09	ca. 19. Aug. 09	ca. 2. Sept. 09
1	negativ	1:50 +	1:100 +
2	1:50 +	1:50 +	1:50 +
1	1:50 +	1:50 +	1:100 +
3	1:50 +	1:200 +	
1	1:100 +	negativ	
2	1:100 +	1:50 +	1:50 +
4	1:100 +	1:100 +	1:100 +
4	1:100 +	1:200 +	
21	1:200 +		
Sa. 39			

Höhe blieb, daß bei 2 Fällen der Agglutinationstiter kleiner wurde und daß schließlich bei 5 Fällen teilweise nach einer anfänglichen Steigerung die Reaktion wieder vollständig verschwand, und zwar nach ca. 11 bis 20 Tagen nach dem ersten positiven Ergebnis. Eine längere Beobachtung und häufigere Untersuchung ließen sich leider nicht ausführen, da die Mannschaften wegen der beginnenden größeren Übungen und der sich daran anschließenden Entlassung zur Materialentnahme nicht mehr zur Verfügung standen.

Ein Blick auf die Resultate der Untersuchungen bei den Krankenträgern (Tabelle II), also bei denjenigen Mannschaften, die der primären gemeinschaftlichen Infektion ausgesetzt waren, zeigt, daß man hier zwei verschiedene Stadien zu unterscheiden hat. Einmal 35 Fälle, deren Gruber-Widalsche Reaktion gleich bei der ersten Untersuchung auf einem Höhestadium angelangt war, und solche, bei denen die Reaktion anfangs negativ bzw. gering positiv und noch im Steigen begriffen war. Die erstere Art wird zweifellos auf die erste allgemeine Infektion in Hannover zurückzuführen sein, während es bei der zweiten wahrscheinlicher erscheint, daß Kontaktfälle durch die Ersterkrankungen vorliegen, wenn auch bei der überaus schwankenden Inkubationszeit ein gegen die übrigen Fälle verspätetes Auftreten der Reaktion nicht auszuschließen ist. Bei den wenigen Fällen, bei denen die Reaktion nur in der Verdünnung 1:50 positiv war und kurze Zeit darauf sogar ganz verschwand, kann wohl angenommen werden, daß vorübergehend das Serum einen höheren Titer gezeigt hat, aber schneller als bei den übrigen wieder verschwunden ist.

Man sieht aus diesen Tabellen auch, daß man sich bei den Umgebungsuntersuchungen mit dem einmaligen Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion nicht zufrieden geben darf, sondern daß man stets nach einiger Zeit die Reaktion wiederholen soll, da in 16 Fällen anfangs ein negatives Ergebnis zu verzeichnen war, bei der 2. bzw. 3. Untersuchung aber die Reaktion in der Verdünnung 1:100 bzw. 1:200 positiv verlief.

Unsere Untersuchungen haben somit ergeben, daß von 319 Mannschaften, die zur Krankenträgerübung kommandiert waren, 22 klinisch erkrankten und dabei positive Widalsche Reaktion aufwiesen, und daß bei weiteren 59 Gesunden die Widalsche Reaktion positiv ausfiel, ohne daß klinische Erscheinungen beobachtet waren. Von 160 Stubenkameraden erkrankten unter klinischen Erscheinungen 5 mit positiver Reaktion, während bei 39 Gesunden ebenfalls eine positive Reaktion festgestellt werden konnte. Die klinischen Fälle eingerechnet, verlief

also die Gruber-Widalsche Reaktion bei den Krankenträgern in 25,5 Proz. der Fälle positiv, bei den Stubenkameraden in 27 Proz. Es ist dies eine sehr auffallende Erscheinung, da scheinbar mehr Kontaktfälle als primäre Erkrankungsfälle verursacht worden sind. Doch erhalten wir ein anderes Resultat, wenn wir diejenigen 90 Mannschaften nicht in Betracht ziehen, die an dem gemeinschaftlichen Essen in der Kaserne nicht teilgenommen haben, der angenommenen Infektionsquelle also auch nicht ausgesetzt gewesen sind. Unter dieser Voraussetzung weisen 34,5 Proz. der Krankenträger, die einer gemeinsamen Infektionsquelle gleichzeitig ausgesetzt waren, eine positive Gruber-Widalsche Reaktion auf.

Daß das Serum dieser positiv reagierenden gesunden Leute nicht etwa ständig, unabhängig von einer Infektion, Typhusbacillen agglutiniert, beweist die oben mitgeteilte Tabelle der Reaktionen. Denn in sehr vielen Fällen zeigten sich im Agglutinationstiter starke Schwankungen je nach der Zeit entweder durch Ansteigen oder durch Abfallen. Der sicherste Beweis für die Brauchbarkeit der Gruber-Widalschen Reaktion wurde überdies noch dadurch erbracht, daß es gelungen ist, in 3 Fällen bei völlig gesunden Leuten Typhusbacillen im Stuhl nachzuweisen. Außerdem mußte ein Fall, der nicht die klinischen Erscheinungen des Typhus bot, sondern nur die eines ganz leichten Magenkatarrhs, wegen des positiven Bacillenbefundes im Stuhl als klinisch erkrankt gerechnet werden. Auch in diesem Falle war die Widalsche Reaktion positiv.

Nimmt man nun an, daß von den Erkrankungen der Krankenträger 21, von den positiven Gruber-Widalschen Reaktionen 35 auf die gemeinschaftliche Infektion zurückzuführen sind, so ergibt sich, daß auf die übrigen Krankenträger und Stubenkameraden insgesamt 6 Erkrankungen und 63 positive Gruber-Widalsche Reaktionen entfallen. Es sind also im ganzen 69 Kontaktinfektionen verursacht worden. Es ist dies eine außerordentlich große Zahl, die den Schluß rechtfertigt, daß gerade in der ersten Zeit der Inkubation zahlreich Bacillen verbreitet worden sind. Conradi¹⁾ hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß Typhusinfektionen häufig im Inkubations- und im Initialstadium gesetzt werden. Unsere Resultate bestätigen diese Beobachtung vollkommen. Daß nur in 4 Fällen Typhusbacillen gefunden wurden, spricht nicht dagegen, da durch die immerhin unvollkommene Stuhluntersuchungsmethode nur wenig Material untersucht werden kann, und weil die Ausscheidung von Typhusbacillen nicht mit jedem Stuhl, sondern meist nur periodisch erfolgt. Da diese Stuhl- und Urinuntersuchungen bei Gesunden zudem im vollen Umfange erst verhältnismäßig spät wegen wichtigerer anderer Untersuchungen systematisch — es wurden stets fünfmal Stuhl und Urin untersucht — ausgeführt werden konnten, die Infektionen also auch im bakteriologischen Sinne bereits zum größten Teile abgelaufen waren, als diese Untersuchungen begannen, so ist dieser viermalige positive Bacillenbefund unter diesen Verhältnissen sogar als ein sehr reichliches Ergebnis zu betrachten. Bei zwei von diesen Bacillenausscheidern handelt es sich augenscheinlich um Spätkontakte, da ihre Gruber-Widalsche Reaktion anfangs negativ war und erst später positiv wurde. Die beiden anderen scheinen eine längere „bakteriologische Rekonvaleszenz“ durchgemacht zu haben, ehe sie ihre Bacillen wieder verloren.

1) Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 41.

In diesen 4 Fällen konnte also objektiv der Nachweis erbracht werden, daß Typhusbacillen tatsächlich verbreitet worden sind. Mit Fug und Recht können wir aber annehmen, daß auch der eine und der andere der positiv reagierenden Leute Bacillen ausgeschieden hat, und zwar sowohl von den Krankenträgern wie von den Stubenkameraden. Die klinisch Erkrankten werden wohl auch zum Teil dazu beigetragen haben, den Krankheitskeim zu verbreiten, doch wurde dieser Gefahr durch Isolierung im Lazarett bald ein Ziel gesetzt. Anders aber bei den nur bakteriologisch Infizierten, die, wie wenigstens bei 2 Fällen festgestellt, höchstwahrscheinlich auf längere Zeit hin Typhusbacillen zu verbreiten in der Lage waren. Die beiden anderen positiven Bacillenfunde sprechen für Verbreitung des Ansteckungsstoffes im „Initialstadium“, da bei ihnen die Gruber-Widalsche Reaktion anfangs negativ war und erst nach der Bacillenausscheidung positiv wurde.

Da man annehmen muß, daß jeder einzelne Fall von positiver Gruber-Widalscher Reaktion eine wirkliche Typhusinfektion darstellt, so ist diese große Zahl von Kontaktfällen zum Teil wohl auf die Zerstreuung von Typhuskeimen durch die serologisch positiv reagierenden Gesunden zurückzuführen. Aus dieser Betrachtung ziehen wir den notwendigen allgemeingültigen Schluß, daß die Verbreitung des Infektionsstoffes nicht nur durch klinisch Kranke besonders im Initialstadium erfolgt, sondern auch zum Teil durch vorübergehend Bacillen ausscheidende Gesunde mit positiver Gruber-Widalscher Reaktion.

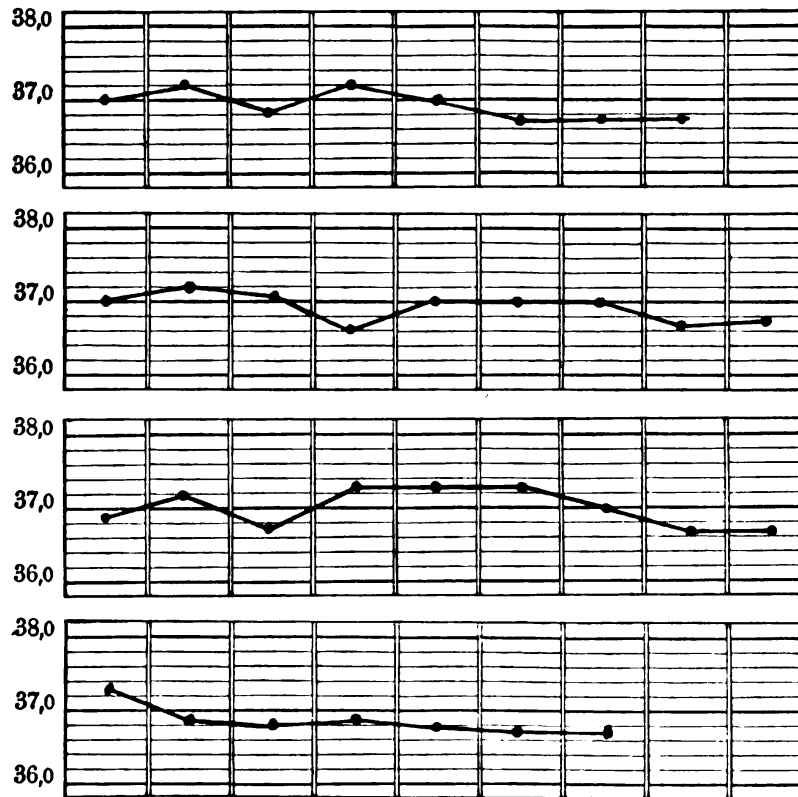
Zur Kontrolle wurden zahlreiche Blutuntersuchungen bei völlig unverdächtigen Personen (ca. 150 Mannschaften und ca. 100 Frauen, die in den Küchen beschäftigt wurden) ausgeführt. Bei den Mannschaften wurde zweimal ein positives Resultat erzielt, je einmal in der Verdünnung 1:50 und 1:200. Bei diesen beiden Leuten ließ sich kein Zusammenhang mit einer typhösen Infektion feststellen. Außerdem wurde bei einem dritten Mann eine positive Reaktion in der Verdünnung 1:200 gefunden, doch lag in diesem Falle eine Typhusinfektion sehr nahe, da er kurz vorher in seine Heimat (Alfeld) beurlaubt war, in der eine größere Typhusepidemie herrschte. Bei dem weiblichen Küchen- und Kantinenpersonal wurde zweimal eine positive Gruber-Widalsche Reaktion, und zwar je einmal in der Verdünnung 1:50 und 1:100 beobachtet. Irgendwelche Anhaltspunkte für einen früher überstandenen Typhus waren nicht vorhanden. Bei allen diesen positiv reagierenden Personen wurden mehrfache Stuhl- und Urinuntersuchungen ausgeführt, die sämtlich ein negatives Ergebnis hatten.

Wir sehen also, daß bei den Leuten, die einer Infektion, sei es durch die allgemeine Infektionsquelle, sei es durch Kontakt, ausgesetzt waren, zahlreiche positive Gruber-Widalsche Reaktionen aufgetreten sind, daß dagegen bei anscheinend völlig Unverdächtigen die Zahl der positiven Resultate verschwindend gering ist. Die Zuverlässigkeit der Gruber-Widalschen Reaktion zur retrospektiven Diagnose wird hierdurch aufs neue vollkommen bestätigt. Diese Erkenntnis legt uns die dringende Mahnung auf, jeden positiven Ausfall derselben bei Leuten in der Umgebung von Typhuskranken oder bei solchen, bei denen sonst der Verdacht einer Infektion vorliegt, als eine bestehende oder kurz überstandene Typhusinfektion aufzufassen und dementsprechende Maßnahmen zu treffen.

Interessant ist noch die Tatsache, daß die 98 Mannschaften mit positiver Gruber-Widalscher Reaktion nicht die geringsten klinischen Erscheinungen boten. Sie standen unter ständiger ärztlicher Kontrolle, ihre Körpertemperatur wurde täglich mehrmals gemessen, ohne daß je die geringste Erhöhung beobachtet wurde. Auch Anzeichen von kleinstem Unwohlsein, wie Kopfschmerzen usw., fehlten vollständig. Es ist dies etwas auffallend, da meist solche Fälle mit einem wenn auch ganz geringen Unwohlsein oder ganz leichten Temperaturerhöhungen verbunden zu sein pflegen. Gelegentlich einer größeren Typhusepidemie in Ehrenbreitstein machte ich bei Mannschaften des Trainbataillons No. 8 die Erfahrung, daß bei Leuten, die sich vollkommen gesund fühlten, bei denen jedoch die Körpertemperatur nur wenig über 37° stieg, fast stets eine positive Gruber-Widalsche Reaktion zu erzielen war. Wenn man bedenkt, daß solche geringen Erhöhungen der Körperwärme besonders während der heißen Jahreszeit oft zu verzeichnen sind, so ist es um so auffallender, daß gerade bei diesen Leuten die Untersuchung prompt ein positives Resultat lieferte, ein weiterer Beweis für die Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit der Gruber-Widalschen Reaktion. Wie gering und teilweise kurz anhaltend diese Temperaturanstiege waren, ist aus den folgenden Temperaturkurven leicht ersichtlich.

Auch solche noch so leichte Temperaturanstiege konnten in unserem Falle selbst nicht bei denjenigen Mannschaften beobachtet werden, in deren Stuhl Typhusbacillen nachgewiesen wurden.

Aus vorstehenden Ausführungen geht zur Genüge hervor, daß die Gruber-Widalsche Agglutinationsprobe zur nachträglichen Feststellung überstandener Typhusinfektionen als eine Hervorragendes leistende, zuverlässige Reaktion sich erwiesen hat. Liegt bei sonst Gesunden die Möglichkeit einer Infektion mit Typhus vor, so dürfte ihr positiver Ausfall als die Infektion bzw. das Ueberstehen derselben beweisend anzusehen sein. Diese äußerst zuverlässige Be-



weiskraft läßt sich nach unseren Untersuchungen aus folgenden Tatsachen herleiten:

1) Nur die Mannschaften, die einer Typhusinfektion ausgesetzt waren, zeigten in einem hohen Prozentsatze deutliche positive Reaktion.

2) 250 bei völlig Unverdächtigen ausgeführte Untersuchungen verliefen mit wenigen Ausnahmen vollständig negativ.

3) Bei vorhandener positiver Reaktion ließen sich in 4 Fällen Typhusbacillen nachweisen.

Nachdruck verboten.

Berichtigung zu unserer Arbeit: „Vergleichende Untersuchungen über einige neuere Typhusnährböden und Erfahrungen über den Wert der Agglutination, Blutkultur und Stuhlzüchtung für die Diagnose des Abdominaltyphus“.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie zu Straßburg i. E.]

Von Dr. **Walter Gaegtens** und Dr. **Georg Brückner**.

In unserer Arbeit (diese Zeitschr. Bd. 53. H. 5. p. 560) haben wir erwähnt, daß Herr Mengert gute Erfahrungen mit dem Padlewsky'schen Natriumsulfit-Malachitgrünagar gemacht habe. Diese Angabe möchten wir dahin berichtigen, daß sich dieses günstige Urteil auf den Conradischen Brillantgrünährboden bezieht. Ergänzend fügen wir hinzu, daß sich nach Mengert auch das neue Loefflersche Nährsubstrat bewährt hat, obwohl die Typhusbacillen verhältnismäßig langsam auf ihm wachsen und die Diagnose dadurch um 24 Stunden verzögert wird.

Straßburg i. E., 26. Febr. 1910.

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Anschütz, German, Ueber Uebertragungsversuche von <i>Haemoproteus Orizivorae</i> und <i>Trypanosoma paddae</i>, nebst Bemerkungen über den Entwicklungsgang des ersteren, p. 328.</p> <p>Dennemark, Die Gruber-Widalsche Reaktion bei klinisch Gesunden in der Umgebung Typhuskranker, p. 374.</p> <p>Deycke, G. u. Much, H., Entgegnung auf Löwensteins Kritik unserer Arbeit über die Bakteriolyse von Tuberkelbacillen, p. 342.</p> <p>v. Fedorow, S. P. u. Ikonnikow, P. C., Zur Frage des Tetanoantitoxins, p. 352.</p> <p>Gaegtens, Walter u. Brückner, Georg, Berichtigung zu unserer Arbeit: „Vergleichende Untersuchungen über einige neuere Typhusnährböden und Erfahrungen über den Wert der Agglutination, Blutkultur und Stuhlzüchtung für die Diagnose des Abdominaltyphus“, p. 384.</p> <p>Grimm, F., Ueber einige atypische Erscheinungen bei Anwendung der Gru-</p> | <p>ber-Widalschen Reaktion in der Typhusdiagnostik, p. 367.</p> <p>Kühnemann, Georg, Ueber Veränderungen der Geißeln bei der Agglutination, p. 355.</p> <p>Livierato, Spiro, Weiteres über den Einfluß, welchen die Extrakte von Lymphgewebe auf die Evolution der experimentellen Tuberkulose ausüben, p. 332.</p> <p>Orsós, Franz, Die Form der tiefliegenden Bakterien- und Hefekolonien, p. 289.</p> <p>Sieber, N. u. Metalnikoff, S., Zur Frage der Bakteriolyse der Tuberkelbacillen, p. 349.</p> <p>Spät, Wilhelm, Ueber Agglutinationsversuche mit normalem Rinderserum, p. 361.</p> <p>Truffi, Mario, Ueber die Empfänglichkeit des Kaninchens gegenüber syphilitischen Reinfektionen, p. 337.</p> <p>Zeuner, William, Zur Bakteriolyse der Tuberkelbacillen, p. 345.</p> |
|---|---|

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 54. Heft 5.

Nachdruck verboten.

Neue Untersuchungen über die Tuberkulose der Kaltblüter¹⁾.

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Parma
(Vorstand: Prof. E. Bertarelli).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. E. Bertarelli und Dr. J. Bocchia.

Mit 1 Tafel.

Während ein bedeutendes Wiederaufblühen der Tuberkuloseforschungen im allgemeinen zu beobachten war, haben die Studien über die Kaltblütertuberkulose in den letzten drei Jahren keine bemerkenswerten Fortschritte gemacht, und die Literatur über diesen Gegenstand beschränkt sich auf die wenigen Arbeiten, welche bereits in dem Lehrbuch von Kollé und Wassermann (Bd. 2 und Ergänzungsband 1) zitiert sind.

Um den heutigen Stand der Frage kurz darzustellen, wollen wir nur die Hauptpunkte dieses Teiles der Pathologie des Tuberkulosebacillus anführen.

Eine spontane Tuberkulose der Fische wurde zum ersten Mal von Bataillon, Dubard und Terrè beobachtet, welche aus einer abdominalen Tuberkulose eines Karpfens einen Bacillus isolierten, welchen sie als den Bacillus der Fischtuberkulose ansprachen und benannten. Dieser Keim, welcher dann von Král, Dubard u. a. untersucht wurde, wies keine sehr bestimmten Charaktere auf. Er war säurefest, jedoch weniger als der Bacillus der menschlichen Tuberkulose, er entwickelte sich leichter als dieser und zwar auf gewöhnlichen Nährböden bei Temperaturen von 12—36° C, wobei sein Temperaturoptimum bei 25° C lag; auf gewöhnlichen Nährböden entwickelte er sich mit bemerkenswerter Schnelligkeit, so daß er z. B. in Nährbouillon schon nach 3—4 Tagen einen flockigen Niederschlag hervorrief. In den spontan tuberkulösen Geweben des Karpfens hatte er meistens in den Zellen, und zwar besonders in den Riesenzellen seinen Sitz, in welchen er auch schöne strahlenförmige Gruppen bildete.

Der isolierte Keim erwies sich als pathogen für Frösche, bei welchen er im Laufe einiger Wochen den Exitus letalis herbeiführte unter Auftreten von Tuberkeln in den inneren Organen, und besonders in der Leber, zuweilen sogar mit Erscheinungen der Verkäsung.

Eine spontane Tuberkulose der Reptilien wurde zum ersten Mal von Friedmann an 2 Seeschildkröten (*Chelone corticata*) des Berliner Aquariums beobachtet und sorgfältig untersucht. Es handelte sich dabei um ausgebreitete tuberkulöse Erscheinungen der Lunge mit verkästen Tuberkeln und sogar mit Höhlenbildung. Der von Friedmann in diesen Fällen isolierte Keim war ein typischer Tuberkulosebacillus, welcher, im Gegensatz zu demjenigen von Bataillon, sich bei 37° C sehr gut entwickelte und dabei Kulturen lieferte, welche von solchen von menschlicher Tuberkulose nicht zu unterscheiden waren.

In einem 3. Fall von Schildkrötentuberkulose hat Friedmann einen Tuberkulosebacillus isoliert, welcher dem der Fischtuberkulose ähnlich war.

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl-Turin.

Von spontaner Tuberkulose der Frösche sind 3 Fälle von Küster beobachtet worden, welcher eine große Anzahl dieser Tiere untersucht hat. Einen weiteren Fall hat auch Rupprecht beobachtet. In allen diesen Fällen handelte es sich um eine Tuberkulose der Leber mit grauen Tuberkeln und säurefesten Bacillen. Der von Küster isolierte Bacillus war für Kaltblüter pathogen und entwickelte sich am besten bei 28° C.

Zahlreichere Untersuchungen sind über die Erzeugung der experimentellen Tuberkulose bei Kaltblütern (Wirbeltieren) ausgeführt worden.

Der erste diesbezügliche Versuch wurde von Bataillon und Terrè und von Dubard mit Fröschen angestellt. Diese Autoren haben Frösche mit Tuberkulosebacillen von Säugetieren inokuliert und nicht nur eine Froschtuberkulose hervorgerufen, sondern behaupten auch, auf diesem Wege einen Bacillus mit modifizierter pathogener Wirksamkeit erhalten zu haben und mit der Fähigkeit, sich auch bei niedrigen Temperaturen zu entwickeln. Diese Resultate wurden aber von verschiedenen Autoren bestritten, so von Auché und Hobbs, Lubarsch, Sion, Herr u. a.

Lubarsch behauptet z. B., daß die inokulierten Keime sich nicht vermehren, obwohl sie, wenn sie Fröschen eingepflegt werden (Einimpfung in die Lymphräume), sich in den verschiedenen Organen verbreiten können, und daß sich, wenn die großen Massen vereinigt sind, mit Fremdkörpertuberkeln vergleichbare Tuberkel (ähnlich denjenigen, welche infolge von Einspritzung toter Bacillen entstehen würden) bilden, in welchen auch nach 5 oder 6 Monaten die Keime noch nachgewiesen werden können, und zwar ohne bemerkenswerte Veränderung ihrer Eigenschaften erlitten zu haben.

Andere Autoren, wie Hormann und Morgenroth, Nicolas und Lesieur u. a. haben versucht, eine experimentelle Tuberkulose bei Fischen durch Verfütterung von tuberkulösem Sputum herbeizuführen, aber beobachtet, daß man auf diesem Wege keine Vermehrung des Bacillus erzielt, obwohl man selbst nach einem Monat im Körper des Fisches noch einige der eingeführten Keime finden kann.

Einiges Aufsehen haben die Untersuchungen von Möller erregt, welcher dadurch, daß er einer Blindschleiche menschliches tuberkulöses Sputum einimpfte, einen Bacillus mit eigenen Charakteren erhielt, welcher eine Veränderung oder Umwandlung des menschlichen Tuberkelbacillus darstellte.

Einer von uns hat 1904 versucht, bei einem im Brutschrank gezüchteten Tropenreptil durch Menschen- und Vögeltuberkelbacillen tuberkulöse Erscheinungen hervorzurufen. Nur durch menschliches tuberkulöses Sputum konnten unzweifelhaft tuberkulöse Erscheinungen herbeigeführt werden; es handelte sich um eine Reaktion des Unterhautzellgewebes unter Bildung wenig charakteristischer Tuberkel mit Anwesenheit zahlreicher Riesenzellen und mit einer auffallend starken Wucherung des Tuberkelbacillus. Der Bacillus zeigte kultiviert keine Unterschiede vom menschlichen Tuberkelbacillus; besaß aber kein pathogenes Vermögen.

Dieudonné will vermitteltst des Durchganges eines Tuberkelbacillus der Säugetiere durch den Frosch einen säurefesten, dem Bacillus der Fischtuberkulose sehr ähnlichen Bacillus erhalten haben.

Diese Notizen der Literatur können die Vermutung nahe legen, daß man tatsächlich eine gewisse Anpassung des Säugetiertuberkulosebacillus im Organismus der kaltblütigen Wirbeltiere erzielen kann, obwohl die Frage alles andere eher als gelöst ist.

Es haben jedoch schon mehrere Autoren, wie Herr, Sion, Morey, Cornet und Meyer, die Vermutung ausgesprochen, daß es sich bei allen oder wenigstens bei einem großen Teil der erwähnten Experimente um einen Deutungsfehler handle, indem die aus den kaltblütigen Wirbeltieren isolierten vermutlichen Tuberkelbacillen nichts anderes als einen zufälligen Befund in den untersuchten Tieren vorhandener säurefester Bacillen darstellten, welche dann als eine Umwandlung oder Modifizierung des Tuberkelbacillus gedeutet worden seien.

Diese Vermutung hat eine große Bedeutung erlangt durch die bekannte Arbeit von Weber und Taute, welche auch in Fröschen, denen keine Tuberkelbacillen eingepft worden waren, säurefeste Bacillen nachgewiesen und aus ihnen isoliert haben, welche verschieden waren von denjenigen der Tuberkulose, jedoch bei einer einfachen morphologischen Untersuchung der Organe der Frösche leicht zu Deutungsfehlern hätten führen können.

Diese beiden Autoren und dann Taute allein haben später diese säurefesten Keime auch außerhalb des Körpers der Tiere gefunden, so z. B. im Schlamm und im übrigen Material, welches sich auf dem Boden der Aquarien befindet. Auf Grund dieser Beobachtungen vertreten beide Autoren die Meinung, daß die als Bacillen der Tuberkulose der Kaltblüter beschriebenen Keime nichts anderes als Formen dieser säurefesten Bacillen seien, welche ausnahmsweise auch im Organismus der kaltblütigen Wirbeltiere sich stark entwickeln und Läsionen hervorrufen können, von welchen es sehr zweifelhaft ist, ob man sie als tuberkulöse Läsionen klassifizieren darf.

In dieser Richtung, d. h. mit der Absicht, eine Anpassung oder Abschwächung des Bacillus herbeizuführen, haben noch andere Autoren Versuche angestellt und menschliche Tuberkelbacillen Fröschen (Dieudonné und Cohn) und Schildkröten (Moryr) eingepft. Nur Sorgo und Suess und Klimmer soll es gelungen sein, eine Modifikation der Charaktere des menschlichen Tuberkelbacillus im Körper von Kaltblütern zu erzielen. In der jüngsten Arbeit über den Gegenstand (Moryr), in welcher auch die Resultate aller früheren Untersuchungen ausführlich zusammengestellt sind, wird die Möglichkeit in Abrede gestellt, im Körper der Schildkröte eine Umwandlung des menschlichen Tuberkelbacillus zu erzielen. Dieser Autor macht sehr spärliche Angaben über die Sektionsbefunde seiner Schildkröten, so daß man daraus schwer entnehmen kann, ob er tatsächlich eine bedeutende Vermehrung der eingepfteten Bacillen im Tierorganismus beobachtet hat, so daß man aus seinen Versuchen nur relative Kriterien gewinnen kann.

* * *

Gegenwärtige Untersuchungen haben wir am Ende des Frühlings 1909 begonnen, und zwar besonders weil die Untersuchung der Präparate, welche Bertarelli beim *Varanus varius* erhalten hatte, die Annahme nahelegte, daß wenigstens im Körper dieses Reptils der menschliche Tuberkelbacillus sich sehr wohl entwickeln könne.

Sicherlich gibt es aprioristische Gründe, daran zu zweifeln, daß die Bacillen der Vögel-, Rinder- und Menschentuberkulose, die doch so besondere Temperaturverhältnisse zu ihrem Gedeihen verlangen, sich dem Körper der Kaltblüter anpassen und in demselben entwickeln, ja sogar so üppig entwickeln können, wie einige Autoren behaupten beobachtet zu haben. Aber die Erklärung von Weber und Taute, wenn

sie auch für die Fische und die Amphibien in Frage kommen kann, könnte keineswegs für die Reptilien gelten, um so mehr, wenn bei diesen Tieren die Bacillen gerade unter der Haut an der Stelle gefunden werden, wo sie injiziert worden waren.

Wir haben uns folgende Aufgaben gestellt:

1) Zu untersuchen, ob bei den kaltblütigen Wirbeltieren Europas die spontane Tuberkulose vorkommt.

2) Zu untersuchen, ob der von Weber gemachten Beobachtung tatsächlich der Wert zuzuschreiben ist, welcher aus den Schlußfolgerungen dieses Autors hervorzugehen scheint; oder ob die säurefesten Bacillen in den kaltblütigen Wirbeltieren unter solchen Bedingungen der Häufigkeit und der allgemeinen Charaktere auftreten, daß es ausgeschlossen erscheint, daß die durch Inokulation bei kaltblütigen Wirbeltieren erhaltenen experimentellen Befunde auf zufällige Ereignisse zurückzuführen sind, bedingt durch Aufnahme von säurefesten Bacillen aus der Umgebung seitens der Tiere.

3) Bei den verschiedenen Klassen von kaltblütigen Wirbeltieren die Einimpfung der Bacillen der menschlichen, der Rinder- und der Vögeltuberkulose sowohl in Kultur wie in Form pathologischer Produkte zu versuchen.

* * *

Wir bemerken im voraus, daß die Resultate, über welche wir hier berichten, inkomplett sind; wir glauben jedoch, daß sie einen derartigen Wert haben, daß sie einige Punkte der Frage in unbestreitbarer Weise entscheiden. Deshalb haben wir, während wir unsere Untersuchungen fortsetzen, diese Resultate mitteilen wollen, welche fast ausschließlich den morphologischen Teil der Frage betreffen, auch um die Aufmerksamkeit der Forscher auf ein Kapitel der Tuberkuloseforschung zu lenken, welches noch eine reichliche Ernte zu versprechen scheint.

* * *

Spontane Tuberkulose der kaltblütigen Wirbeltiere.

Seit mehreren Jahren untersucht einer von uns alle Fische, Amphibien und Reptilien, welche er zur Verfügung haben kann, um eventuelle tuberkulöse Läsionen festzustellen. Aber unter mehreren Hunderten von verschiedenen Exemplaren, die seit 1903 untersucht wurden, hat er keine einzige auf Tuberkulose hindeutende Läsion beobachtet. In einem einzigen Falle (grüne Eidechse, *Lacerta viridis*) wurden in der Leber Knötchen beobachtet, welche mikroskopisch und kulturell untersucht wurden: Die Kulturversuche fielen negativ aus und aus der mikroskopischen Untersuchung ergab sich ein Herd von granulöser Entartung mit einigen Riesenzellen, aber mit negativem bakteriologischen Befund.

In den letzten Monaten haben wir eine große Anzahl von kaltblütigen Wirbeltieren (Schleien, Hechte, Schmerlinge, Karpfen, Flußkrabben, Barben, Frösche, Salamander) sorgfältig und systematisch untersucht, aber nie tuberkulöse Läsionen gefunden.

Auch bei zahlreichen Untersuchungen, welche einer von uns bei Gelegenheit von systematischen Studien über die Darmbakterienflora der Süßwasserfische ausgeführt hat, wurden im Darne der Fische nie säurefeste Keime gefunden, welche verdient hätten, in Betrachtung gezogen zu werden.

Einer von uns hat auch Erkundigungen auf dem Fischmarkt mehrerer Städte eingeholt, und dabei die Ueberzeugung gewonnen, daß tuberkulöse

Erscheinungen bei Fischen entweder gar nicht vorkommen oder äußerst selten sind, und es ist uns, obwohl wir entsprechende Vergütungen versprochen hatten, nicht gelungen, uns aus zwei großen Fischmarktplätzen ein einziges pathologisches Stück für unsere Untersuchungen zu verschaffen.

Nur durch sehr ausgedehnte und eingehende Untersuchungen wird es möglich sein, die Frage zu lösen, ob es eine spontane Tuberkulose der kaltblütigen Wirbeltiere gibt. Und wenn dieselbe auch tatsächlich vorkommt, muß es sich dabei jedenfalls um eine in unseren Gegenden äußerst seltene Erscheinung handeln.

Vorkommen von säurefesten Keimen in den Organen der kaltblütigen Wirbeltiere.

Wir haben bereits gesagt, daß wir, bevor wir zu den Untersuchungen über die experimentelle Tuberkulose schritten, haben feststellen wollen, ob die von Weber und Taute bezüglich des Vorkommens säurefester Keime in den Organen kaltblütiger Wirbeltiere erhobene Vermutung das Urteil über die eventuellen Resultate unserer Untersuchungen stören konnte. Unter den Tieren, über die wir in unserem Laboratorium verfügten, wurden, ins Gelage hinein, verschiedene Frösche, grüne Eidechsen, Schmerlinge, Schleien, Hechte, Goldfische (*Carassius auratus*), Barben und Karpfen gewählt und untersucht; in allen parenchymalen Organen wurde auf säurefeste Keime gefahndet. In keinem dieser Fälle war der Befund positiv.

Wir müssen nicht vergessen, daß der Befund von Weber und Taute seine Bedeutung haben muß und unsere Untersuchungen können sich in dieser Hinsicht nur auf das Material beziehen, welches wir zur Verfügung hatten, und in jedem Falle auf unsere Zuchten; aus diesen Untersuchungen kann man jedoch gleich schließen, daß die Vermutung, zufällig auf durch säurefeste Keime erzeugte Infektionen zu stoßen, keine sehr feste Grundlage haben konnte.

Wir haben deshalb, der größeren Sicherheit halber, um die Möglichkeit möglichst auszuschließen, daß säurefeste Keime aus dem Schlamm der Aquariumbehälter in den Organismus der dort lebenden Tiere eindringen, wenigstens die Versuchsfische (*Carassius auratus*), bei denen es leichter möglich war, ohne sie in ihrer Gesundheit zu schädigen, in Porzellangefäßen gehalten, durch welche wir klares Wasser fließen ließen, so daß sich kaum ein merkbarer Bodensatz bildete.

Experimentelle Infektion der kaltblütigen Wirbeltiere mit Tuberkelbacillen.

Die Versuche, über deren Resultate wir hier kurz berichten, wurden mit Reptilien, Amphibien und Fischen angestellt. Dabei haben wir menschliche, Rinder- und Vögeltuberkelbacillen aus Kulturen von sicherer Herstammung und menschliches pathologisches Material angewendet; die Infektionsversuche geschahen auf verschiedenen Wegen.

Reptilien.

Die Versuche wurden mit grünen Eidechsen angestellt. Es wurden, auf verschiedene Perioden verteilt, 60 Exemplare angewendet, die Einimpfung geschah unter die Haut der Leistengegend, in die Bauchhöhle und in das Bindegewebe des Rückens.

Diese Tiere kann man, auch ohne Einimpfung, sehr schwer lange Zeit im Laboratorium am Leben erhalten; deshalb haben die Versuche mit ihnen keinen großen Wert.

Von allen geimpften Exemplaren hat ein einziges einen einigermaßen interessanten Befund geliefert. Es handelt sich um ein Tier, welchem Anfang September 1909 menschliche Tuberkelbacillen aus einer Kultur in die Bauchhöhle eingeimpft wurden, und welches am 17. Okt. starb. Bei der Autopsie wurden einige vergrößerte gräuliche Lymphknoten im Abdomen gefunden, mit welchen Ausstrichpräparate hergestellt wurden. Leider wurden wegen der geringen Entität der Läsionen keine weiteren Untersuchungen ausgeführt und die Stücke nicht fixiert. In den nach Ziehl und nach Hermann gefärbten Strichpräparaten wurden zahlreiche säurefeste Keime nachgewiesen, welche sehr deutlich an den menschlichen Tuberkelbacillus erinnerten.

Amphibien.

Es wurden zahlreiche Frösche in die Haut der Schenkel, in die Lymphsäcke des Rückens und die Bauchhöhle geimpft. Nur in einem Fall erhielten wir ein bemerkenswertes Resultat.

Es handelt sich um einen Frosch (*Rana esculenta*), welchem am 8. Juli 1909 eine äußerst kleine Menge von einer sehr fein emulgierten Kultur von menschlichen Tuberkelbacillen in die Lymphräume des Rückens eingeimpft worden war. Das Tier wurde, zusammen mit anderen, am 24. November getötet. Makroskopisch waren bei der Autopsie in den Organen keine Läsionen nachweisbar. In den mit der Leber hergestellten Streichpräparaten — die anderen Organe haben nichts Interessantes gezeigt — wurden einige wenige Häufchen säurefester Keime gefunden, welche deutlich an den Tuberkelbacillus erinnerten.

In den den peripheren Teilen der Leber entsprechenden Schnitten beobachtet man zahlreiche säurefeste Keime, welche eine sehr geringe Neigung zur Haufenbildung aufweisen. Die Reaktion von seiten des Gewebes ist durchaus negativ. Auch in diesem Fall wurden leider keine Kulturversuche und keine Impfungen auf andere Tiere ausgeführt.

Fische.

Die hier berichteten Untersuchungen beziehen sich auf verschiedene Goldfische (*Carassius auratus*), welche in der Weise und mit dem Material inokuliert und unter den Lebensverhältnissen gehalten wurden, wie wir sie bereits angegeben haben. Die Untersuchungen waren ausschließlich morphologisch. Kulturelle Untersuchungen und Tierimpfversuche haben wir, obwohl wir sehr interessante Resultate erzielt hatten, wie wir bald sehen werden, nicht angestellt, weil während mehrerer Monate die Tiere, welche wir töteten, so konstant negative Befunde geliefert hatten — wahrscheinlich weil seit der Impfung zu kurze Zeit verlaufen war — daß wir, in der Ueberzeugung, daß die Untersuchungen negativ ausgefallen wären, zur richtigen Zeit kein Material und keine Tiere für die anderen biologischen Proben bereit hatten. Diesem Uebelstand haben wir übrigens dadurch gesteuert, daß wir Untersuchungen mit den anderen Tieren angestellt haben, über die wir nächstens berichten werden.

Unsere Fische wurden alle Anfang Juli 1909 inokuliert.

Vögel tuberkulose.

Ein Fisch (*Carassius auratus*), welchem im Juli ein Tropfen einer feinen Emulsion von Vogeltuberkulosebacillen in Blutagarkultur in die Bauchhöhle eingeimpft worden war, zeigte am 24. November folgenden Befund. Auf der Leberoberfläche beobachtet man ein hirsekorngroßes, weißliches, an der Oberfläche der Leber anhaftendes Knötchen. In der Nähe des Kiemenapparates, und zwar in der Wirbelgegend, beobachtet man ein vergrößertes, 1—1,5 mm dickes Knötchen. Bei

der Untersuchung durch Streichpräparate findet man in den beiden genannten Knötchen und in der Leberpulpa zahlreiche säurefeste, mit den Tuberkelbacillen identische Keime. Die Schnitte liefern folgenden Befund: In der Leber ist makroskopisch mit unbewaffnetem Auge nicht die geringste anormale Erscheinung sichtbar; dagegen beobachtet man unter dem Mikroskop an einigen Stellen kleine, vom umgebenden Gewebe kaum abgegrenzte Knötchen. Diese bestehen an der Peripherie aus wenigen länglichen Bindegewebszellen und einzelnen seltenen Leukocyten. In den zentralen Partien der Knötchen befinden sich die Elemente auf dem Wege der Degenerescenz, es sind keine Riesenzellen vorhanden, und histologisch hat das Knötchen übrigens wenig Gemeinschaftliches mit denjenigen, welche man bei der Tuberkulose der Säugetiere beobachtet. Im Inneren der Knötchen beobachtet man ineinander verschlungene Anhäufungen ziemlich länglicher Tuberkelbacillen. Diese Keime zeigen keine Neigung zur Fragmentierung; es ist Pigment leicht nachweisbar. Es sind auch kleine Bacillengruppen außerhalb der Knötchen nachweisbar.

Rindertuberkulose.

Ein Fisch (*Carassius auratus*), welchem am 8. Juli eine feine Aufschwemmung von Rindertuberkulosebacillen in die Bauchhöhle eingepft worden war, wurde am 26. November getötet. Aus der makroskopischen Untersuchung ergab sich nichts Beachtenswertes. In den Streichpräparaten von Leber, Milz und Hoden beobachtete man zahlreiche säurefeste Bacillen. Die Leberschnitte lieferten folgenden Befund: Keine Knötchen, kleine Zone mit anfänglicher Entartung der Elemente; zwischen dem Pigment und stellenweise auch außerhalb desselben beobachtet man große Haufen kurzer, abgeplatteter, fein pigmentierter Tuberkelbacillen, deren Aussehen auch für eine körnige Entartung der Bacillen sprechen könnte. Im Hoden sind zooglöenartige, nicht sehr große Massen Tuberkelbacillen nachweisbar, mit denselben Charakteren wie diejenigen der Leber.

Wenn man die von der Inokulation bis zur Tötung des Tieres verlaufene Zeit, die große Menge der beobachteten Massen und ihre Form in Betracht zieht, so erscheint die Annahme, daß es sich einfach um eine Entartung der ursprünglich eingepfteten Bacillen handelt, sehr unwahrscheinlich.

Menschliche Tuberkulose (Sputum).

Einem Fisch (*Carassius auratus*) wurde am 8. Juli 1909 ein Tropfen menschlichen tuberkulösen Sputums, in einem Mörser mit physiologischer Kochsalzlösung emulgiert, in die Bauchhöhle eingespritzt. Am 25. November wurde das Tier getötet. Aus der makroskopischen Untersuchung ergibt sich nichts Bemerkenswertes. Die Leber-, Hoden- und Milzstrichpräparate weisen zahlreiche Tuberkelbacillen auf. In den nach Ziehl gefärbten Schnitten beobachtet man folgendes: Zwischen dem Hodenparenchym beobachtet man hier und da Häufchen von typisch gruppierten säurefesten Bacillen. Man beobachtet keine echte Tuberkelbildung, obwohl die Keime zur Bildung abgegrenzter Herde neigen. Im mykotischen Herde findet man wenige entartete Drüsenelemente; man würde sagen, daß da eine saprophytische Vermehrung der Keime stattfindet, ohne daß das Gewebe irgendwie darauf reagiert. Der mykotische Herd besteht nicht, wie bei den Knötchen, die infolge der Einimpfung von Vogeltuberkelbacillen beobachtet wurden, aus ineinander geschlungenen Bacillenmassen, sondern die Keime sind im Herd sternförmig vereinigt und angeordnet und nehmen ein ganz charakteristisches Aussehen an, wie aus den Figuren ersichtlich ist. Auch außerhalb der

mykotischen Herde kann man kleine Bacillenmassen beobachten. Die Bacillen haben die typische Form des menschlichen Tuberkelbacillus, und weisen keine besondere Fragmentierung auf, welche auf eine körnige Entartung hinweisen könnte.

In der Leber macht man dieselben Beobachtungen; auch hier zeigt das Gewebe keine Neigung zur Reaktion, und die Keime sind in der Nähe des Pigments zahlreicher vorhanden.

Menschliche Tuberkulose aus Kultur.

Ein Fisch (*Carassius auratus*), welchem am 8. Juli 1909 eine kleine Menge von einer feinen Emulsion von Menschentuberkelbacillenkultur in physiologischer Kochsalzlösung in die Bauchhöhle eingepft worden war, wurde am 25. November getötet. Der makroskopische Befund war durchaus normal. In den aus den verschiedenen drüsigen Organen angefertigten Ausstrichpräparaten sind zahlreiche säurefeste Keime nachweisbar. Auch hier sind in den Leber-, Hoden- und Milzschnitten zahlreiche kleine Zoogloen bündelweise oder häufchenweise angeordneter Tuberkelbacillen nachweisbar, ohne daß das Gewebe irgendwelche Reaktion aufweist. Man beobachtet Zonen, in welchen zahlreiche Bacillen vorhanden sind und andere, wo diese gänzlich fehlen.

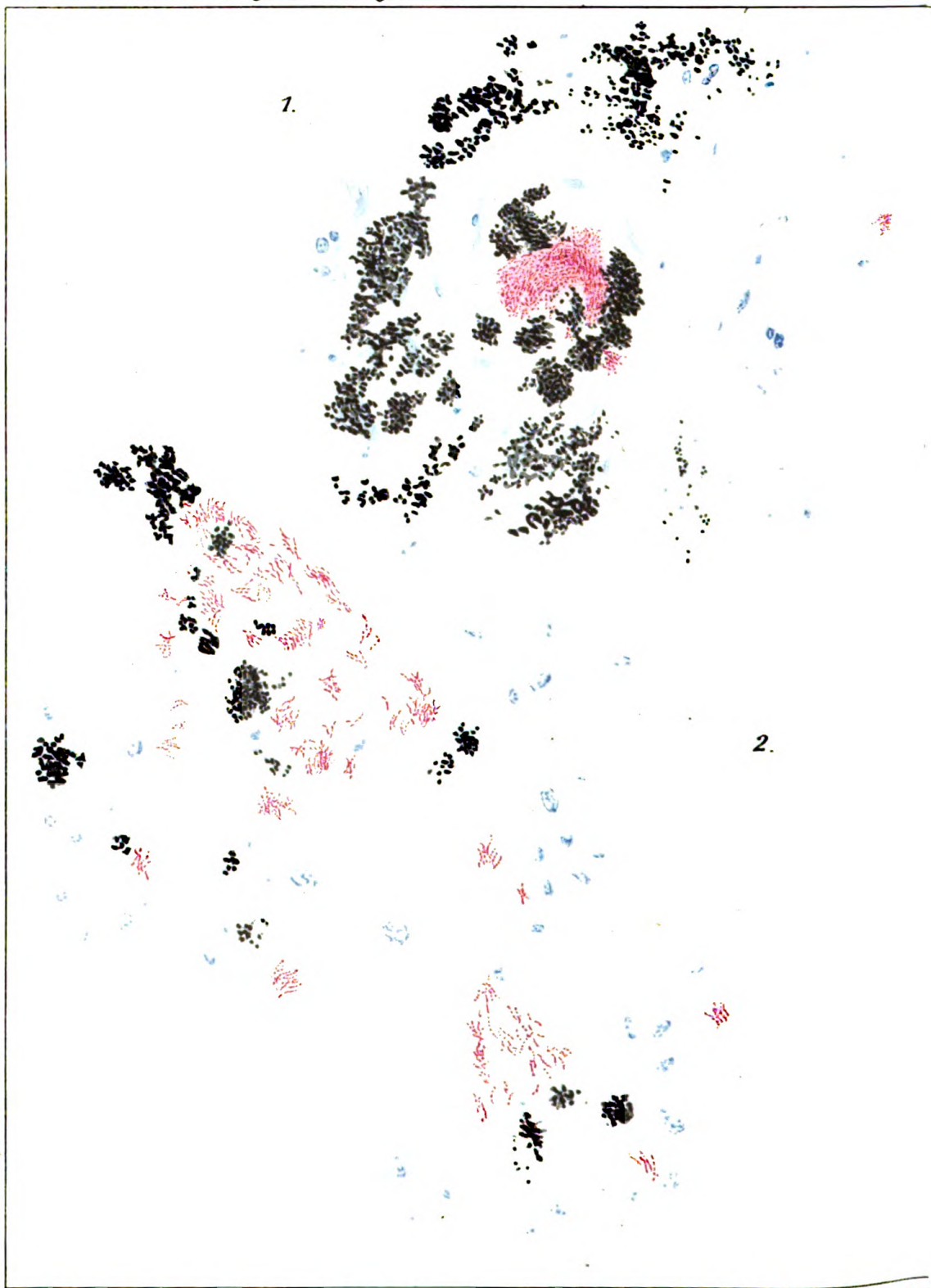
* * *

Bevor wir aus den hier berichteten Untersuchungen allgemeine Schlußfolgerungen ziehen hinsichtlich der Möglichkeit, bei Kaltblütern eine experimentelle Tuberkulose zu erzeugen, wollen wir die Untersuchungen beendigen, mit welchen wir gegenwärtig beschäftigt sind.

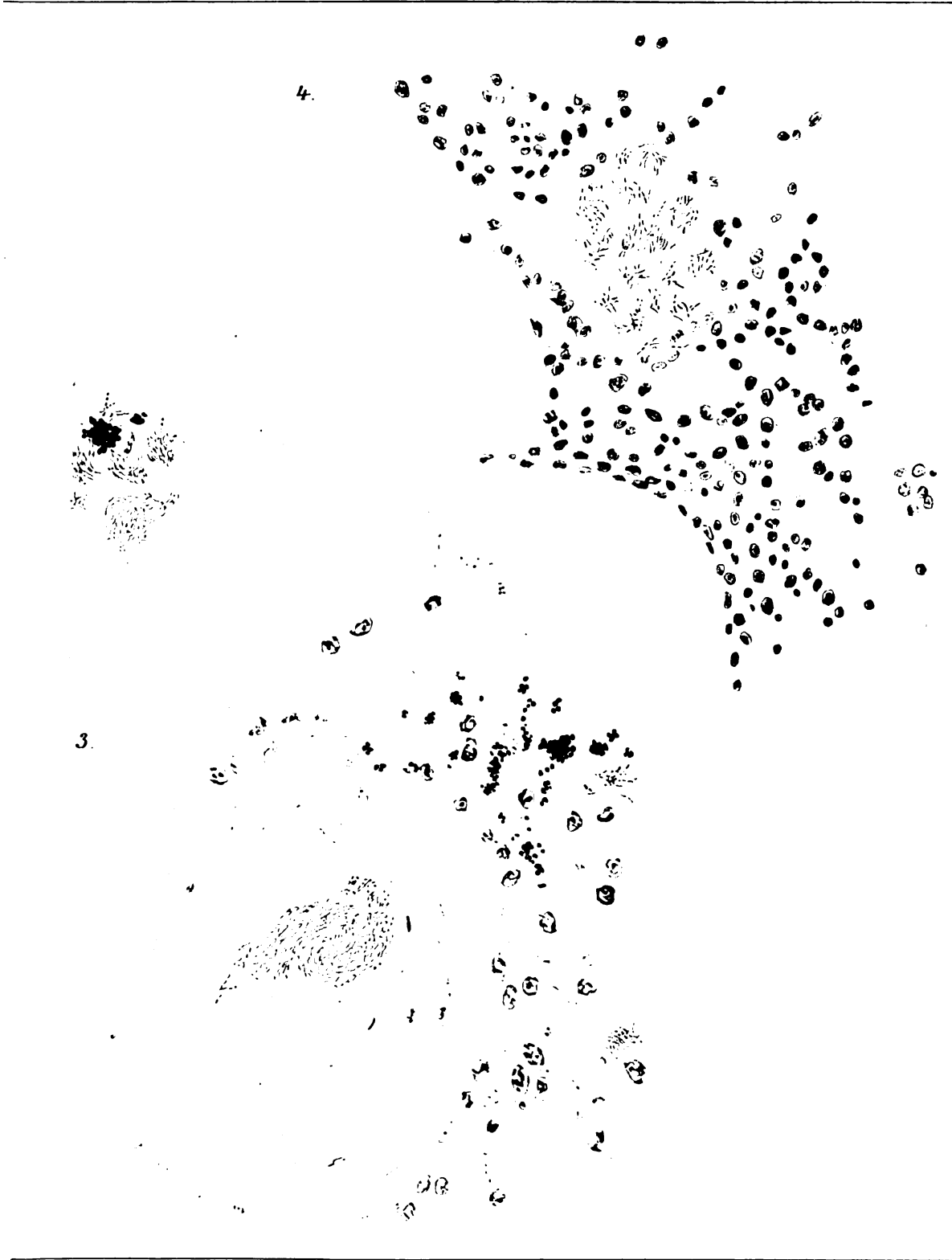
Wir können jedoch schon, wenigstens bezüglich des *Carassius auratus*, auch allein aus dem angeführten morphologischen Befund eine Schlußfolgerung ziehen, gegen welche der Einwand, daß es sich um die zufällige Anwesenheit säurefester Keime handle, nicht gelten kann, nämlich die Schlußfolgerung, daß man bei dem genannten kaltblütigen Wirbeltier eine sehr bemerkenswerte Wucherung des Tuberkelbacillus mit einem wirklich typischen morphologischen Befund erzielen kann. Es kann hier nicht von einer echten Tuberkulose des Fisches die Rede sein; im Gegenteil, die wichtigste Tatsache, welche wir hier hervorheben wollen, ist die äußerst geringe oder negative Reaktion des Gewebes gegen die Bacilleninvasion. Daß es sich in den von uns berichteten Fällen wirklich um eine aktive Vermehrung des Keims und nicht um eine akzidentelle Lokalisierung der eingepftten Keime handelt, scheint keiner besonderen Erörterung zu bedürfen.

Allein die lange Zeit, welche zwischen der Inokulation und dem Moment verflossen ist, in welchem die Untersuchung vorgenommen wurde, dürfte schon genügen, um die Annahme als sehr unwahrscheinlich hinzustellen. Wenn man aber des weiteren noch an einige Lokalisierungen denkt, wie diejenige in den Hoden, welche sich nur durch eine Vermehrung des Keimes in loco erklären lassen, so muß man der oben erwähnten Annahme jeden Wert absprechen.

Der von uns berichtete Befund bezüglich der Inokulation des *Carassius* mit Rindertuberkulose genügt nicht, um eine Vermehrung der Keime in Abrede stellen zu dürfen, und wenn man auch in diesem Fall, von der Größe, der Form und der geflechtartigen Anordnung der mykotischen Massen ausgehend, eine granulöse Entartung der Keime annehmen wollte, so müßte man doch auch annehmen, daß die Disgregation eine auf eine aktive Bacillenwucherung folgende Erscheinung ist.



Verlag von Gustav.



Fischer in Jena.

Lith Anst v Johannes Arndt, Jena.

Ob bei diesem Durchgang durch ein fremdes Tier eine Abschwächung der Bacillen stattfindet oder nicht, werden wir seiner Zeit sehen.

Was wir in dieser kurzen vorläufigen Mitteilung hervorheben wollen, und was trotz der Unvollständigkeit der Befunde nach unserem Dafürhalten verdiente, gleich mitgeteilt zu werden, ist die Tatsache, daß es verhältnismäßig leicht gelingt, bei kaltblütigen Wirbeltieren, oder wenigstens bei einigen derselben, und, soweit es aus unseren Untersuchungen hervorgeht, bei dem *Carassius auratus* ein Gedeihen sowohl des menschlichen, wie des Rinder- und Vogeltuberkelbacillus zu erzielen, wobei, trotz der besonderen Temperaturverhältnisse eine üppige Wucherung der Keime stattfindet, und zwar ohne daß die Gewebe gegen die Keime mit der Intensität reagieren, welche man gewöhnlich bei den höheren Wirbeltieren beobachtet.

Literatur.

- Bataillon, Dubard u. Terrè, *Compt. rend. soc. biol.* 1897. p. 446.
 Král u. Dubard, *Rev. de la tuberc.* 1898. p. 129.
 Friedmann, Spontane Lungentuberkulose bei Schildkröten etc. (*Zeitschr. f. Tuberkulose u. Heilstättenwesen.* Bd. 4. 1903.)
 Küster, Ueber säurefeste Bacillen nebst Beschreibung eines Falles von spontaner Froschtuberkulose. [Inaug.-Diss.] Freiburg i. B. 1904.
 Terrè, *Essai sur la tuberculose des vertébrés à sang froid.* Dijon 1902.
 Bataillon u. Terrè, *Compt. rend. acad. sc.* 1897. p. 1399 u. 1898. p. 538; *Compt. rend. soc. biol.* 1899. p. 13; 1899. p. 816—817.
 Auché et Hobbs, *Compt. rend. soc. biol.* 1897. p. 929; 1898. p. 13; 1899. p. 316—317.
 Lubarsch, *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 28. 1900. p. 421.
 Sion, *Ebenda.* 1900. p. 710.
 Herr, *Zeitschr. f. Hyg. Bd.* 38. 1901. p. 198.
 Hormann u. Morgenroth, *Hyg. Rundschau.* 1899. p. 857.
 Nicolas et Lesieur, *Compt. rend. soc. biol.* 1899. p. 857.
 Morey, *Tuberkulose expérimentale de quelques poissons et de la grenouille.* [Thèse.] Lyon 1900.
 Bertarelli, Einige Untersuchungen über die Tuberkulose der Reptilien. (*Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 38. 1905. p. 403.)
 Weber u. Taute, Zur Frage der Umwandlung der Tuberkelbacillen im Kaltblüterorganismus. (*Dtsche med. Wochenschr.* 1904. p. 28.)
 Möller, *Dtsche med. Wochenschr.* 1894.
 Cornet u. Meyer, *Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorganismen.* Bd. 2. p. 130.
 Moriya, Gozo, *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 51. 1909. p. 480.
 Dieudonné, *Münchn. med. Wochenschr.* 1905. No. 17.
 Klimmer, *Ebenda.* Bd. 12. 1908. Heft 5.
 Moriya, Gozo, *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 45. 1907. Heft 4.
 Sörgo u. Suess, *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd.* 43. 1906. Heft 5.
 Rupprecht, Ueber säurefeste Bacillen nebst Beschreibung eines Falles von spontaner Froschtuberkulose. [Inaug.-Diss.] Freiburg i. Br. 1904.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Leberschnitt aus einem *Carassius auratus*, dem eine Rindertuberkulosebacillenkultur in die Bauchhöhle eingepflegt worden war.

Fig. 2. Leberschnitt aus einem *Carassius auratus*, dem eine Menschentuberkulosebacillenkultur in die Bauchhöhle eingepflegt worden war.

Fig. 3. Milzschnitt aus einem *Carassius auratus*, dem eine Vogeltuberkulosebacillenkultur in die Bauchhöhle eingepflegt worden war.

Fig. 4. Hodenschnitt aus einem *Carassius auratus*, dem menschliches tuberkulöses Sputum in die Bauchhöhle eingepflegt worden war.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis des *Streptococcus mucosus* und der von ihm verursachten Krankheitsformen.

[Aus dem Institut für pathologische Histologie und Bakteriologie der k. k. Universität Wien und dem pathologischen Institut der Wiener allgemeinen Poliklinik (Vorstand: Prof. Dr. Heinrich Albrecht).]

Von Assistenten Dr. L. Arzt.

Als Schottmüller (1) im Jahre 1903 auf Grund seiner Beobachtung des differenten Wachstums auf der Blutagarplatte der aus den verschiedensten Krankheitsformen stammenden Streptokokken dieselben in mehrere Gruppen teilte, nämlich in die Gruppe des *Streptococcus longus*, in die des *Streptococcus mitior* und in die des *Streptococcus mucosus*, stellte er die letzte Gruppe dieser Mikroorganismen, die bis dahin nicht — wenigstens unter diesem Namen — bekannt war, auf Grund von 7 Fällen, die er zu beobachten Gelegenheit hatte, den beiden anderen Gruppen vollwertig gegenüber.

Wohl haben schon vor Schottmüller verschiedene Autoren einen Mikroorganismus beobachtet, der, wie es scheint, dem Schottmüllerschen *Streptococcus mucosus* sehr nahe stand oder mit demselben vielleicht gar identisch war.

Ob die von Ortmann (2) (1888), Babes (3) (1890), Bonome (4) (1890), Seitz (5) (1896), Binaghi (6) (1897), le Roy des Barres und Weinberg (7) (1900), v. Besser (8) (1889), Liesenberg und Zopf (9) u. a. beschriebenen Streptokokken in die gleiche Gruppe gehören, möge dahingestellt bleiben.

Jedenfalls haben dieselben, sowie die von Howard und Perkins (10) und Lewkowicz (11) beobachteten Mikroorganismen, welcher letzterer Autor seinen kapseltragenden *Streptococcus* für den Erreger der Dysenterie hielt, manche nahe Beziehungen mit dem von Schottmüller im Jahre 1903 aufgestellten Typus, welchen er *Streptococcus mucosus* nannte.

Auf alle Fälle aber gebührt Schottmüller das Verdienst, auf einen ganz auffällig schleimig wachsenden, mitunter pathogenen *Streptococcus* hingewiesen zu haben, den er zum erstenmal als eine besondere Gruppe der Streptokokken abgrenzte.

Auf diesen Mikroorganismus aufmerksam gemacht, häuften sich die Beobachtungen desselben; andererseits tauchten aber doch verschiedene Widersprüche in bezug auf Morphologie, kulturelles Verhalten und Pathogenität auf. Ob nun freilich alle in den Arbeiten nach Schottmüller als *Streptococcus mucosus* bezeichneten Mikroorganismen wirklich diesem Typus angehörten oder mehr oder weniger diesem fern standen, darüber läßt sich aus den Angaben in den einzelnen Arbeiten nur mehr schwer eine sichere Entscheidung treffen.

In der Folge wurden aber auch immer neue Krankheitsformen bekannt, die den *Streptococcus mucosus* zum Erreger hatten.

Während Schottmüller diesen Mikroorganismus zum erstenmal in einem Absceß des weiblichen Genitaltraktes fand, erwähnt er in seiner ersten Publikation über denselben auch drei Meningitisfälle, die diesen schleimbildenden Mikroorganismus zum Erreger hatten. Und schon 2 Jahre (12) später (1905) berichtet er über 6 Fälle von

croupöser Pneumonie, aus denen er den gleichen Mikroorganismus isolieren konnte. Insbesondere wurde dieser letzte Befund in der Folge bestätigt; aber auch bei Erkrankungen des Ohres [Wittmaak (13), Neumann und Ruttin (14)] wurden Mikroorganismen als Erreger beschrieben, die als Streptococcus mucosus bezeichnet wurden.

Da aber einerseits der Begriff dieses Mikroorganismus kein vollständig abgegrenzter ist, indem die beschriebenen Kokken färberisch, morphologisch und kulturell oft nicht unbedeutend voneinander abweichen, andererseits von manchen Autoren immer wieder die Möglichkeit, daß es sich nur um eine besondere Form des Pneumococcus (Fraenkel-Weichselbaum) handle, erörtert wurde, schien es mir nicht belanglos, meine Untersuchungen an schleimig wachsenden Diplo-Streptokokken mitzuteilen.

Wenn ich nun meine genau untersuchten Stämme auf Grund ihrer Eigenschaften als Streptococcus mucosus bezeichne und sie den von Schottmüller beschriebenen anreihe, so will ich mit dieser Bezeichnung Streptococcus keineswegs ein Urteil über die Frage der Zugehörigkeit zu den Strepto- oder Pneumokokken fällen; sondern wohl bewußt der Schwierigkeiten, die dieser Differentialdiagnose zugrunde liegen, möchte ich mich den Worten Weichselbaums (23), wohl des besten Kenners dieser Frage, anschließen, der sagt: „Vielleicht wird es später nach Auffindung exakter Methoden möglich sein, einerseits den Diplococcus pneumoniae in allen Fällen sicher vom Streptococcus pyogenes zu unterscheiden und andererseits die Frage zu lösen, ob der Diplococcus pneumoniae distinkte Varietäten bildet oder nicht.“

Im folgenden sollen nun die in den letzten 2 Jahren von mir beobachteten Fälle, die Streptokokken mit exquisit schleimigem Wachstum zum Erreger hatten, angeführt werden.

Auf ihr genaues bakteriologisches Verhalten wird erst später eingegangen.

Fall I. Foudroyant verlaufender Absceß an der rechten Halsseite, mit Schüttelfrost einsetzend. Bei der Inzision sehr spärliches hämorrhagisch-eiteriges Sekret.

Bakteriologisch: In dem nach Gram gefärbten Präparat grampositive Kokken in reichlich gewundenen, langen Ketten mit einer deutlichen Kapsel. Auf der Serumagarplatte zahlreiche schleimige bis linsengroße, fadenziehende Kolonien von morphologisch sich ebenso verhaltenden Mikroorganismen. Die Agarplatte blieb steril.

Fall II. Rechtsseitige Panophthalmitis mit äußerst stürmischem Verlauf, hochgradiger Schmerzhaftigkeit, Schwellung der Lider und ihrer Umgebung. Im Conjunctivalsack ein reichliches, schleimiges Sekret, das beim Versuch, dasselbe zu entfernen, sich in lange Fäden auszieht.

Bakteriologisch: In dem nach Gram gefärbten Präparat grampositive Kokken in sehr langen Ketten angeordnet.

Kulturell: Auf der Serumagarplatte bis über stecknadelkopfgroße, schleimig aussehende Kolonien von morphologisch identischen Mikroorganismen mit deutlicher Kapsel. Agarplatten steril.

Sowohl die Serumagarkulturen des Stammes I als auch des Stammes II waren nach 48 Stunden vollständig eingetrocknet und ließen keinerlei schleimige Beschaffenheit mehr erkennen. Versuche, die beiden Stämme weiter zu übertragen, mißlingen, so daß jede genauere Untersuchung derselben unterbleiben mußte.

Die übrigen drei zur Beobachtung gekommenen Fälle entstammen dem Obduktionsmaterial der Wiener allgemeinen Poli-

klinik. Unter den 7 im letzten Jahre obduzierten Fällen von otogener eiteriger Meningitis stellen dieselben fast 43 Proz. vor, die sämtlich durch einen in die Gruppe des *Streptococcus mucosus* einzureihenden Mikroorganismus bedingt waren.

Fall III. K., 57 Jahre¹⁾, Schnittwarenhändler. Seit 3 Jahren Schwerhörigkeit am rechten Ohr, seit 3 Monaten eiteriger Ohrenfluß. Operation am 22. Juni 1909. Dabei fand sich ein abgeschlossener Extraduralabsceß mit Granulationen am Sinus. Die bakteriologische Untersuchung des Eiters ergab *Streptococcus mucosus*.

Am 10. Juli leicht benommen, unter meningitischen Symptomen eingebracht. Neuerliche Operation mit Freilegung der mittleren Schädelgrube. Punktion des Schläfens ergibt keinen Absceß. Lumbalpunktion. Die bakteriologische Untersuchung des trüben Punktates ließ nebst reichlichen Eiterkörperchen grampositive Kokken in Ketten erkennen. Kulturell auf der Serumagarplatte schleimige Kolonien des gleichen Mikroorganismus.

Unter Delirien und dem Hinzutreten einer eiterigen, linksseitigen Keratitis starb Patient am 15. Juli.

Obduktionsbefund: Meningitis purulenta diffusa cum oedemate cerebri et meningum et hydrocephalo interno acuto. Thrombophlebitis sinus sigmoidei. Hyperaemia cerebri totius et meningum. Cicatrix tuberculosa apicis dextrae pulmonis cum adhaesionibus fibrosis pleurae. Endocarditis ulcerosa et polyposa ad valvulam tricuspidalem. Pneumonia lobularis disseminata lobi inferioris utriusque. Tumor lienis subacutus. Catarrhus chronicus ventriculi. Atheroma aortae. Degeneratio adiposa hepatis, degeneratio parenchymatosa renum et myocardii. Trepanatio processus mastoidei ante dies V facta (Freilegung der Schädelgruben).

Unter der Pia mater ein reichliches, gelbliches Exsudat, über das ganze Gehirn, die Konvexität und die Basis sich erstreckend, besonders massig am rechten Stirnhirn.

Der Thrombus, im rechten Sinus sigmoideus der Wand fest anhaftend, von graurötlicher Farbe.

In den Schnittpräparaten (Hämalaun-Eosin-Färbung) sieht man unter der erhaltenen Pia mater ein außerordentlich zellreiches Exsudat aus Eiterkörperchen, mit Hämalaun dunkelblau tingierten, gelappten Kernen bestehend, die in breiter Schicht in einem Fibrinnetz zwischen Pia mater und Gehirnrinde eingelagert sind. In den Gefäßen finden sich neben roten Blutkörperchen ebenfalls reichliche Ansammlungen von Eiterkörperchen.

In dem nach Gram-Weigert gefärbten Präparat sind reichlich grampositive Kokken teils in Diploform, teils auch in langen gewundenen Ketten auffindbar.

An der Valvula tricuspidalis fand sich, wie bereits im Obduktionsbefund erwähnt, eine Endocarditis polyposa et ulcerosa.

In dem stark hypertrophischen und dilatierten Herzen sitzt im rechten Ventrikel an der Valvula tricuspidalis, und zwar am mittleren Klappensegel eine über den ganzen Klappenrand sich erstreckende, polypöse Exkreszenz. Dieselbe ist über 3 cm lang und 1 cm breit, von mehr als Fingergliedgröße, und hat eine grobhöckerige Oberfläche. Neben derselben ragt noch eine zweite, ebenfalls polypöse, aber bedeutend kleinere Exkreszenz hervor. Auch am vorderen Klappensegel der Tricuspidalis findet sich eine ebensolche, fast 2 cm lange, aber nur schmal aufsitzende, gestielte Erhebung, die sich entlang der Sehnenfäden in den rechten Ventrikel hinein fortsetzt. Das Zentrum der ganzen Exkreszenz ist von einer erweichten, lockeren, deutlich fadenziehenden Masse gebildet.

1) Für die Ueberlassung der Krankengeschichten der drei folgenden Fälle erlaube ich mir Herrn Prof. G. Alexander aufs beste auch an dieser Stelle zu danken.

Histologisch (Hämalaun-Eosin, Weigerts Fibrinfärbung) bestehen die Exkreszenzen aus nekrotischen Massen, die sich mit Eosin lebhaft rot tingieren und teils zu einem Netzwerk, teils in Schollen angeordnet sind. An den Randpartieen der Thrombenmassen sind noch in Zerfall begriffene Kerne zu sehen, die zugrunde gegangenen polynukleären Leukocyten entsprechen. An vereinzelt Stellen findet man auch noch Anhäufungen roter Blutkörperchen, die aber in ihrer Form und Färbbarkeit stark verändert sind.

An dem nach Weigerts Fibrinfärbung gefärbten Schnitt läßt sich erkennen, daß ein großer Teil des Thrombus aus echtem, sich blaufärbendem Fibrin besteht, während die rot sich tingierenden Massen als größtenteils hyalin umgewandelte Massen aufgefaßt werden müssen.

Bei der bakteriologischen Untersuchung des steril entnommenen Eiters der Meningen fanden sich in dem nach Gram gefärbten Präparat grampositive Kokken, teils in Diploform, teils in sanft gewundenen Ketten bis zu 20 angeordnet. Dieselben zeigen in ihrer Form teils Ähnlichkeit mit dem Gonococcus, teils gibt es aber auch Formen, die sehr dem Diplococcus pneumoniae (Fränkel-Weichselbaum) gleichen (Lanzettform). Schon im Gram-Präparat war ein deutlich sichtbarer, ungefärbter, scharf begrenzter Hof, der wohl zweifellos einer echten Kapselbildung entspricht, zu sehen.

Genau denselben Befund ergab die bakteriologische Untersuchung des Inhaltes einer polypösen Exkreszenz an der Valvula tricuspidalis.

Fall IV. B. Seit 4 Monaten Schmerzen im linken Ohr, dann im Warzenfortsatz mit halbseitigem Kopfschmerz. Operiert auf einer anderen Station. Danach starke eitrigte Sekretion der Wunde. Seit 8 Tagen sehr starke Kopfschmerzen, Erbrechen.

Zweite Operation am 19. Sept. Nach Freilegung des Warzenfortsatzes, Eröffnung der hinteren und mittleren Schädelgrube reichliche Eiterung aus der Bulbusgegend, der Sinus verdickt, hart, vollkommen thrombosiert bis zur Mittellinie des Schädels; Anlegung einer Jugularis-Hautfistel.

Die bakteriologische Untersuchung des im Thrombus enthaltenen Eiters ergab den Befund von grampositiven, teils in Diploform, teils in Ketten auftretenden Mikroorganismen mit breiten ungefärbten Höfen, die auf der Serumagarplatte das gleiche wie im Fall III beschriebene Wachstum zeigten, während die Agarplatten steril blieben.

Relatives Wohlbefinden. Am 12. Okt. meningitische Symptome.

Lumbalpunktion. Bakteriologisch: Streptococcus mucosus.

Exitus am 14. Okt.

Obduktionsbefund: Meningitis purulenta diffusa praecipue hemisphaerae sinistrae cum hydrocephalo et oedemate acuto et hyperaemia cerebri et meningum. Thrombophlebitis sinus transversi sinistri. Pneumonia lobularis disseminata. Cicatrix tuberculosa cum adhaesionibus fibrosis apicis dextrae pulmonis. Tumor lienis acutus. Degeneratio parenchymatosa viscerum. Trepanatio processu mastoidei (mit Freilegung der mittleren und hinteren Schädelgrube) ante dies XXV facta.

Histologisch findet man in den durch die Hirnhäute und die Randpartieen des Gehirns angefertigten, mit Hämalaun-Eosin gefärbten Schnitten unter der Pia mater ein außerordentlich zellreiches aus Eiterkörperchen und aus Fibrinauflagerungen bestehendes Exsudat. Dasselbe erstreckt sich entlang der Pia zwischen die einzelnen Windungen des Gehirns hinein. Die oberflächlichen Schichten des Gehirns selbst sind aufgelockert und ödematös.

Die bakteriologische Untersuchung des Eiters der Meningen ergab den gleichen Befund, wie das intra vitam untersuchte Lumbalpunkat.

Aus dem ziemlich beträchtlichen Milztumor konnten sowohl auf Agar als auf Serumagarplatten keine Mikroorganismen kultiviert werden. Ebenso negativ verlief die bakteriologische Untersuchung des Herzblutes.

Fall V. R. St. 59-jähr. Frau. Im Mai 1909 linksseitige Otitis media acuta; nach 8 Tagen Sistierung der Eiterung, doch Fortbestehen der linksseitigen Kopfschmerzen, die sich zum Schlusse über den ganzen Kopf erstreckten.

Operation am 5. Nov. Die Zellen des Warzenfortsatzes und das Antrum mit Eiter erfüllt. Sinus sigmoideus thrombosiert, Eröffnung desselben und Entfernung des Thrombus. Anlegung einer Jugularis-Hautfistel.

Im Eiter und Lumbalpunktat bakteriologisch: *Streptococcus mucosus*.

Exitus am 15. Nov. unter meningitischen Symptomen.

Obduktionsbefund: Meningitis purulenta diffusa inprimis ad convexitatem cerebri cum oedemate et hyperaemia meningum et cerebri totius. Cicatrix tuberculosa apicis dextrae et sinistrae pulmonum. Cor adiposum. Atherosclerosis aortae minoris gradus. Tumor lienis acutus. Degeneratio parenchymatosa myocardii, hepatis, lienis renumque. Trepanatio processu mastoidei (mit Freilegung der mittleren und hinteren Schädelgrube und Eröffnung des Sinus sigmoideus) ante dies X facta.

Histologisch findet sich auch in diesem Falle ein außerordentlich zellreiches, entlang der Pia mater sich erstreckendes, aus Eiterkörperchen bestehendes Exsudat mit Oedem der Gehirnrinde.

Die bakteriologische Untersuchung des Meningealeiters post mortem ergab den gleichen Befund wie die des Lumbalpunktates.

Der Milzsaft erwies sich, wenigstens mit den verwendeten Nährböden (Agar und Serumagar) als steril.

Wenn ich also die Ergebnisse der vorläufigen bakteriologischen Untersuchung der 3 Fälle von diffus eiteriger Meningitis nach Otitis media zusammenfasse, so ergibt sich zunächst für alle dieselbe Aetiologie.

In allen 3 Fällen wurde ein grampositiver, bald mehr in Diploform, bald mehr in längeren Ketten auftretender Mikroorganismus gefunden, der mehr oder weniger deutliche Kapseln besaß. Alle 3 Stämme zeigten ein exquisit schleimiges Wachstum, und zwar nur auf der Serumagarplatte, das dem Wachstum des *Bacillus Friedländer* vollständig glich, mit der Tendenz der Kulturen rasch einzutrocknen.

Während Stamm III auch auf Agar ein wenn auch kümmerliches Wachstum zeigte, konnten Stamm IV und V auf gewöhnlichem Agar nicht zum Wachstum gebracht werden.

Wenn wir nun auf die genaueren Details der Untersuchung eingehen und zuerst die Morphologie der drei Stämme näher betrachten wollen, so können wir die Stämme wohl in dieser Richtung hin gemeinsam behandeln.

Alle 3 Stämme waren grambeständig. Sie zeigten in ihrem Auftreten verschiedene Formen, indem sie bald in der Form des *Gonococcus*, bald in der des *Diplococcus pneumoniae*, bald in der des *Streptococcus* in Ketten von 6—12 Gliedern auftraten.

Ein bestimmter morphologischer Typus für die 3 Stämme läßt sich keineswegs aufstellen. Insbesondere bei den längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten Stämmen tritt dieses Moment besonders in Erscheinung. So findet man auf denselben Nährböden bald nur Formen, die an den *Gonococcus* erinnern, bald solche,

die mit dem *Diplococcus pneumoniae* eine große Aehnlichkeit haben, bald aber auch nur lange Ketten von 8—20 Gliedern.

Jedenfalls vermehren sich alle 3 Stämme durch Teilung in einer auf die gedachte Achse der Kette senkrecht stehenden Richtung.

Ebenso lassen sich auch im Tierkörper keine konstanten morphologischen Kriterien feststellen.

Der Frage der Kapselbildung dieser beschriebenen 3 Stämme wurde ein besonderes Augenmerk zugewendet, boten ja die ersten erhobenen Befunde Anhaltspunkte genug dafür, daß es sich um den von Schottmüller beschriebenen *Streptococcus mucosus* handelt, für den ja auch — ich nenne nur Seitz (5) — die Bezeichnung *Streptococcus mucosus capsulatus* gebraucht wird.

Während sich in den nach Gram gefärbten Präparaten des Falles III K. und IV B. nur ungefärbte breite, lichte Höfe fanden, so konnten im Falle V R. St. schon in dem nach Gram gefärbten Präparat grampositive, intensiv blau gefärbte Kokken mit einem ziemlich breiten, helleren, bläulich gefärbten Hof, der nur als Kapsel bezeichnet werden kann, gefunden werden.

Es wurde nun versucht, aus den verschiedensten Kulturen und nach den zahlreichen Angaben die Kapseln in allen drei Fällen sicher nachzuweisen. Am schönsten gelang es wohl und wohl auch am einfachsten nach der von Hamm (15) angegebenen Methode, indem die Kulturmassen einfach in einem hängenden Tropfen einer 10-proz. Kollargollösung betrachtet wurden. Die hellen Kapseln mit ihrem dunklen Coccus als Inhalt hoben sich von dem tiefdunklen Grund außerordentlich deutlich ab. Es ist aber zu dieser Betrachtungsweise gar nicht ein hohlgeschliffener Objektträger nötig. Eine Oese der zu untersuchenden Kultur in die Kollargollösung auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckglas bedeckt, gestattet ebenfalls die Sichtbarmachung der Kapseln in außerordentlich deutlicher Weise.

Während Hamm, der zuerst statt der Kollargollösung chinesische Tusche verwandte, mit dieser die Kapseln nicht zur Ansicht bringen konnte, versuchte ich durch verschiedene Modifikationen nach der von Burri (16) zu anderen Zwecken angegebenen Methode ebenfalls die Kapseln zur Ansicht zu bringen. Ich erhielt jedoch keine befriedigenden Resultate. Die besten und auch einwandfreiesten Bilder unter den Färbemethoden gab die Giemsa-Färbung, die schon Wirtz (18), der über einen Fall von Conjunctivitis mit dem *Streptococcus mucosus* als Erreger berichtete, mit gutem Erfolg anwandte. Die bläulichrot gefärbten Kapseln schlossen als breiter Hof die intensiv dunkel gefärbten Kokken ein.

Auch mit wässerigem Thioninblau ließen sich die Kapseln, wie es Wittmaak (13) angab, darstellen. Ob aber die Ansicht des gleichen Autors, der vermeint, in dieser Färbungsmethode ein Unterscheidungsmerkmal gegen den *Diplococcus lanceolatus* zu besitzen, seine Richtigkeit hat, möge dahingestellt bleiben.

Zu einer ganz anderen Ansicht gelangt Schumacher (19) bei seinen Untersuchungen des *Streptococcus mucosus* der verschiedensten Herkunft. „Die Färbung der Kapsel“ — sagt er — „war oft schwierig und von Zufälligkeiten abhängig. Die vielen Färbemethoden lassen schließen, daß auch andere Untersucher kein konstantes Resultat erhielten. Diese teilweise feinen Methoden gaben kein wesentlich besseres und sicheres Resultat als die einfache Färbung mit Gentianaviolett, Fuchsin oder Methylenblau bei vorsichtiger Fixierung mit Alkohol und Betrachtung im Wassertropfen.“

Besonders dem letzten Satze Schumachers, daß eine vorsichtige Fixierung die Resultate beträchtlich verbessert, möchte ich mich anschließen und die Fixierung über der Flamme vollständig für diese Zwecke von der Hand weisen.

Bedeutend verbessert werden die Resultate der Kapsel-färbung durch Einhaltung der Vorschriften Hamms, nämlich 1) Aufschwemmung in Serum und 2) schonende Verteilung des Materials, wobei ich auf den zweiten Punkt besonderes Gewicht legen möchte.

In allen Präparaten umgab die Kapsel die Organismen in breiter Hülle und konnten Einschnürungen der Kapsel zwischen den Gliedern einer Kette nicht gesehen werden. Mitunter fanden sich auch Kapseln, die keine deutlich erkennbaren Mikroorganismen mehr enthielten. Auch bei der Betrachtung in Kollargollösung im hängenden Tropfen umgab die Kapsel auch längere Ketten in ihrer Gänze, ohne eine Segmentierung oder Einschnürung derselben erkennen zu lassen.

Um die kulturellen Ergebnisse übersichtlicher darzustellen, sind in der folgenden Tabelle (p. 401 u. 402) die Wachstumseigentümlichkeiten der 3 Stämme auf verschiedenen Nährböden zusammengestellt.

Wenn wir die Ergebnisse der kulturellen Untersuchung zusammenfassen, so sind folgende Charakteristika aller 3 Stämme hervorzuheben: Schleimig-fadenziehende Kolonien, die zu Rasen konfluieren, sehr rasch eintrocknen, sich ausschließlich auf Serumagar bei 24-stündiger Ueberimpfung weiterzüchten lassen, mit Säurebildung auf einer größeren Anzahl kohlehydrathaltiger Nährböden. Ferner geht aus der Tabelle hervor, daß der Stamm III K. ein besseres Wachstum zeigt, wie die beiden anderen Stämme (IV B. und V R. St.), worauf sicherlich die geringen Differenzen in der Säurebildung zurückzuführen sind. Ein wesentlicher Unterschied gegenüber den beiden anderen Stämmen kann aber darin nicht erblickt werden.

Was die Tierpathogenität der genau untersuchten Stämme III, IV, V betrifft, so geht aus den im folgenden teilweise wiedergegebenen Protokollen hervor, daß dieselben bei geringeren Dosen nur für Mäuse, und zwar bei subkutaner und intraperitonealer Injektion pathogen sind.

Ferner ergibt sich aus den Versuchen im Falle III K., daß dem Exsudat eine höhere schädliche Wirkung als der Aufschwemmung aus den Kulturen zukommt.

Im Falle III K. wurde auch versucht, die Virulenz des Stammes durch wiederholte Tierpassagen zu steigern.

In geringem Grade konnte dieselbe auch erreicht werden, indem in der 3. und 4. Tierpassage die Mäuse bei der gleichen Injektionsdosis schon nach 24 Stunden zugrunde gingen, während sie anfangs mehr als 48 Stunden am Leben blieben.

In der 7. Tierpassage gelang es mit der halben Dosis eine Maus nach 24 Stunden, die zweite nach 48 Stunden zum Verenden zu bringen.

Ganz kurz möchte ich nur auf die ausgedehnte Peritonitis, wie wir sie bei Meerschweinchen erhielten, hinweisen. Dieselbe zeigt teils fibrinöse Auflagerungen an der Leber und Milz, teils ein dickschleimiges, fadenziehendes, außerordentlich reichliches Exsudat, wie man es sonst wohl kaum zu sehen bekommt.

	Nährboden ¹⁾	Fall III K.	Fall IV B.	Fall V R. St.
1	2-proz. Agarplatte und 2-proz. schiefer Agar mit reichlichem Kondenswasser	Außerst spärliches Wachstum in Form kleiner, stecknadelkopfgroßer, schleimiger Kolonien	Trotz wiederholter Versuche kein Wachstum	
2	2-proz. Agarplatte mit ca. 2 ccm Ascitesflüssigkeit versetzt	Ausgezeichnetes Wachstum in Form zusammenhängender, schleimiger, fadenziehender Rasen. Nach 48 Std. aber die Kolonien fast vollständig eingetrocknet	Wächst genau so wie Fall III K., nur beginnt die Eintrocknung schon nach 24 Std.	Das gleiche Wachstum wie Fall IV B. Ebenfalls sehr rasches Eintrocknen
3	Loefflers Diphtherieröhrchen	Nach 24 Std. kleine, stecknadelkopfgroße Kolon., durch Zusatz von menschl. Ascitesflüssigkeit deutl. Verbesserung des Wachst.	Wie Fall III K.	Wie Fall III K.
4	Bouillon	Kein Wachstum	Kein Wachstum	Kein Wachstum
5	Traubenzuckerbouillon	Nach 48 Std. diffuse Trübung	Wie Fall III K.	Wie Fall IV B.
6	Glyzerinbouillon	Die gleichen Verhältnisse wie auf Traubenzuckerbouillon		
7	Bouillon mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit	Deutliches Wachstum mit diffuser Trübung des Nährbodens		
8	Glyzerinagar	Alle 3 Stämme geringes Wachstum in Form kleinster punktförmiger Kolonien		
9	Glyzerinagar mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit	Reichliches und schleimiges Wachstum wie auf der Serumagarplatte		
10	Traubenzuckeragar	Nach 24 Std. gutes Wachstum. Die Kolonien aber schon nach 18 Std. fast vollständig eingetrocknet	Etwas weniger gut gewachsen als Fall III K. Sonst wie dieser	Wie Fall III K.
11	Traubenzuckeragar mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit	Ausgezeichnetes schleimiges Wachstum		
12	Gelatineplatte	Kein Wachstum auch nach längerer Beobachtung		
13	Gelatineplatte mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit	Kein Wachstum		
14	Gelatinstech	Kein Wachstum		
15	Milch	Kein Wachstum		
16	Milch mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit	Schwachtes Wachstum aller 3 Stämme mit Kettenbildung. Auch nach langer Zeit (bis 6 Wochen Beobachtung) keine Koagulation		
17	Blutagarplatte nach Schottmüller	Reichlich schleimiges, zusammenfließendes Wachstum in Form saftiger Rasen als schmutzig-grauer Belag nach 24 Stunden. Nach längerer Zeit (48 Stdn.) ein grünlischer Farbenton mit Aufhellung des Nährbodens, die nach dem Entfernen der Kulturmassen sichtbar wird	Genau so wie Fall III K. und IV B. Nur nicht so außerordentlich reiches Wachstum	

1) Sämtliche kulturelle Angaben beziehen sich auf die Thermostatentemperatur von 37° C. Nur die Gelatinenährböden wurden bei einer Zimmertemperatur von 20° C beobachtet.

Generated on 2019-09-14 18:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b780670
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Nährboden	Fall III K.	Fall IV B.	Fall V R. St.
18	Blutbouillon	Trübung mit schmutzig, graugrüner Färbung. Das sich absetzende Blut zeigt eine bräunlich-violette Färbung und bildete kleine Schollen		
19	Lackmusmolke nach Petruschky	Alle 3 Stämme kein Wachstum		
20	Lackmusmolke mit Zusatz von Serum	Alle 3 Stämme deutliches Wachstum mit beginnender Säurebildung, die nach 48 Std. intensiv wird; dabei ein reichlicher flockiger Bodensatz. Die Säurebildung bleibt auch bei längerer Beobachtung bestehen		
21	Anaërob auf Agar	Kein Wachstum		
22	Anaërob auf Serumagar	Deutliches Wachstum	Beide Stämme zeigen gutes Wachstum, doch etwas geringer als Stamm III K.	
23	Inulinnährboden nach Rüdiger (ohne Serumzusatz)	Deutliches, wenn auch geringes Wachstum; doch trocknen die Kolonien schon innerhalb 10 Stunden vollständig ein; der Nährboden bleibt blau		
24	Inulinnährboden nach Rüdiger (mit Serumzusatz)	Ausgezeichnetes Wachstum, besser als auf bloßem Serumagar, nach 24 Stunden Spur Rötung d. Nährbodens in geringerem Grade entlang d. Impfstrich	Gutes Wachstum. Geringe Rötung. Alle 3 Stämme zeigen schon nach 10 Stunden ein deutliches Wachstum	
25	Inulinnährboden nach Salomon	Ausgezeichnetes Wachstum mit Spur Rötung	Gutes Wachstum; beide Stämme röten besser als Stamm III K. d. Nährboden	
26	Inulinnährboden nach Levy	Keine Koagulation.		
27	Saccharosenährboden nach Salomon	Sehr gutes Wachstum. Nach 16 Stunden reichliche Säurebildung, nach 48 Stunden Rötung des ganzen Nährbodens	Gutes Wachstum, nur geringe Säurebildung	
28	Lävulosenährboden nach Salomon	Genau so wie auf Saccharose		
29	Laktosenährboden nach Salomon	Sehr gutes Wachstum; nach 24 Stunden Rötung des ganzen Nährbodens	Säurebild. nur entlang d. Impfstrich; sonst wie Fall III K. und IV B.	
30	Dextrosenährboden nach Salomon	Genau so wie auf Laktose		
31	Mannitnährboden nach Salomon	Ausgezeichnetes Wachstum mit einer Spur Säurebildung entlang dem Impfstrich	Wie Stamm III K., nur etwas deutlichere Rötung	Wie Stamm III K. u. IV B., doch nach 24 Stdn. absolut keine Rötung
32	Inulinnährboden nach Salomon	Ausgezeichnetes Wachstum mit einer Spur Rötung	Ausgezeichnetes Wachstum mit deutlicher Rötung entlang dem Impfstrich	
33	Galaktosenährboden nach Salomon	Sehr gutes Wachstum mit starker Säurebildung		
34	Arabinosenährboden nach Salomon	Reichliches Wachstum. Alle 3 Stämme bilden auch bei längerer Beobachtung keine Säure		
35	Maltosenährboden nach Salomon	Sehr gutes Wachstum; Säurebildung entlang dem Impfstrich		
36	Mannosenährboden nach Salomon	Sehr gutes Wachstum; nur geringe Säurebildung		
37	Isodulcitnährboden nach Salomon	Bei sehr gutem Wachstum keine Säurebildung		
38	Raffinosenährboden nach Salomon	Sehr gutes Wachstum; deutliche Säurebildung entlang dem Impfstrich		

Auch die Phlegmone, die wir bei Mäusen nach subkutaner Injektion erhielten, zeichnet sich durch den fadenziehenden, viskösen Charakter des Eiters aus.

Tierpathogenität.

Stamm III K.

6. Aug. Je $\frac{1}{4}$ Normalöse einer 24-stündigen Serumagarkultur in $\frac{1}{2}$ ccm Kochsalz aufgeschwemmt, 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Maus 1 † in der Nacht vom 7.—8. Aug. Diffuse Peritonitis mit eitrigem, fadenziehendem Exsudat. Milztumor, Degeneration der Organe.

Maus 2 lebt.

10. Aug. $\frac{1}{2}$ Normalöse einer 24-stündigen Serumagarkultur in $\frac{1}{2}$ ccm NaCl einer Maus intraperitoneal injiziert.

† nach 24 Stunden mit diffuser, eitriger Peritonitis.

6. Nov. $\frac{1}{4}$ Normalöse einer 24-stündigen Serumagarkultur in $\frac{1}{2}$ ccm Kochsalz einer Maus subkutan injiziert.

† am 16. Nov. (nach 10 Tagen). Phlegmone an der Injektionsstelle.

22. Nov. 1 Normalöse in 1 ccm NaCl einer 24-stündigen Serumagarkultur einem Kaninchen intravenös injiziert.

Bleibt am Leben.

Einem zweiten Kaninchen wurden zu wiederholten Malen große Dosen (bis zu 30 Normalösen) intravenös injiziert.

Dasselbe ging 13 Tage nach der letzten Injektion mit Degeneration der Organe und Nekrosen in der Milz zugrunde.

30. Dez. Je 2 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur in 1 ccm NaCl 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Maus 1 eingegangen in der Nacht vom 1.—2. Jan.

Peritonitis mit fadenziehendem Exsudat, Milztumor, Degeneration der Organe.

Maus 2 eingegangen in der Nacht vom 2.—3. Jan.

Der gleiche Obduktionsbefund.

1. Tierpassage.

30. Dez. Je 2 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur in 1 ccm NaCl 2 Mäusen subkutan injiziert.

Maus 1 eingegangen in der Nacht vom 2.—3. Jan.

Ohne Befund.

Maus 2 eingegangen am 10. Jan. Großer Absceß am Rücken mit Milztumor und Degeneration der Organe.

2. Jan. 1 Normalöse Exsudat in 1 ccm Bouillon intraperitoneal einer Maus injiziert.

Eingegangen in der Nacht vom 2.—3. Jan. an diffuser Peritonitis mit fadenziehendem Exsudat.

3. Jan. Je 2 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur der ersten Tierpassage in 1 ccm Bouillon zwei Mäusen intraperitoneal injiziert.

Beide eingegangen am 5. Jan. mit diffuser Peritonitis. Exsudat schleimig, fadenziehend, Milztumor, Degeneration der Organe.

2. Tierpassage.

6. Jan. Je 3 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur der zweiten Tierpassage in 1 ccm Bouillon 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen in der Nacht vom 6.—7. Jan.

Diffuse Peritonitis mit schleimigem Exsudat; Milztumor, Degeneration der Organe.

3. Tierpassage.

8. Jan. Je 2 Normalösen in 1 ccm Bouillon einer 24-stündigen Serumagarkultur der dritten Tierpassage 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Maus 1 eingegangen in der Nacht vom 8.—9. Jan.

Maus 2 eingegangen am 9. Jan. 12 Uhr mittags.

Beide zeigten eine diffuse Peritonitis mit schleimigem Exsudat, Milztumor, Degeneration der Organe.

4. Tierpassage.

6. Jan. 4 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur in 2 ccm Bouillon der 2. Tierpassage einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Bleibt gesund.

8. Jan. 4 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur der 3. Tierpassage in 2 ccm Bouillon einem Kaninchen intravenös injiziert.

Bleibt gesund.

10. Jan. 10 Normalösen einer 24-stündigen Serumagarkultur der 4. Tierpassage in 4 ccm Bouillon einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen 11. Jan. Hochgradigste, diffuse Peritonitis mit sehr reichlichem (mehr als 10 ccm), stark fadenziehendem, schleimigem Exsudat. Fibrinauflagerungen auf der Leber. Hochgradiger Milztumor. Degeneration der Organe.

5. Tierpassage.

11. Jan. Je 1 ccm Eiter der 5. Tierpassage 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen am 12. Jan. an diffuser Peritonitis.

6. Tierpassage.

11. Jan. Je 1 ccm Eiter der 5. Tierpassage 2 Mäusen subkutan am Rücken injiziert.

Maus 1 eingegangen am 12. Jan. mit einer ausgedehnten Phlegmone am Rücken.

Maus 2 eingegangen am 14. Jan.; ebenfalls über den ganzen Rücken sich erstreckende Phlegmone.

11. Jan. $2\frac{1}{2}$ ccm Eiter der 5. Tierpassage einem Meerschweinchen subkutan injiziert; bleibt gesund.

11. Jan. $2\frac{1}{2}$ ccm Eiter der 5. Tierpassage einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen am 13. Jan.

Diffuse Peritonitis mit sehr reichlichem Exsudat von visköser Beschaffenheit, Milztumor, Degeneration der Organe.

13. Jan. Je 1 ccm Exsudat der 6. Tierpassage 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen 14. Jan. Diffuse Peritonitis schleimiges Exsudat, Milztumor, Degeneration der Organe.

13. Jan. $1\frac{1}{2}$ ccm Exsudat der 6. Tierpassage einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen am 14. Jan.

Peritonitis mit sehr reichlichem, schleimigen Exsudat. Milztumor, Degeneration der Organe.

7. Tierpassage.

14. Jan. Je 1 Normalöse einer 24-stündigen Serumagarkultur in $\frac{1}{2}$ ccm Bouillon der 6. Tierpassage 2 Mäusen intraperitoneal injiziert.

Maus 1 eingegangen 15. Jan. an Peritonitis mit fadenziehendem Eiter.

Maus 2 eingegangen 16. Jan. Der gleiche Befund.

14. Jan. 1 ccm Exsudat der 7. Tierpassage einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert.

Eingegangen 24. Jan. Fibrinös-eitrige Peritonitis mit reichlich schleimigem Exsudat. Milztumor, Degeneration der Organe.

Die Protokolle der Tierversuche des Stammes IV B. und V R. St. anzuführen, will ich der Kürze halber unterlassen und nur bemerken, daß sich die Ergebnisse derselben den Resultaten im Falle III K. anschließen.

Da mir ein mit insgesamt 128 Normalösen, die in einzelnen Dosen während einiger Monate intravenös injiziert worden waren, vorbehandeltes Kaninchen zur Verfügung stand, versuchte ich durch Agglutination die Stämme voneinander und gegenüber den anderen Streptokokkenarten abzutrennen.

Die Agglutinationsversuche, die mehrmals wiederholt und makroskopisch durchgeführt wurden, ergaben aber keinerlei positives Resultat, indem einerseits der Agglutinationstiter des Immuntieres ein sehr niedriger war, andererseits auch Spontanagglutinationen in den Kontrollen auftraten.

Ich glaube, daß meine wenigen Agglutinationsversuche die Richtigkeit der Ansicht Nieters (24), Neufelds (31) und Baumanns (25) bestätigen, die die Agglutination als ungeeignet für die Differenzierung der Streptokokken wegen des Fehlens einer bestimmten Gesetzmäßigkeit erachten.

Aus den im vorstehenden enthaltenen Befunden geht wohl mit Sicherheit hervor, daß es sich in allen drei von mir genau untersuchten Stämmen wohl zweifellos um den von Schottmüller aufgestellten Typus des Streptococcus mucosus handelt.

Freilich zeigen, wenn wir dem Ausdruck Streptococcus mucosus die von Schottmüller erhobenen Kriterien zugrunde legen, alle

3 Stämme manche Abweichungen von diesem Typus, und auch mit den übrigen in der Literatur vorhandenen Angaben über den Streptococcus mucosus finden sich manche Differenzen.

Obwohl morphologisch eine ziemliche Identität unserer 3 Stämme mit denen Schottmüllers besteht, so decken sich doch nicht auch in dieser Hinsicht die Befunde in allen Punkten.

Betreffs der Kapselbildung meiner 3 Stämme muß wohl ausgesagt werden, daß, wenn auch nicht auf allen Nährböden, so doch in allen 3 Stämmen unter günstigen Umständen sich solche in einwandfreier Weise darstellen ließen.

Bedeutende Differenzen ergaben sich in bezug auf das kulturelle Verhalten der 3 Stämme mit manchen in der Literatur niedergelegten Angaben. Während der Fall III K. einen Mikroorganismus als Erreger enthielt, der auf Agar ein, wenn auch sehr spärliches Wachstum zeigte, war es im Falle IV B. und im Falle V R. St. bei wiederholten Versuchen nicht möglich, denselben auf Agar zum Wachstum zu bringen. Doch kann dieses Verhalten keineswegs einen Grund zur Abtrennung dieser Stämme vom Typus Schottmüller geben. Ähnliche Angaben finden sich bereits in der Literatur.

So beschrieben mehrere Autoren nach Schottmüller einen Mikroorganismus als Streptococcus mucosus, der im Gegensatz zu unserem Fall IV B. und V R. St. auf Agar zum Wachstum gebracht werden konnte, unter anderem Wirts (18), der einen solchen aus einer Conjunctivitis züchtete, Scheuer (32), der einen Stamm aus einer Otitis media, Schumacher (19), der 11 Stämme, davon auch einen aus einer eitrigen Meningitis nach einer Otitis media untersuchte, Bürger (17), der denselben Streptococcus mucosus capsulatus nannte und unter anderen einen Stamm untersuchte, der aus dem Lumbalpunktat einer Meningitis ohne Autopsie stammte. Andererseits finden sich wieder auch gegenteilige Angaben, so z. B. bei Süpfle (27), der einen nicht auf Agar wachsenden Stamm aus einer rekurrierenden Otitis media, die sich über ein Vierteljahr hinzog, in den Händen hatte, und auch bei Levy R. (22), der einen ähnlichen Stamm aus der Sammlung von Král in Prag, der ebenfalls aus einem eitrigen Ohrprozeß gewonnen war, untersuchte.

Auch in ihrem Verhalten auf Milch zeigten die 3 Stämme ein merkwürdiges Bild, indem sie in doppelter Hinsicht von den Angaben Schottmüllers abwichen; sie zeigten auf diesem Nährboden überhaupt kein Wachstum, infolgedessen blieb auch die Koagulierung der Milch, die Schottmüller innerhalb 24 bis 48 Stunden beobachtet hatte, aus. Aber wie aus der Tabelle hervorgeht, schlug auch der Versuch, die 3 Stämme auf Milch durch Serumzusatz zum Wachstum zu bringen und auf diese Weise die Koagulierung des Nährbodens herbeizuführen, fehl. Wohl konnte durch Serumzusatz ein Wachstum der Kokken mit ziemlich langer Kettenbildung erreicht werden, der Nährboden aber wurde auch nach wochenlanger Beobachtung nicht koaguliert.

Diese Befunde stehen im Widerspruch mit denen von Beitzke und Rosenthal (26), Schumacher, Süpfle u. a., die bei einer Reihe von Stämmen innerhalb von 24—48 Stunden konform den Angaben Schottmüllers eine Gerinnung der Milch fanden; hingegen scheinen die Befunde von Wirts, der erst nach 4×24 Stunden eine solche erhielt, zu Ergebnissen anderer Autoren hinüberzuführen, die keine Koagulation der Milch (Bürger) beobachten konnten. Ja Süpfle be-

schreibt einen schwer züchtbaren Kapsel-Streptococcus, der auf Milch nur ein sehr kümmerliches Wachstum zeigte, und auf den gewöhnlichen Nährböden, Agar, Glycerinagar, Gelatine und Bouillon, überhaupt nicht gedieh.

Auf Bouillon zeigten unsere 3 Stämme niemals ein Wachstum. Es schließen sich diese Befunde den Angaben Schottmüllers und Schumachers an, die auf diesem Nährboden nur ausnahmsweise ein Wachstum erhielten. Und wenn Bürger angibt, daß diese Mikroorganismen auf Fleischinfus mit 2—2½ Proz. Pepton gedeihen, so beobachtete doch auch er einige Generationen, die keinerlei Neigung dazu zeigten.

Auf Gelatine verhielten sich meine Stämme den Angaben Schumachers konform, weichen aber von den Angaben dieses Autors wieder insofern ab, daß sie auf Glycerinagar kleine punktförmige Kolonien erkennen ließen.

Das gleiche gilt für das Verhalten auf Traubenzuckeragar.

Auf der Blutagarplatte bildete sich bei außerordentlich reichlichem Wachstum ein ungefärbter oder grauer Belag, der Nährboden selbst nahm eine grüngraue Farbe an, wie man nach Entfernung der Kulturmassen erkennen konnte. Je nach der Reichlichkeit des zugesetzten Blutes verschwand die rote Farbe des Nährbodens an den Stellen, wo sich Kulturen zeigten, bald schneller, bald langsamer, um dem obenerwähnten, schmutzig-graugrünen Farbenton Platz zu machen. Eine eigentliche Aufhellung des Nährbodens, eine Hämolyse, ließ sich auch nach längerer Beobachtung nicht konstatieren.

Auch auf Blutbouillon war das Verhalten analog: Keine Hämolyse, zuerst grünlicher Farbenton, später eine schmutzig-graue Farbe.

Dieses in den vorhergehenden Sätzen präzisiertere Verhalten der 3 Stämme auf den Blutnährböden stimmt mit den Angaben Schumachers überein, während Schottmüller von einem graugrünen Belag spricht.

Auch Süpfle fand bei seinem schon mehrmals erwähnten, schwer züchtbaren pathogenen Kapsel-Streptococcus keine Hämolyse und bezeichnet die Farbe seiner Kolonien auf der Blutagarplatte als braun.

Doch glaube ich, daß diese kleinen, sich wohl aus der subjektiven Beobachtung ergebenden Differenzen nicht hinreichend sind, um sie von Schottmüllers Streptococcus mucosus abzutrennen.

Auch über das Verhalten der aus den verschiedenen Krankheitsprozessen stammenden Streptokokken auf kohlehydrathaltigen Nährböden herrscht keine vollständige Uebereinstimmung.

Die Eigenschaft der Säurebildung aus Kohlehydraten für unsere 3 Stämme durchzuprüfen, erschien mir daher aus mehreren Gründen notwendig. Einmal versuchten damit verschiedene Autoren die Verwandtschaft dieser kapselbildenden Streptokokken mit dem Pneumococcus Fraenkel-Weichelbaum herzustellen, dann aber auch wurden von Salomon (21) zwei Gruppen des Streptococcus mucosus unterschieden, je nach ihrem Verhalten auf den kohlehydrathaltigen Nährböden.

Ferner gaben bereits Rüdiger (20), dann Levy (22) einen inulinhaltigen Nährboden zur Differentialdiagnose der Streptokokken und Pneumokokken an.

Am eingehendsten aber beschäftigte sich Salomon (21) mit diesen differentialdiagnostischen Fragen in seiner Arbeit „Zur Unter-

suchung der Streptokokken durch kohlehydrathaltige Nährböden“, der eine große Anzahl von Kohlehydraten in 10-proz. Lösung in Lackmustinktur auf einen 3-proz. Agar mit reichlichem Serumzusatz durchprüfte.

Hervorgehoben muß gleich hier werden, daß er bei Wiederholung der Versuche keine konstanten Resultate erhielt. Während Streptococcus mucosus anfangs nur vier verschiedene Arten von Kohlehydraten angriff, wurden später gar elf von diesen Mikroorganismus im Sinne einer Säurebildung beeinflusst.

Zum Schlusse seiner Arbeit stellt er sowohl den Streptococcus mucosus als auch den Pneumococcus (bildet auf Kohlehydrat-Lackmus-Ascitesagar keine Säure!) als einander gleichwertig gegenüber, macht aber beim ersteren noch 2 Unterabteilungen: 1) Säurebildung aus Glycerin, Arabinose und Mannit, unverändert bleiben Raffinose und Amylum solubile; 2) greifen nach 24 Stunden keinen, nach 48 Stunden selten einen der Nährböden an, von denen Dextrose anscheinend bevorzugt wird.

Wenn wir nun die Fähigkeit unserer 3 Stämme, aus Kohlehydraten Säure zu bilden, betrachten, so kommt sie denselben für verschiedene Arten der Kohlehydraten unbedingt zu. In den nach den Angaben Salomons hergestellten Nährböden trat eine Säurebildung aus Dextrose, Lävulose, Laktose und Saccharose auf.

Während auf Saccharose Stamm III K. und IV B. noch deutlich Säure bildeten, war diese Eigenschaft bei dem Stamm V R. St. schon in bedeutend geringerem Grade vorhanden.

Salomon erhielt bei seinen Stämmen auf Inulin gar keine, wir nur bei Zusatz von Serum eine schwache Säurebildung.

Ebenso stimmen unsere Beobachtungen auf Mannit mit den Angaben des gleichen Autors überein, der für diese Zuckerart teilweise Säurebildung fand.

Widersprechende Angaben finden sich bezüglich des Verhaltens der Streptokokken und Pneumokokken auf Lackmus-Milchzucker-Agar.

Ohne auf die einzelnen Angaben (Beitzke und Rosenthal (26), Fraenkel (33), Schultze, Levy, Nieter etc.) näher einzugehen, will ich diesbezüglich für meine 3 Stämme nur bemerken, daß sie auf diesen Nährboden nur ein sehr geringes Wachstum zeigten; dabei blieb auch die Farbe des Nährbodens unverändert.

Keinerlei Säurebildung erhielten wir bei allen drei Stämmen bei Zusatz von Arabinose.

Es stimmen also im großen unsere Befunde mit den Angaben Salomons überein. Doch glaube ich nicht, mich auf Grund der geringen Differenzen aufeinigen kohlehydrathaltigen Nährböden für eine weitere Unterteilung des Streptococcus mucosus in zwei Gruppen aussprechen zu sollen.

In ähnlicher Weise stimmen auch die Ergebnisse unserer Tierversuche im allgemeinen mit den Angaben in der Literatur überein, wenn sich auch in dieser Beziehung wieder manche Unterschiede geringeren Grades ergaben.

So gingen nach Schottmüller Mäuse „subkutan oder intraperitoneal mit einer kleinen Oese Kultur infiziert“ innerhalb 1—4 Tage zugrunde, ein Befund, den wir wohl, was die intraperitoneale Einverleibung betrifft, bestätigen können.

Subkutan waren unsere Stämme für Mäuse weniger pathogen.

Die gleiche Differenz besteht mit den Angaben Schumachers, der nach subkutaner und intraperitonealer Injektion gleichgültig, ob junge oder alte Kulturen verwendet wurden, seine Tiere (Mäuse) nach einer Menge von $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{10}$ Oese Löffler-Serumkultur ja auch noch nach $\frac{1}{40}$ Normalöse zugrunde gehen sah.

Von 5 Kaninchen Schumachers (19) gingen 2, die mit Kulturen geimpft waren, überhaupt nicht ein, und nur 3 mit Peritonealexsudat geimpfte verendeten. Auch wir konnten mit Kulturmaterial bei intravenöser Einverleibung Kaninchen nicht zum Exitus bringen.

Bürger (17) fand eine hohe Virulenz und eine Fortdauer derselben für seine Stämme, und zwar für weiße Mäuse und Kaninchen, während Meerschweinchen weniger empfindlich waren. Nach seinen Versuchen führte intraperitoneale Einverleibung bei jeder untersuchten Tierart zum Tode. Wir konnten nun bei Meerschweinchen erst bei intraperitonealer Injektion großer Dosen den Exitus herbeiführen.

Dabei sei noch hervorgehoben, daß die Versuche im Fall IV B. und V K. mit der ersten Generation der Mikroorganismen angestellt wurden.

Zwei Fragen möchte ich am Schlusse noch kurz erwähnen, nämlich das Wachstum unserer 3 Stämme bei den verschiedenen Temperaturen und ihr Verhalten dem von Levy (22) angegebenen taurocholsauren Natrium gegenüber.

Ich habe mir diese zwei Punkte für den letzten Abschnitt der Erwägungen aufgehoben und möchte sie auch nebeneinander erwähnen, weil dieselben, wie ich glaube, auch einen Schluß auf die Zugehörigkeit unserer Stämme ob zu der Gruppe der Streptokokken oder Pneumokokken gestatten.

Während das Temperaturoptimum für unsere 3 Stämme 37° betrug, zeigten sie doch auch bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von 14° R ein recht gutes Wachstum.

Diesem Befund, der gewiß in mancher Beziehung gegen eine Zugehörigkeit unserer 3 Stämme zu der Gruppe der Pneumokokken spricht, die nach Schottmüller bei 22° nur ein kümmerliches Wachstum zeigen, schließen sich noch gewichtigere an.

Auch im Eisschrank bei $6-7^{\circ}$ R zeigten dieselben noch ein deutliches Wachstum, ja sogar dann, wenn die Petri-Schalen auf Eisblöcke direkt gelegt wurden, was einer Temperatur von 0° entsprach, konnte noch ein Wachstum erzielt werden.

Hier möge auch noch kurz die Frage der Fortzucht dieser Stämme erwähnt werden; während von manchen Autoren überhaupt ein längeres Erhalten solcher Stämme als unmöglich hingestellt wird, ließen sich meine 3 Stämme bei täglicher Ueberimpfung der Stamm III K. durch mehr als 6 Monate, der Stamm IV B. durch 3 Monate und der Stamm V R. St. durch 2 Monate fortzuchten. Nach 48 Stunden konnte ich nicht mehr auf ein sicheres Wachstum der überimpften Stämme rechnen.

Anders verhielt es sich, wenn die Stämme nach kurzem Verweilen im Brutschrank in den Eisschrank gebracht wurden. Der Stamm III K. konnte auf diese Weise 19 Tage überimpfbar erhalten werden, während sich die beiden anderen Stämme nicht hielten.

Levy (22) und nach ihm Mandelbaum (28) benutzen zur Identifizierung von Stämmen die Eigenschaft des taurocholsauren Natriums oder der reinen Galle selbst, die Pneumokokken und den Streptococcus mucosus in einer 24-stündigen Bouillonkultur aufzulösen, während die anderen Bakterienarten erhalten bleiben sollen.

Auch wir haben den Versuch, und zwar mit einer 24-stündigen Serumbouillonkultur mehrere Male mit allen 3 Stämmen angestellt und kamen bei der Verwendung von taurocholsauren Natrium zu folgenden Resultaten: Alle 3 Stämme zeigen makroskopisch bei Ver-

wendung von einer 10-proz. Lösung von taurocholsaurem Natrium eine vollständige Klärung der früher trüben Flüssigkeit. Im hängenden Tropfen konnte man nur bei den Stämmen Fall III K. und Fall V R. St. mit der starken Vergrößerung noch einzelne wie angefressene und zerfallene Kokken finden. Fall IV B. zeigte im hängenden Tropfen keinerlei Organismen mehr.

Es schließen sich daher unsere Ergebnisse den Resultaten Mandelbaums, der bei Pneumokokken oder Streptococcus mucosus wohl eine makroskopische Aufhellung, mikroskopisch aber bei Abblendung noch kleine Körnchen von schattenhafter Form finden konnte, zum größten Teile an, weichen aber in geringem Grade wiederum von den Untersuchungen Levys, der auch mikroskopisch eine vollständige Bakteriolyse erhielt, ab.

Wenn wir also unsere gesamten Untersuchungsreihen übersehen, so glaube ich wohl unsere 3 Stämme auf Grund ihrer Eigenschaften mit dem von Schottmüller beschriebenen Streptococcus mucosus identifizieren zu sollen.

Wohl fanden sich bei der genauen Untersuchung manche Differenzen, die ich aber für zu gering erachte, um eine Trennung vom Schottmüllerschen Typus vorzunehmen. Die gleichen Gründe sprechen auch dagegen, sie auf Grund ihres verschiedenen Verhaltens auf kohlehydrathaltigen Nährböden in weitere Untergruppen zu trennen.

Eine weitere Frage, die besonders jene Autoren aufwerfen, die sich mit der Differenzierung der einzelnen Streptokokken und Diplokokken beschäftigen, ist, ob der Streptococcus mucosus mit Berechtigung den Streptokokken zugezählt wird.

Eine Entscheidung im allgemeinen nach irgendeiner Richtung zu treffen, glaube ich durch meine Untersuchungen, zu denen nur 3 Stämme verwendet wurden, nicht berechtigt zu sein. Im besonderen aber glaube ich doch gerade für die 3 untersuchten Stämme ein Urteil fällen zu können.

Dieser Frage, ob unsere 3 Stämme nicht den Streptokokken, sondern den Pneumokokken zuzuzählen sind, kann wohl dadurch näher getreten werden, wenn man die Gründe der verschiedenen Autoren für diese ihre Ansicht näher erörtert.

Vor allem war es das bakteriolytische Verhalten, das Levy und Mandelbaum veranlaßte, den Streptococcus mucosus als eine Varietät des Pneumococcus aufzufassen und ihn als „Pneumococcus var. mucosus“ zu bezeichnen.

Park und Williams (29) hinwiederum kommen auf Grund der Nichtkoagulierung des von Hiss angegebenen Nährbodens zu der Ansicht, daß man den Streptococcus mucosus als eine Abart des Diplococcus lanceolatus betrachten sollte, und sie schlagen dafür den Namen Streptococcus lanceolatus var. mucosus vor, worin doch eigentlich in gewissem Sinne ein Widerspruch mit ihren Ansichten gelegen ist.

Die Angaben Mandelbaum und Levys bezüglich der Bakteriolyse treffen für unsere Stämme, wie bereits erwähnt, nur teilweise zu:

Vollständige Lösung trat nur beim Stamm III K. ein, während Stamm IV B. und V R. St. im hängenden Tropfen vereinzelt zerfallene Mikroorganismen erkennen ließen.

Ob überhaupt diese Reaktion, der gewiß eine hochinteressante Bedeutung zukommt, eine strenge Differenzierung zwischen Streptokokken und Pneumokokken gestattet, wird, wie Levy selbst sagt, erst eine umfangreiche Nachprüfung zu bewerten ermöglichen. Auf Grund

der Nichtkoagulierung des Hissschen Nährbodens aber die Stämme zu den Pneumokokken zu zählen, scheint mir zu weit gegangen zu sein.

Aus der Reihe der anderen Gründe, die für die Zuteilung zu den Pneumokokken angeführt wurden, will ich nur die Kapselbildung hervorheben. Ich konnte niemals bei unseren 3 Stämmen eine Einschnürung derselben zwischen den einzelnen Mikroorganismen beobachten, wenn ich auch diesem Befunde weniger Bedeutung beimessen möchte. Denn Weichselbaum erwähnt schon bei der Besprechung der Morphologie der Diplokokken, daß selbst, wenn die Diplokokken kurze Ketten bilden, die Kette von einer einzigen Hülle umgeben sein kann, welche höchstens an der Verbindungsstelle der Kettenpaare leichte Einschnürungen aufweist.

Aus allem geht hervor, daß es sich bei meinen drei Stämmen trotz aller Differenzen mit den Angaben der Literatur um Mikroorganismen handelt, die der von Schottmüller aufgestellten Gruppe des *Streptococcus mucosus* ange-reiht werden müssen.

Eine solche Gruppe im Schottmüllerschen Sinne ist unbedingt festzuhalten, wenn auch mit dem Namen *Streptococcus* keineswegs die Zugehörigkeit zu den kettenbildenden Kokken entschieden werden soll. Im Gegenteil, da sich viele gemeinsame Momente auch mit dem *Pneumococcus* finden, muß die Gruppe des *Streptococcus mucosus* zwischen beide, den Strepto- und Pneumokokken eingereiht werden, wohl wissend, daß sich auch Stämme finden werden, die einerseits eine unabgrenzbare Verbindung zu den Streptokokken, andererseits zu den Pneumokokken herstellen.

Schließlich sei noch resumierend auf den Befund einer ulcerös-polypösen Endocarditis an der Valvula tricuspidalis hingewiesen, die sich im Falle III K. fand und durch einen Mikroorganismus bedingt war, der nach den Untersuchungen als *Streptococcus mucosus* im oben genannten Sinne zu bezeichnen ist.

Meines Wissens liegt in der Literatur kein Fall einer Endocarditis mit einer solchen Aetiologie vor.

Nur Otten (30) berichtet über ein 16-jähriges Mädchen, bei dem sich im Blute intra vitam ein *Streptococcus mucosus* fand.

Bei der Sektion fanden sich ein Empyem des Sinus sphenoidalis, eine eiterige Meningitis und die gleichen Erreger im Eiter und Herzblut, dabei frische verruköse Auflagerungen an den Mitralsegeln. Bakterien konnten in denselben nicht nachgewiesen werden, weshalb die Aetiologie dieser Endocarditis nicht festgestellt werden kann.

Der Infektionsweg unseres Falles ist bei der eiterigen Thrombophlebitis des Sinus sigmoideus, wodurch reichliche Gelegenheit zur Verschleppung infizierter Thrombenmassen durch die Cava superior ins rechte Herz gegeben war, klar.

Literatur.

- 1) Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münchn. med. Wochenschr. 1903. p. 849 u. 909.)
 - 2) Ortman, Beitrag zur Aetiologie der akuten Cerebrospinalmeningitis. (Arch. f. experim. Path. u. Pharm. Bd. 24. 1888.)
 - 3) Babes, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 7. 1890.
 - 4) Bonome, Zur Aetiologie der Meningitis cerebrospinalis epidemica. (Beitr. z. path. Anat. u. allg. Pathol. Bd. 8. 1890.)
 - 5) Seitz, Streptococcus aggregatus. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 20. 1896.)
 - 6) Binaghi, Ueber einen Streptococcus capsulatus. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 22. 1897.)
 - 7) Le Roy des Barres et Weinberg, Baumgartens Jahresber. 1900. p. 21.
 - 8) v. Besser, Ueber die Bakterien der normalen Luftwege. (Beitr. z. pathol. Anat. Bd. 6. 1889.)
 - 9) Liesenberg u. Zopf, zit. nach Bürger, Ueber den sogenannten Froschlauchpilz. (Beitr. z. Physiol. u. Morph. niedr. Organ. 1892.)
 - 10) Howard u. Perkins, Journ. of med. Research. N. Ser. Vol. 1. 1901.
 - 11) Lewkowicz, ref. Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Ref. Bd. 29. 1901.
 - 12) Schottmüller, Zur Aetiologie der Pneumonia crouposa. (Münchn. med. Wochenschrift. 1905. p. 1425.)
 - 13) Wittmaak, Zur Kenntnis des Streptococcus mucosus als Erreger der akuten Otitis media. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1271.)
 - 14) Neumann u. Ruttin, Zur Aetiologie der akuten Otitis. (Arch. f. Ohrenheilk. Bd. 79. p. 1.)
 - 15) Hamm, Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 43. p. 287.)
 - 16) Burri, Das Tuschverfahren. Jena 1909.
 - 17) Bürger, Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 314.)
 - 18) Wirtz, Ueber eine Conjunctivitis mit eigentümlicher Sekretion und dem Streptococcus mucosus als Erreger. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 44. 1906.)
 - 19) Schuhmacher, Ueber den Streptococcus mucosus und seine Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 628.)
 - 20) Rüdiger, ref. Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Ref. Bd. 38. p. 332.
 - 21) Salomon, Zur Unterscheidung der Streptokokken durch kohlehydrathaltige Nährböden. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 47. p. 1.)
 - 22) Levy, R., Differentialdiagnostische Studien über Pneumokokken und Streptokokken. (Virchows Arch. Bd. 187. p. 327.)
 - 23) Weichselbaum, in Kolle-Wassermann. Bd. 3.
 - 24) Nieter, Zur Streptokokkenfrage. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 56. 1907.)
 - 25) Baumann, Beiträge zur Unterscheidung der Streptokokken. (Münchn. med. Wochenschr. 1906. No. 25.)
 - 26) Beitzke u. Rosenthal, in Orth, Arbeiten a. d. pathol. Institut. z. Berlin. 1906.
 - 27) Süpfle, Studien über die Bakteriologie der akuten Mittelohrentzündung. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906.)
 - 28) Mandelbaum, Ueber die Wirkung von taurocholsaurem Natrium und tierischer Galle etc. (Münchn. med. Wochenschr. 1907. No. 29.)
 - 29) Park u. Williams, Ref. Bull. de l'Inst. Pasteur. Bd. 4. 1906. No. 2.
 - 30) Otten, Beitrag zur Pathogenese des Streptococcus mucosus. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 86. 1906.)
 - 31) Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902.
 - 32) Scheuer, Ein Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 43. Heft 4.)
 - 33) Fränkel, E., Ueber menschenpathogene Streptokokken. (Münchn. med. Wochenschrift. 1905. No. 12 u. 39.)
- Ausführliche Literaturzusammenstellung: in Lubarsch Ostertag. Jahrg. 13. Abt. I. 1909. Koch, Josef, Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Streptokokken- und Staphylokokkenerkrankungen.

Nachdruck verboten.

Ueber den Gesamtstickstoff in der Kultur des Fränkelschen Pneumococcus¹⁾.

[Aus der medizinischen Klinik der Universität Genua
(Vorstand: Prof. E. Maragliano).]

Von **Luigi Panichi**, Dozenten und Assistenten.

Mit 9 Kurven.

In der Arbeit von Porrini und mir²⁾ über die Biologie des Fränkelschen Pneumococcus (ödematogene Varietät von Foà) wurde die stete Aenderung in den Eigenschaften dieses Keimes während der ersten 48 Stunden der Entwicklung in Bouillon nicht nur durch direkte experimentelle Tatsachen (Einspritzung bei Kaninchen), sondern auch durch indirekte Ergebnisse bewiesen, d. h. durch den pathologisch-anatomischen Befund der Kaninchen und die Vaccinationsversuche (Widerstandsfähigkeit des Kaninchens gegen die immunisierende Behandlung mit verschiedenen, aus einer und derselben Kultur in den verschiedenen Entwicklungsstunden entnommenen Virusproben). Es schien uns schon damals, daß wir neben diesen miteinander übereinstimmenden Resultaten noch ein weiteres erzielen könnten, und zwar durch chemische Untersuchungen. Somit versprach einer von uns, sich mit dem Gegenstand zu befassen, und heute berichte ich über die erzielten Resultate.

Obwohl eine Untersuchung über diesen Gegenstand in verschiedenen Richtungen geschehen kann, habe ich der Einfachheit halber mich bemüht, die Schwankungen des Gesamtstickstoffgehaltes einer durch Verimpfung aus einer Mutterkultur in Blut auf Bouillon angelegten Kultur von Fränkelschen Pneumokokken zu verfolgen.

Zu diesem Zweck wurde stets 0,1 ccm der Mutterkultur in einen Kolben mit 100 ccm Bouillon gesät, deren Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt worden war. Sofort nach der Besäung wurde die Stickstoffbestimmung wieder ausgeführt, und zwar mit 2 ccm des Materials, in welcher Weise sie dann (von der 8. Entwicklungsstunde im Thermostaten) jede 4. Stunde bis zur 24. und 48. Stunde wiederholt wurde. Diese Stickstoffbestimmung geschah somit zur Ergänzung der Reihe von Untersuchungen, bei welchen mit gleichen Zwischenräumen die Kraft des Virus durch Verimpfung auf Kaninchen nach unserem Verfahren untersucht worden war. Es wurden also zur selben Stunde aus dem Kolben 2 ccm des Materials zur Stickstoffbestimmung und 0,2 ccm zur Kanincheninokulation entnommen. Auf diesem Wege wurden zu gleicher Zeit einerseits die Schwankungen des pathogenen Vermögens und andererseits diejenigen des Stickstoffgehaltes in den verschiedenen Perioden der Entwicklung der Kultur ermittelt.

Die Stickstoffbestimmung geschah folgendermaßen: Das zu untersuchende Material wurde mit Zusatz von reiner H_2SO_4 und von Kupfersulfat 1 Stunde lang bis zu vollständiger Entfärbung erhitzt und aus einem Kolben, in welchen Zinkstücke gelegt waren, um das stoßweise Kochen zu verhindern, nach Zusatz von Natronlauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion (durch Phenolphthalein geprüft) destilliert. Das

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl-Turin.

2) Panichi, L. e Porrini, G., Sulla biologia del pneumococco di Fränkel. (Annali Maragliano. Vol. 3. 1908. Fasc. 1.) — Ueber die Biologie des Fränkelschen Pneumococcus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)

Destillat wurde durch ein Schlangenrohr in einen 3 ccm einer Normallösung von Schwefelsäure und Spuren von Phenolphthalein enthaltenden Erlennmeyerschen Kolben geleitet.

Die Destillation wurde als beendet betrachtet, wenn nicht nur das Destillat rotes Lackmuspapier nicht mehr verfärbte, sondern auch die Flüssigkeit im Kolben dermaßen vermindert war, daß dieser noch eben die Hitze ertragen konnte.

Die neutralisierte Schwefelsäure wurde durch $\frac{N}{10}$ -Natronlösung festgestellt. Diese Technik weist zwar nichts Besonderes auf; dagegen hat sie zu Untersuchungen in einer Richtung gedient, wie sie bis jetzt niemand ausgeführt hatte.

Die naheliegende Vermutung, daß, wo sich ein Keim entwickelt, sich auch intensive physikalische, chemische und biochemische Vorgänge abspielen, wurde durch den Nachweis einer Wärmeentwicklung¹⁾ in den keimenden Pflanzenknollen und Samen bestätigt. Ebenso wurden Aenderungen des elektrischen Potentials²⁾ und der Enzyme³⁾ bei der Entwicklung von Hühnereiern usw. und solche des Stickstoffgehaltes der Seidenraupen⁴⁾ beobachtet.

In einer gewissen Beziehung zu diesen Untersuchungen wurden zahlreiche andere ausgeführt zwecks Bestimmung des Einflusses, welchen die Keime durch ihre Wirkung auf den Erdboden, den Stickstoff und die Stickstoffverbindungen auf die Entwicklung der Pflanzen ausüben.

Die interessanten Studien von M. Berthelot⁵⁾ über die Fixierung des freien Stickstoffes im Boden und in den Pflanzen (1899) und die weiteren Untersuchungen⁶⁾, durch welche dieser Autor „die stete Absorption des Stickstoffes der Luft von seiten der Mikroben durch einen vitalen Prozeß“ nachgewiesen hat, haben den Anstoß zu einer Reihe fruchtbarer Arbeiten über diesen Gegenstand gegeben, die Jacobitz⁷⁾ in einer Gesamtübersicht zusammenfaßt, welche es verdiente, durch Veröffentlichung der ebenso zahlreichen wie interessanten Arbeiten fortgesetzt zu werden, die nachher, bis zum heutigen Tage, erschienen sind.

Aus diesen Untersuchungen geht jedoch hervor, daß die Autoren sich mit nicht pathogenen Keimen, mit Fermenten, Pilzen beschäftigt haben; auch läßt sich diese Bevorzugung durch den Zweck der Untersuchungen erklären, welche sich ganz besonders auf den Ackerbau bezogen. Erst 1908 haben Löhnis und Pillai⁸⁾ nachgewiesen, daß das *Bacterium pneumoniae*, das *B. aërogenes*, das *B. coli*, der *Bacillus fluorescens* und der *Staphylococcus pyogenes* Stickstoff in hohem Maße assimilieren. Jedenfalls wurden bis heute keine Untersuchungen ausgeführt über die Schwankungen des Stickstoffes in einer Kultur eines pathogenen oder nicht pathogenen Keimes

1) Bonnier, zit. von Tallarico (siehe unten).

2) Hyde, zit. von Tallarico (siehe unten).

3) Tallarico, G., Di alcuni rapporti esistenti fra il germe e gli enzimi del suo ambiente nutritivo. (Arch. di farmacol. e scienze aff. Vol. 7. 1908. Fasc. 12. p. 535.)

4) Luciani e Lo Monaco, Rendic. R. accad. Lincei. Vol. 6.

5) Berthelot, zit. von J. Stoklasa und E. Vitek, Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1901. p. 257.)

6) Berthelot, zit. von J. Stoklasa und E. Vitek, Die Stickstoffassimilation durch die lebende Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 257.)

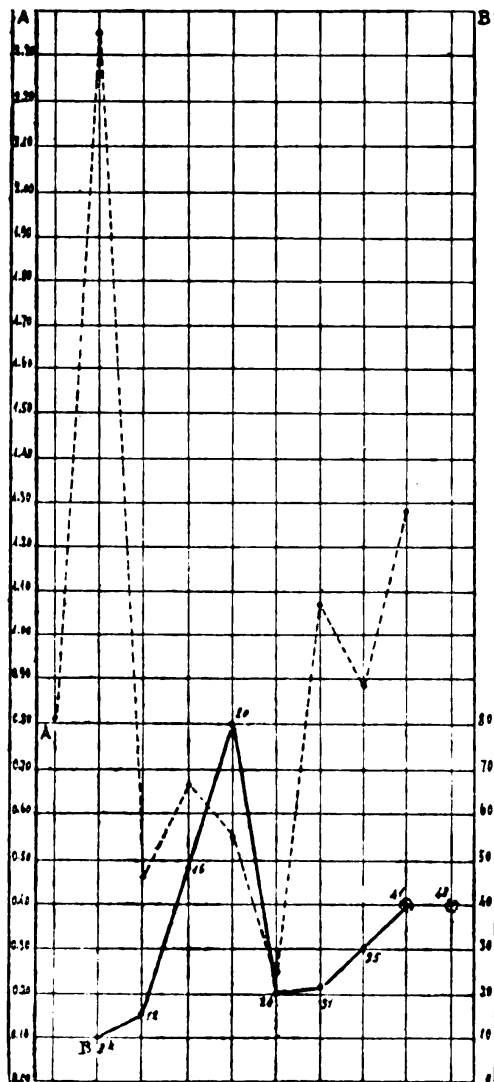
7) Jacobitz, Die Assimilation des freien, elementaren Stickstoffes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 783.)

8) Löhnis, J. u. Pillai, Ueber Stickstoff fixierende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908. p. 781.)

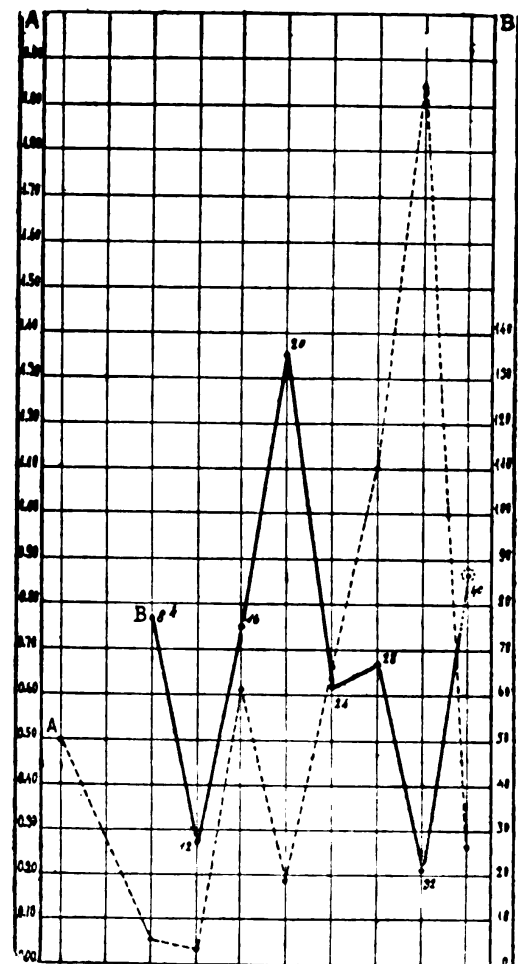
im allgemeinen und des Fränkelschen Pneumococcus (ödematogene Varietät) besonders während der ersten Entwicklungsstunden.

Deshalb stellen meine gegenwärtigen Untersuchungen eine Novität dar. Und obwohl bei denselben die biochemischen Stoffwechselverhältnisse in der Kultur während ihrer Entwicklung, welche voraussichtlich komplex und verschiedenartig sind, nur in geringem Maße und oberflächlich verfolgt werden, so liefern sie doch bemerkenswerte Aufschlüsse.

Meine Zahlen habe ich dadurch erhalten, daß ich den N des destillierten NH_3 auf das Quantum von 1 Liter Bouillon und auf sein Atomgewicht von 14 bezog. Daß ich die einzelnen Schwankungen des Stickstoffes bei jeder Untersuchung anführe oder in besonderen Tabellen darstelle, hat wohl keinen Zweck. Aus den Kurven sind die den einzelnen Untersuchungen entsprechenden Schwankungen des Stickstoff-



Serie XIV.



Serie XVI bis.

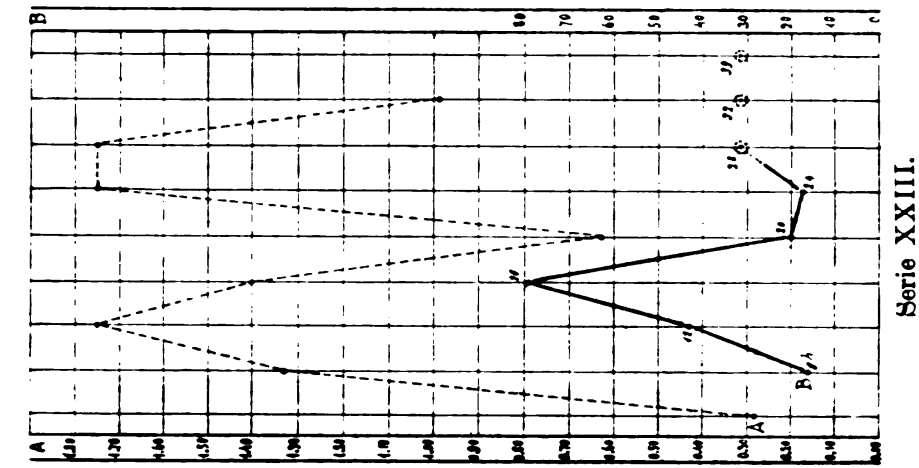
Punktirte Linie (A): Schwankungen des Stickstoffgehaltes.

Volle " (B): " " pathogenen Vermögens des Virus.

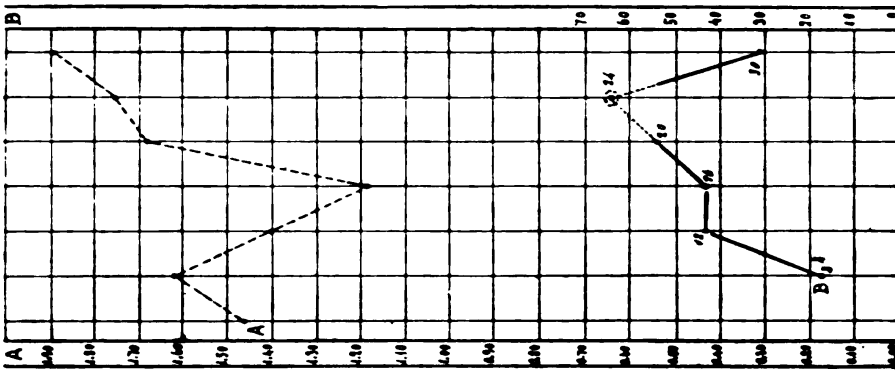
Die Zahlen der Linie B entsprechen dem Alter (in Stunden) der Kultur.

" " auf der Spalte A geben die Stickstoffmenge (in Gramm) an.

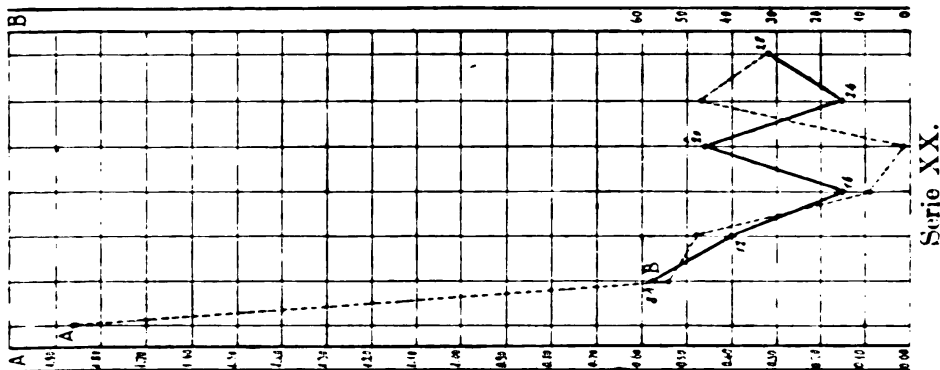
" " " " B " " Dauer (in Stunden) der Krankheit des Kaninchens an.



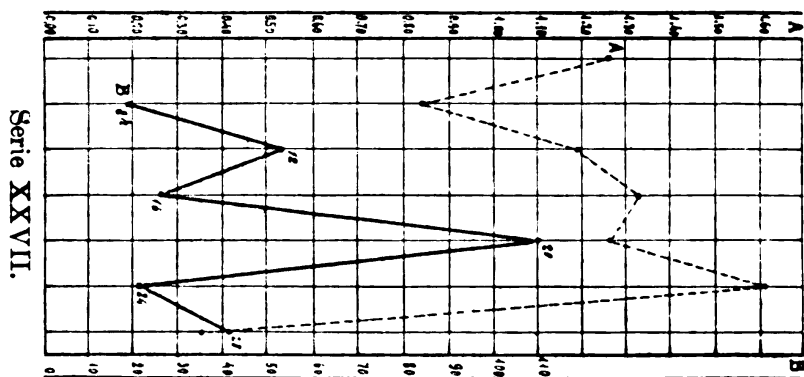
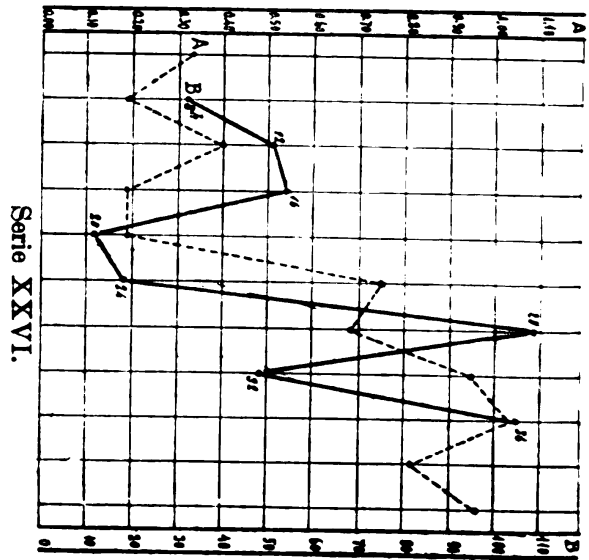
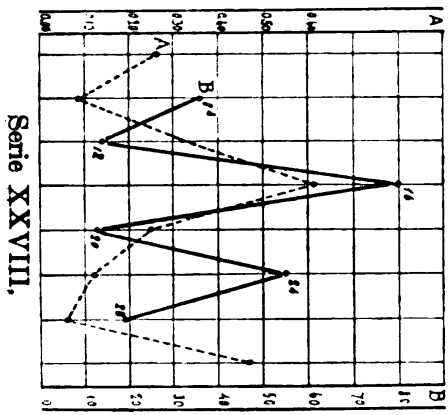
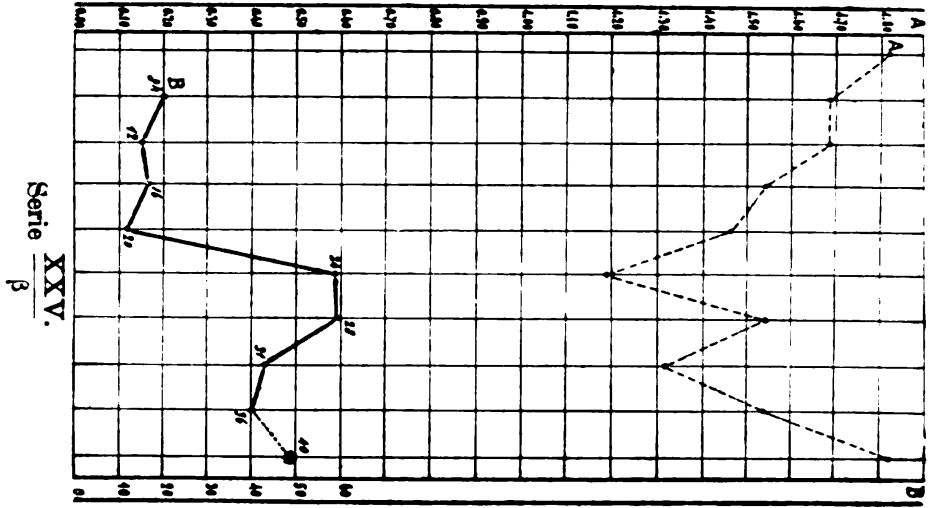
Serie XXIII.



Serie XXI.



Serie XX.



gehaltenes (punktierte Linie) und des pathogenen Vermögens (volle Linie) genügend deutlich ersichtlich, um uns über die wichtigsten hier in Frage stehenden Punkte Aufschluß zu geben.

Ich habe bereits in meiner Arbeit über die Biologie des Pneumococcus hervorgehoben, daß das pathogene Vermögen des Keimes in seinen Schwankungen eine Kurve bildet, welche die Form einer Parabel, eines M oder eines W aufweist.

Bei den Untersuchungen, welche ich über diesen Gegenstand zusammen mit Porrini fortgesetzt habe, sind viele Versuchsreihen wiederholt worden, und aus diesen sind die Exemplare entnommen, welche ich gegenwärtiger Arbeit beigelegt habe. Dabei habe ich Reihen ausgesucht, bei welchen die Kurve des pathogenen Vermögens den Parabeltypus aufwies, und solche, wo sie den M- oder den W-Typus zeigte.

Ich will hier noch bemerken, daß von den 9 Reihen, über die ich berichte, 3 zum Parabeltypus, 3 zum W-Typus, 2 zum M-Typus gehören und 1 zu einem gemischten Typus, der Charaktere des W- und des M-Typus aufweist (während das Virus im M-Verlauf einen Teil seines ursprünglichen pathogenen Vermögens verliert und im W-Verlauf dagegen dieses zunimmt, beobachtet man beim Mischtypus, daß die Aktivität der Kultur während 12 Stunden (von der 8. bis zur 20.) bald nach oben, bald nach unten schwankt, bevor sie die von uns so benannte „erste Reaktivierung“ erreicht). Nun geht aus den Kurven hervor, daß die Schwankungen des Stickstoffgehaltes bald mehr, bald weniger zahlreich sind, daß aber der Stickstoffgehalt sich bei denselben Kulturproben immer unregelmäßiger verhält als das pathogene Vermögen. Während somit beispielsweise bei der Reihe XXI die Pathogenität eine parabelartige Kurve beschreibt, hat die Kurve des Stickstoffgehaltes die Form eines N, indem zuerst eine Zunahme, dann eine Abnahme und schließlich wieder eine Zunahme stattfindet.

Ich konnte des weiteren eine konstante charakteristische Erscheinung beobachten: Die Stickstoffmenge steigt von der Einimpfung bis zur 8. Stunde in den Fällen in mehr oder minder hohem Maße, wo die Pathogenität des Virus im späteren Verlauf eine parabelartige Kurve aufweisen wird; sie nimmt dagegen in derselben Periode ab in den Fällen, wo das pathogene Vermögen einer M- oder W- oder Mischkurve folgen wird. Ich konnte mehr als einmal auf Grund des Verhaltens des Stickstoffgehaltes während der ersten 8 Stunden voraussagen, wie sich die Pathogenität während der nächsten 24—48 Stunden verhalten würde.

Dieses verschiedene Verhalten des Stickstoffgehaltes, je nachdem die Kurve den Parabeltypus einerseits oder einen der übrigen drei, d. h. den M-, den W- oder den gemischten Typus andererseits aufweist, beweist, daß letztere drei einander ähnlich sind. In der Tat beobachtet man bei allen dreien die Phase der sogenannten „ersten Reaktivierung“ (welche der größeren nach 48 Stunden eintretenden Abschwächung vorausgeht) nicht später als in der 20.—24. Stunde nach der Impfung, und es geht ihr, je nachdem das Virus aus unbekanntem Ursachen zur Abschwächung neigt oder nicht, eine Abschwächungsperiode voraus oder nicht. Diese Neigung ist durch die Kurve der Reihe $\frac{XXV}{\beta}$ bestätigt, in

welcher, wenn man annähme, daß die Bewegung von der 8. zur 12. Stunde fortbestanden hätte, der Typus W sich ergeben hätte, während, wenn die Abschwächung, welche zwischen der 12. und der 16. Stunde statt-

gefunden hat, früher begonnen und länger gedauert hätte, der Typus M erschienen wäre.

* * *

Meine Resultate kann ich also folgendermaßen kurz zusammenfassen :

1) Der Gesamtstickstoffgehalt ändert sich in einer Pneumokokkenkultur während der ersten 24—48 Stunden fortwährend.

2) Diese Aenderungen beginnen mit einer Zunahme in den Fällen, wo die Pathogenität des Virus einer parabelförmigen Kurve folgen wird, dagegen mit einer Abnahme in den Fällen, wo das pathogene Vermögen einem der drei übrigen Typen folgen wird.

3) Der M-, W- und gemischte Typus haben dieselbe Bedeutung, d. h. sind miteinander verwandt, während sie vom Parabeltypus verschieden sind.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über einen aus Wurstwaren isolierten, tierpathogenen Keim¹⁾.

[Aus dem mikrographischen und bakteriologischen Laboratorium des öffentlichen Sanitätsamtes (Vorstand: Prof. B. Gosio).]

Von Dr. M. Pergola, Assistenten.

Im Mai 1908 wurden einige Personen aus Lugo bei Ravenna von Krankheitssymptomen heimgesucht, welche auf den Genuß von Schweinefleisch in Form von Wurst zurückgeführt wurden. Von dem verdächtigen Fleisch wurden mir einige Proben zur Untersuchung eingeschickt.

Während ich durch meine chemischen Untersuchungen feststellen konnte, daß die Wurst nicht durch irgendeine bestimmte chemische Substanz, wie Kaliumnitrat oder sonstige giftige Metallsalze schädlich gewirkt hatte, konnte ich aus dem Fleisch zwei Bacillen isolieren, von denen nur einer sich pathogen für Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen, weiße Ratte) erwies.

Ich nahm mir deshalb vor, diesen tierpathogenen Keim, den ich seiner Herkunft nach Bacillus aus Lugo nennen werde, zu untersuchen.

Ich werde mich in dieser ersten Arbeit darauf beschränken, die morphologischen, tinktoriellen und kulturellen Charaktere zu beschreiben, so wie sie aus meinen Untersuchungen im Vergleich zu anderen Mikroorganismen hervorgehen, von denen einige zum Typus I und andere zum Typus II des *B. enteritidis* Gärtner gehören, und noch andere sich dagegen von dieser Gruppe deutlich unterscheiden. Es wurden somit in Betrachtung gezogen: Der Typhusbacillus, der Coli-Bacillus, der Paratyphusbacillus A, der Paratyphusbacillus B, der *B. enteritidis* Gärtner, *B. Aertryck*, *B. Moorseeiensis*, *B. suipestifer*, *Proteus vulgaris*.

Morphologische und tinktorielle Charaktere. Der untersuchte Keim hat die Form eines Bacillus mit abgerundeten Enden; er ist meistens vereinzelt, zuweilen findet man zwei, seltener mehrere vereinigt.

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl (Turin).

Die Dimensionen und besonders die Länge sind etwas variabel; die Breite schwankt zwischen 0,3 und 0,5 μ , die Länge zwischen weniger als 2 und 5 μ . Zwischen diesen äußeren Grenzen beobachtet man zahlreiche Uebergangsformen; am zahlreichsten sind darunter die Mittelformen vertreten, obwohl diesbezüglich Schwankungen vorkommen, je nach dem Alter der Kultur und dem Flüssig- oder Festsein des Nährbodens.

Im hängenden Tropfen untersucht, zeigt der Keim ziemlich lebhaft aktive Bewegungen; durch Färbung nach dem Verfahren von Derossi¹⁾ lassen sich an der Peripherie angeordnete Geißeln nachweisen, welche die Zahl von 8—10 erreichen können.

Der Keim bildet keine Sporen, nimmt die basischen Anilinfarben leicht an, ist weder gramfest noch säurefest; weist die bipolare Färbung auf.

Kulturelle Charaktere. Der Bacillus aus Lugo entwickelt sich leicht in allen künstlichen festen und flüssigen Nährböden; ist aërob, kann aber auch anaërob gezüchtet werden. Das Temperaturoptimum für seine Entwicklung ist 25—38° C, die Grenzen, zwischen denen seine Entwicklung möglich ist, schwanken jedoch zwischen 12—15° und 40 bis 42° C.

Seine kulturellen Hauptcharaktere sind folgende:

In schrägem einfachen, glyzerinhaltigem, durch Ausstrich beim pftem Agar entwickelt sich die Kultur auf der ganzen Oberfläche des Substrates und nimmt dabei ein so gleichmäßiges Aussehen an, daß man die Ausstrichlinie nicht von den übrigen Teilen des Rasens unterscheiden kann. Dieser hat ein zartes Aussehen, ist gleichmäßig und gleichmäßig verteilt, glänzend, feucht, schwach weißlich-grau und weist unter geeigneten Beleuchtungsbedingungen eine Irideszenz auf, welche schwer wahrnehmbar ist, wenn man nicht die Röhre bei durchfallendem Licht beobachtet oder mit einer anderen sterilen vergleicht. Eine reichliche Entwicklung beobachtet man im Kondenswasser, welches sich stark trübt.

Nichts Bemerkenswertes in den Einstichkulturen.

Auf Agarplatten sind die Oberflächenkolonien dünn, zarten Aussehens, durchsichtig, weißlich, äußerst feinkörnig, etwas lichtbrechend, haben größere Dimensionen als die tiefen und eine rundliche Form mit Ausnahme von einigen, die an der Peripherie Ausläufer ausschicken und somit sternförmig werden. Die Tiefenkolonien sind rund oder elliptisch, haben eine mehr oder minder dunkle gelbe Farbe, sind körnig, dunkler im Zentrum als an der Peripherie und haben fein zerfaserte Ränder. In den elliptischen Kolonien kann man oft einen zentralen, elliptischen, dunklen Kern und eine hellere periphere Zone unterscheiden, so daß das Ganze an die roten Blutkörperchen der Vögel erinnert.

Wenn man Gelatinestichkulturen anlegt, entwickelt sich der Keim dem ganzen Einstichkanal entlang und verflüssigt nach vorheriger wolkenartigen Trübung langsam das Substrat. In flötenschnabelförmig erstarrter Gelatine beginnt die Verflüssigung früher und geht rasch vor sich.

Auf Gelatineplatten unterscheidet man bei der mikroskopischen Untersuchung oberflächliche und tiefe Kolonien. Die ersten sind hell, refrangierend, breit, ziemlich dünn, aber immer in der Mitte dicker als an der Peripherie; sie haben eine wechselnde und unregelmäßige, zum Rundlichen neigende Form mit gezackten Rändern, deren Zacken jedoch nicht sehr ausgesprochen sind, und einen feinkörnigen Inhalt. Die tiefen Kolonien weisen zuerst nichts Beachtenswertes auf. Nach 2 Tagen beginnt die

1) Rivista d'Igiene e Sanità pubblica. 1902.

Verflüssigung und die tiefen Kolonien erscheinen in konzentrische Zonen mit verschiedenem Aussehen geteilt.

Eine besondere Form von Kolonie verdient erwähnt zu werden, welche jedoch nicht immer beobachtet wird. Dieselbe besteht aus einer zentralen mehr oder minder breiten und unregelmäßigen Masse, von welcher Ausläufer ausgehen, in Form von Segmenten, die desto größer werden, je mehr sie sich von der zentralen Masse entfernen und somit eine konische Form haben, deren Spitze in die Kolonie übergeht.

In den 5-proz. Gelatineplatten weisen die Oberflächenkolonien eigentümliche Charaktere auf. Dieselben erscheinen bei der mikroskopischen Untersuchung aus einer zentralen Masse und Ausläufern zusammengesetzt. Der zentrale Teil hat eine wechselnde, meistens birnenartige oder polygonale Form und besteht aus einer kontinuierlichen, zarten, weißlichen, feinkörnigen Bakterienmasse mit glatten Rändern. Die Ausläufer, deren Zahl eine wechselnde (4—6) ist, sind gewellt, bald dünn, bald dicker, feinkörnig, weißlich und bilden, indem sie sich ineinander flechten, ein Netzwerk, in deren Maschen die Gelatine keine Bakterienentwicklung aufweist. Wenn zwei oder mehrere Kolonien nahe aneinander stehen, können sich die Ausläufer der einen mit denjenigen der anderen ineinander flechten und somit ein weiteres Netzwerk entstehen. Diese Ausläufer gehen von der Peripherie der zentralen Masse der Kolonie aus; wenn diese aber birnenförmig ist, geht sie meistens nur von einem einzigen Punkte, und zwar von der dünneren Seite aus. So erinnern diese Kolonien in ihrer Form an gewisse Nervenzellen.

Auf Kartoffeln mit und ohne Glycerin wächst der *Bacillus aus Lugo*, ähnlich wie *Typhusbacillen*, als kaum sichtbarer Rasen.

Auf flötenschnabelförmig erstarrtem glyzerinhaltigen Blutserum entwickelt er sich auf der ganzen Oberfläche; wenn dagegen dieses Substrat kein Glycerin enthält, bleibt die Entwicklung auf die Streichlinie beschränkt, von welcher meist schräg nach oben gerichtete Ausläufer ausgehen. Das Serum wird nicht verflüssigt.

In Bouillon, Peptonwasser, Ascitesflüssigkeit bewirkt der Keim eine gleichmäßige, mehr oder minder starke Trübung.

In steriler Milch entwickelt er sich zuerst ohne wahrnehmbare Veränderungen herbeizuführen; nach einigen Tagen bewirkt er eine Teilung der Flüssigkeit in zwei Portionen, von denen die eine ähnlich einem Präzipitat auf den Boden des Röhrchens sinkt, während der andere, flüssige und sehr opake darüber schwimmt. Das Substrat reagiert inzwischen alkalisch. Im weiteren Verlaufe löst sich die untere Schicht allmählich auf, ohne jedoch ganz zu verschwinden, während die Flüssigkeit etwas dicker und klarer wird und eine gelbliche Farbe annimmt. Die Reaktion bleibt alkalisch.

In flüssigem Serum entwickelt sich der Keim auch, wobei er den Nährboden zuerst gelatinös macht und dann zur Gerinnung und zu einer starken Trübung bringt.

Er entfärbt und trübt die Abbasche Laktophenolphthaleinbouillon und trübt, ohne Gasentwicklung, die 2-proz. Laktosebouillon mit Zusatz von Calciumkarbonat.

Um zu untersuchen, mit welchen Kohlehydraten der *Bacillus aus Lugo* Gas entwickelte und saure Substanzen erzeugte, habe ich Kulturen in Bouillon, Agar und Gelatine unter Zusatz verschiedener Zuckerarten und von Lackmus angelegt. Auf diesem Wege konnte ich feststellen, daß der Keim Glykose, Galaktose und Fruktose stark und rasch und Saccharose weniger rasch vergärt, während er Laktose, Mannit, Dextrin, Dulcit,

Maltose, Raffinose, Arabinose und Inulin nicht angreift. Bezüglich der Gelatinekulturen habe ich eine besondere von der Galaktose und der Glukose, im Gegensatz zu den übrigen angewandten Kohlehydraten, entfaltete Wirkung beobachtet. Wie gesagt, besitzt der Bacillus aus Lugo die Eigenschaft, Gelatine zu verflüssigen: Wenn man nun glykosehaltige Gelatine anwendet, so beobachtet man bei Strichkulturen überhaupt keine und bei Stichkulturen eine spät beginnende und langsam vor sich gehende Verflüssigung. Gelatine mit Zusatz von Galaktose wird in keiner Weise verflüssigt. Diese Erscheinung ist höchstwahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Kohlehydrate eine Verspätung der Fäulnis der Eiweißkörper im allgemeinen bewirken, was in unserem Fall auch dadurch bestätigt wird, daß die vom Keim wenig oder langsam angegriffenen Zuckerarten die Peptonisierung der Gelatine nicht stören.

Das Verhalten des Keimes gegen Kohlehydrate wurde auch in den Barsiekowschen Nutrosenährböden untersucht, und zwar mit dem Ergebnis, daß die Glykose resp. Galaktose enthaltenden Lösungen eine rosige Farbe annehmen und sich stark trüben, ohne daß jedoch das Kasein der Nutrose gerinnt, während die Laktose-, Dextrin-, Maltose-, Inulin-, Saccharose- und Dulcit-haltigen Lösungen unverändert oder fast unverändert bleiben.

Bei den Kulturen in Bouillon, Agar, Gelatine mit Zusatz von Eosin, Fuchsin und Methylenblau beobachtet man hinsichtlich des ersteren nichts Besonderes, während mit Fuchsin und Methylenblau eine Entfärbung stattfindet, welche mit Fuchsin eine schwache, dagegen mit Methylenblau eine fast vollständige ist. Dazu sei bemerkt, daß bei Kulturen in Bouillon und in verflüssigter Gelatine, welche die beiden letzten Substanzen enthalten, die Farbe intensiver wird, wenn man das Röhrchen schüttelt, und daß die Methylenblau-Bouillon in diesem Falle nach einiger Zeit eine intensive grüne Farbe annimmt, welche sich nicht mehr ändert.

Nichts Interessantes beobachtet man bei den Kulturen auf Substraten mit Zusatz von 1 Proz. Amygdalin.

In den Nährböden mit Zusatz von Neutralrot und von 0,3 Proz. Traubenzucker beobachtet man eine reichliche Gasentwicklung und eine Fluoreszenz, welche bei Bouillon und bei Gelatine sehr deutlich und bei Agar etwas schwächer ist.

In Petruschkys Lackmusmolke wird die Farbe zuerst leicht rosig, kehrt aber dann wieder zum Blauen zurück.

In Substraten, die Malachitgrün — auch im Verhältnis 1 : 5000 — enthalten, entwickelt sich der Bacillus aus Lugo üppig unter Entfärbung des Substrates. Man beobachtet aber nur bei Strichkulturen auf schrägem Agar oder noch besser auf Agarplatten, daß der Bakterienrasen eine deutliche grüne Farbe annimmt.

Der Keim entwickelt sich in Agarplattenkulturen nach Drigalski-Conradi nicht; dagegen entwickelt er sich auf Agar nach Endo sehr rasch, und der Bakterienrasen und das Substrat nehmen eine gleichmäßige fuchsinrote Farbe an.

In Nährböden mit Zusatz von 1 Proz. Nitroprussid-Natrium entwickelt er sich langsam und schwer; man beobachtet jedoch die blaue Färbung des pulverförmigen Sedimentes bei Bouillon und bei Agar; in Gelatine, die nicht verflüssigt wird, beobachtet man dagegen das Eintreten einer orangeroten Farbe. In Leberbrühe, hergestellt nach dem von Aperlo¹⁾ für die aërobe Kultur der Anaëroben vorgeschlagenen

1) Rivista d'Igiene e Sanità pubblica. 1908.

Verfahren, entwickelt sich der Keim rasch und üppig. Wenn man das Röhrchen ein erstes Mal nach 10—15 Stunden Kultur und ein zweites Mal nach 24—30 Stunden schüttelt, beobachtet man immer eine starke Entwicklung von Gasbläschen im Gegensatz zu anderen Mikroorganismen, bei denen man nur das erste Mal Gasentwicklung beobachtet.

Der Bacillus aus Lugo erzeugt in fast allen gewöhnlichen und speziellen, festen und flüssigen Substraten Indol; er bewirkt die Entwicklung von Schwefelwasserstoff; die Tryptophan- oder Proteinchromreaktion ist negativ.

* * *

Nun fragt es sich, ob man auf Grund der bisher ausgeführten Untersuchungen feststellen kann, ob es sich um einen neuen Keim handelt, oder ob der Bacillus aus Lugo mit einem bestimmten bekannten Mikroorganismus identifizierbar ist oder wenigstens zu einer bestimmten bekannten Bakteriengruppe gehört.

Die Charaktere des Typhusbacillus, des Coli-Bacillus und des Paratyphus-A-Bacillus sind allzu bekannt, als daß ich die Ähnlichkeit des Lugobacillus mit ihnen in morphologischer und tinktorieller und zum Teil auch kultureller Beziehung besonders zu betonen brauchte. Andererseits weist aber dieser Keim so viele andere Differentialcharaktere auf, daß er mit den genannten nicht identifiziert werden kann. So unterscheidet er sich vom Coli-Bacillus durch sein Verhalten in den Kulturen auf Milch, Gelatine, Kartoffeln und auf mehreren anderen besonderen Substraten; vom Eberthschen Bacillus durch die Indolreaktion, durch das Fehlen der Proteinchromreaktion und durch sein Verhalten bei der Züchtung in Milch, Gelatine und mehreren besonderen Substraten; vom Paratyphus-A-Bacillus unterscheidet er sich auch durch mehrere der angeführten Charaktere.

Was die anderen Mikroorganismen anbelangt, welche zum Vergleich in Betrachtung gezogen wurden, so gehören sie, abgesehen vom *Proteus vulgaris*, alle zur Gruppe des Gärtnerschen *B. enteritidis* (I. und II. Typus); auch hier finden wir einige gemeinschaftliche Charaktere, aber neben diesen so viele Differentialcharaktere, daß man eine Zugehörigkeit des Lugobacillus zu dieser Gruppe direkt in Abrede stellen muß.

Schließlich bleibt der *Proteus vulgaris* übrig. Dieser unterscheidet sich zwar von dem Bacillus aus Lugo durch einige Eigenschaften, indem er eine größere Unbeständigkeit seiner Form hat, gramfest ist, Gelatine rascher verflüssigt, ohne sie vorher zu trüben; aber diese unbedeutenden Unterschiede verlieren gegenüber den vielen Ähnlichkeiten ihren Wert, so daß ich glaube behaupten zu dürfen, daß der von mir isolierte Keim höchstwahrscheinlich zur Gruppe „*Proteus*“ gehört.

Da aber beim heutigen Stande der Bakteriologie die Untersuchung der morphologischen, tinktoriellen und kulturellen Charaktere nicht genügt, um einen Keim zu identifizieren, behalte ich mein Endurteil mir so lange vor, bis ich die übrigen erforderlichen Untersuchungen ausgeführt haben werde.

Nachdruck verboten.

Welche Bakterien kommen bei der Abnabelung und Nabelversorgung in Betracht?

Von Geh.-Rat **F. Ahlfeld** u. Prof. **Bonhoff**, Marburg.

Zum Verständnis der von Kollege Bonhoff ausgeführten bakteriologischen Untersuchungen schicke ich folgende Angaben voraus:

Die von vielen Seiten angestrebte Lösung des Problems, die Abnabelung des Neugeborenen und die Nachbehandlung des Nabelschnurrestes zu einem aseptischen Verfahren zu machen, um Nabelinfektion zu vermeiden, hat uns in der Marburger Anstalt zu einer Behandlungsmethode geführt, die sich als absolut sicher erwiesen hat¹⁾.

Als wichtigste Punkte dieser Methode betone ich die zweizeitige Unterbindung und Abtragung des Nabelschnurrestes auf ein Minimum, die Beseitigung des überflüssigen Teils der Schnur mitsamt dem ersten Unterbindungsbande, die Waschung des kleinen bleibenden Restes und seiner Umgebung mit Alkohol und das Anlegen eines Dauerverbandes; in Konsequenz dessen Weglassung des täglichen Bades.

Gelang es mittels anderer Methoden nicht immer die Asepsis zu erhalten, so lag dies, meiner Vermutung nach, zum Teil daran, daß der am Kindeskörper belassene und unter dem Verband geborgene Nabelschnurrest mit seinem Bande nicht keimfrei war und es auch kaum sein konnte.

Diese Vermutung zur Gewißheit zu machen und zugleich die Bakterienarten festzustellen, die nach dem Blasensprunge mit dem Nabel und der Nabelschnur in Berührung kommen, dazu waren die Untersuchungen nötig, die Herr Kollege Bonhoff freundlichst zu übernehmen sich bereit erklärte.

Daraufhin wurde in der Klinik so verfahren, daß zur Abnabelung sterile Leinenbänder von $\frac{1}{2}$ cm Breite und sterile Scheren benutzt wurden. Keinerlei Desinfektionsmittel kamen zur Verwendung. Nach dem Bade, das bei unserer Quellwasserleitung äußerst wenig Bakterien enthält, wurde das überflüssige Stück Nabelschnur mit dem daranhängenden ersten Unterbindungsbande mit steriler Schere abgetragen, direkt in eine sterile Petri-Schale gebracht und sofort dem Hygienischen Institute übermittelt.

Ahlfeld, Marburg.

Im April—Juni 1909 habe ich auf Wunsch von Herrn Geh.-Rat Ahlfeld eine Anzahl von Untersuchungen zu dem Zwecke vorgenommen, festzustellen, wie sich die in der hiesigen Frauenklinik bei der Abnabelung des Kindes nach dem Bade erhaltenen Stücke, erstes Unterbindungsband und Nabelschnurteil, in bakteriologischer Hinsicht verhielten. In 23 Fällen wurden im ganzen die Untersuchungen gemacht. Dabei wurde so vorgegangen, daß das nach dem Abschneiden erhaltene Material in der Frauenklinik in eine sterile Petrische Schale gelegt und am selben Tage an das Hygienische Institut abgegeben wurde. Hier wurde dann sofort die Verbindung zwischen Band und Schnur mit sterilen, aus Sublamin-Alkohol frisch herausgenommenen und in der Flamme

1) Ahlfeld, Wie sollen die Hebammen über Abnabelung und Behandlung des Nabelschnurrestes unterrichtet werden? (Zeitschr. f. d. ges. deutsche, österreich. u. schweizer. Hebammenwesen. Bd. I. 1909. p. 236.)

abgebrannten Pinzetten gelöst, mit einer ebenso behandelten Schere ein Stück des Bandes, mit einer zweiten ein Stück der Nabelschnur abgeschnitten, jedes für sich in eine sterile Petrische Schale gelegt und mit verflüssigtem und auf 41° C abgekühltem Agar übergossen. Darauf wurden, solange der Nährboden flüssig blieb, die bedeckten Schalen etwas hin- und hergeneigt, um eine Ablösung etwa vorhandener Keime vom Bande oder der Nabelschnur behufs leichterer Zählung der Kolonien zu bewirken und die erstarrten Agarplatten schließlich für 48 Stunden bei 37° C gehalten. Nach dieser Zeit geschah die Zählung der Kolonien und die Feststellung der einzelnen Arten durch mikroskopische Untersuchung; eventuell auch durch Feststellung des gesamten biologischen Verhaltens der zur Entwicklung gekommenen Mikroben.

Von den 23 eingelieferten Proben waren völlig steril 4 (Band und Nabelschnur). Bei den übrigen 19 Untersuchungen erwies sich die Nabelschnur dreimal steril, während an dem Band mehr oder weniger zahlreiche Keime hafteten. Niemals hat sich das Bändchen steril gezeigt und nur die Nabelschnur mit Keimen behaftet. Auffallend war ferner, daß fast durchgehend die Zahl der zur Entwicklung kommenden Kolonien bei den „Band“platten wesentlich größer war als bei den „Schnur“platten. Es folgen nun die ausführlichen Mitteilungen über die Zahl und Art der in den 23 Untersuchungen festgestellten Bakterienkolonien.

Fall I. 1. April 09.

Auf der „Band“platte sind unzählbare Kolonien zur Entwicklung gekommen. Es finden sich drei verschiedene Arten:

- 1) sehr zahlreich Coli-ähnliche Kolonien, oberflächlich und in der Tiefe des Nährbodens, aus Stäbchen bestehend;
- 2) zahlreiche Streptokokkenkolonien.
- 3) einige wenige Aureus-Kolonien.

Auf der „Schnur“platte sind ca. 400 Keime entwickelt zu Kolonien der ersten und zweiten obengenannten Art, beide etwa in gleicher Anzahl.

Fall II. 1. April 09.

„Band“platte. Das Band ist rings eingewickelt von einer großen, grauen, schleimigen Bakterienmasse.

Außerdem 9 verschiedene, meist farbige Kolonien, darunter mehrere Schimmelpilzkolonien.

In der Bakterienmasse hauptsächlich die im Fall I erwähnten Stäbchen, darunter aber einige wenige große Diplokokken.

„Schnur“platte steril.

Fall III. 1. April 09.

„Band“platte und „Schnur“platte steril.

Fall IV. 7. April 09.

Auf beiden Platten gleichmäßig unzählbare Kolonien der bei Fall I unter 1 und 2 genannten Arten (1 bei weitem überwiegend).

Fall V. 7. April 09.

Aus Band und Schnur sind zahllose Kolonien der drei bei I genannten Arten zur Entwicklung gekommen. Bei weitem überwiegend wieder die Stäbchenart, am spärlichsten vertreten die Staphylokokken (Aureus).

Fall VI. 15. April 09.

„Schnur“platte steril.

Auf der „Band“platte wachsen 108 Kolonien der bei Fall I unter 1 erwähnten Stäbchenart. Außerdem 3 Kartoffelbacillenzolonien.

Fall VII. 15. April 09.

Beide Platten dauernd steril.

Fall VIII. 11. April 09.

Aus der Nabelschnur wachsen 14 dicke, saftige weiße Kolonien kurzer plumper Stäbchen und 1 Kolonie gelber Eiterkokken.

Aus Band ca. 200 Kolonien zweierlei Art. Kartoffelbacillen in geringer und die bei I 1 erwähnten Coli-ähnlichen Stäbchen in größerer Zahl.

Fall IX und X vom 12. April 09
zeigen Sterilität auf beiden Platten.

Fall XI und XII. 17. und 18. April 09.

Aus Band und Nabelschnur sind gleichmäßig zahllose Kolonien gewachsen. Zweierlei Arten wie bei Fall II.

Fall XIII. 22. April 09.

Auf der „Schnur“platte 7 Kolonien, 5 Stäbchenkolonien (I 1) und zwei gelbe Kokkenkolonien.

Die „Band“platte zeigt dieselben Arten, etwa 100 Stäbchen-, etwa 50 Kokkenkolonien.

Fall XIV. 22. April 09.

Aus Band und Schnur sind zahllose Kolonien aller drei im Fall I erwähnten Arten gewachsen; aus Band aber weit mehr, als aus Schnur. Auf der Bandplatte sind ferner auch noch orangegelbe Sarcinokolonien zahlreich vorhanden.

Fall XV. 20. April 09.

Schnurplatte steril.

Aus Band wachsen ca. 100 Kolonien zweierlei Art, wie bei Fall IV.

Fall XVI. 27. April 09.

Auf der „Schnur“platte kommen 7 Kolonien einer Sarcineart zur Entwicklung, Auf der „Band“platte ca. 200 Kolonien der zwei bei Fall IV erwähnten Arten annähernd in gleicher Menge.

Fall XVII. 26. April 09.

Auf beiden Platten je ca. 50 Kolonien zweierlei Arten, wie bei Fall IV, die Stäbchen bei weitem vorherrschend.

Fall XVIII. 26. April 09 (Zw.).

Aus Schnur zahllose Kolonien der 3 bei Fall I enthaltenen Bakterienarten in etwa der gleichen Verteilung wie bei I, aus Band nur ca. 50 Kolonien der zwei im Fall IV beschriebenen Arten, zu gleichen Teilen.

Fall XIX. 29. April 09.

Aus dem Stück Nabelschnur wachsen unzählbare Kolonien der zwei bei Fall IV erwähnten Arten; Stäbchen weit überwiegend an Zahl.

Aus dem Stück Band entwickelt sich eine noch höhere Zahl von Kolonien, sechs verschiedene Arten. Außer den drei bei I genannten nach Kartoffelbacillen-, Sarcinokolonien etc. Die unter I 1 genannten Stäbchen sind auch hier weit zahlreicher als alle anderen Arten vertreten. Am spärlichsten sind die Streptokokken- und gelben Kokkenkolonien.

Fall XX. 30. April 09.

Schnur läßt nur eine dicke schleimige Kolonie der bei Fall VIII erwähnten Kurzstäbchen zur Entwicklung kommen.

Auf der Bandplatte wachsen ca. 200 Kolonien der bei Fall IV erwähnten zwei Arten, in derselben Verteilung wie dort.

Fall XXI. 9. Juni 09.

Aus Band wachsen 155 Kolonien der Stäbchenart I 1, ferner 1 Kokkenkolonie. In der Schnurplatte 4 Kolonien der Stäbchenart I 1. Außerdem einige schwer erkennbare und zählbare Kolonien der gleichen Art unter der Schnur.

Fall XXII. 9. Juni 09.

67 Kolonien der Stäbchenart I 1 auf der Bandplatte; 8 Kolonien derselben Art auf der Schnurplatte; beide Male in Reinkultur.

Fall XXIII. 9. Juni 09.

Auf der Schnurplatte sind 18, auf der Bandplatte 22 Kolonien der Coli-ähnlichen Stäbchen I. 1 in Reinkultur zur Entwicklung gekommen.

Nach diesem Protokoll dürfte es wohl noch von Interesse sein, über die fast regelmäßig wiederkehrende Coli-ähnliche Stäbchenart Genaueres zu erfahren. Es ist mir zunächst ganz zweifellos, daß es sich immer um dieselbe Bakterienart handelt. Das Aussehen der Kolonien auf der

Platte ist ein so typisches, daß es nicht schwer ist, die Art herauszuerkennen. Sie bildet auf der Agarplatte dreierlei verschiedene Kolonien, je nachdem, ob dieselben an der Ober- oder Unterfläche, bzw. in dem Nährboden, also allseitig von ihm umgeben, liegen. Die Kolonien an der Unterfläche sind kreisrund, ziemlich groß, aber sehr zart, blaßblau bei durchfallendem Lichte; die im Nährboden erscheinen dem bloßen Auge als kompakte scharf begrenzte, schwach gelbliche, runde oder wetzsteinförmige Kolonien; die auf der Oberfläche als unregelmäßig rundliche oder vieleckige, dicke, grauweiße Auflagerungen, die auf der Oberfläche eine blattartige Zeichnung tragen, wie man sie bei Coli-Kolonien auf der Gelatineplatte so deutlich unter dem Mikroskop erkennen kann. Die tieferen Risse dieser Zeichnung kann man an den Kolonien unserer Stäbchenart aus den Nabelschnuren und ihren Bändern schon mit bloßem Auge erkennen. Unter dem Mikroskop wird die Zeichnung viel deutlicher, die Kolonien erscheinen da außerdem zuweilen von einem konzentrischen Wall umgeben. Im übrigen ergeben sich, auch bei den an der Unterfläche liegenden, bzw. im Nährboden befindlichen Kolonien bei der mikroskopischen Betrachtung keine Besonderheiten. Ich habe mich mindestens in der Hälfte der untersuchten Objekte, bei denen diese Stäbchenart gewachsen war, davon überzeugt, einmal, daß diese drei Kolonienarten derselben Bakterienspezies zugehörten; ferner von der Tatsache, daß es sich immer um dieselbe Stäbchenart in den oben erwähnten Fällen gehandelt hat. Das Letztere geschah durch mikroskopische und biologische Untersuchung der Art. Besonders das Wachstum auf den bekannten, zur Unterscheidung von Typhusbacillen etc. einerseits, von *Bacterium coli* andererseits dienenden Nährböden ist so charakteristisch, daß es leicht gelang, auf diese Weise die große Mehrzahl der gewonnenen Stämme zu identifizieren. Danach ist nun allerdings ganz sicher geworden, daß es sich um *Bacterium coli* nicht handelt; ein Schluß, der schon aus dem abweichenden Verhalten der Kolonien auf der Agarplatte — hier blattartige Zeichnung in vieleckigen Kolonien, beim *Bacterium coli* völlig glatte runde Kolonien — gezogen worden war. Wenn man eine Erklärung für das fast regelmäßige Auftreten dieser Stäbchenart finden will, wird es erwünscht sein, zunächst über die weiteren Eigenschaften derselben ein möglichst klares Bild zu erhalten. Es handelt sich also um Stäbchen sehr verschiedener Länge und Breite, von sehr kleinen, fast runden, schmalen und plumpen Formen bis zu 8—9 μ langen Zellen von $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$ μ Dicke alle Uebergänge zeigend. Auch Scheinfäden sind vorhanden. An den Enden der längeren Formen sieht man zuweilen, aber undeutlich, etwas wie eine stärkere Lichtbrechung. Eine eigentliche Fortbewegung ist wohl nicht vorhanden. Doch finden sich besonders unter den mittleren Formen solche, die sehr lebhaft Drehungen ihres Körpers um Längs- und Querachse vornehmen. Geißelfärbungen haben nicht zur Erkennung von Anhängseln an den Zellen geführt. Sporenbildung ist nicht beobachtet. Die Aufnahme der Anilinfarben erfolgt glatt und leicht, gleichmäßig über den ganzen Zellkörper. Bei der Gramschen Färbung wird der Farbstoff abgegeben. Das Wachstum auf den gebräuchlichen Nährböden ist kurz folgendes: Auf der Agaroberfläche ein blaugrauer Ueberzug ohne Besonderheiten, einzelne Kolonien erscheinen so, wie es oben bei den oberflächlich liegenden Kolonien der Agarplatten beschrieben ist. Im Kondenswasser gleichmäßige Trübung, kein Häutchen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Kolonien in der Tiefe rund, braungelb, ohne Besonderheiten. Auch die oberflächlichen er-

scheinen mehr rund, zeigen zuweilen einen Nabel, aber nur sehr undeutliche blattartige Zeichnung. Auf schräg erstarrter Gelatine Kolonien trocken, blau durchscheinend, unregelmäßig begrenzt, zum Teil 4 mm im Durchmesser erreichend, in der Mitte dicker, als in der Peripherie. Wachstum noch schnell bei 18° C. In allen Impfstichen erfolgt das Wachstum am kräftigsten an der Oberfläche, im Stich zwar Wachstum bis in die tiefste Stelle des Stiches, aber im ganzen Stich nur spärlich gegen das Oberflächenwachstum. Traubenzucker wird nicht vergoren, Neutralrotagar nicht in der Farbe verändert, Milch gerinnt nicht, wird auch in Monaten nur wenig durchsichtiger, Spuren von Indolbildung (ganz schwache Rosafärbung nach Zusatz von Kaliumnitrit und Schwefelsäure) in Peptonwasser. Lackmusmolke wird etwas röter, auf Kartoffeln ein schleimiger, schmutziggrauer Ueberzug, Bouillon wird in toto getrübt, außerdem bildet sich meist an der Oberfläche ein graues Häutchen. Auf Conradi-Drigalski-Platten blaue Kolonien, Endo-Agar wird nicht rot gefärbt. Die Widerstandsfähigkeit der Stäbchenart gegen Austrocknung ist trotz mangelnder Sporenbildung sehr groß. Es ist mir mehrfach gelungen, von Traubenzucker enthaltenden Agarnährböden noch 8 Monate nach der Impfung lebende Kulturen zu erhalten. Verdünnungen hochwertiger spezifischer Sera von 1:100, und zwar Typhuserum, Paratyphus-B-Serum, Dysenterieserum bleiben bei 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank ohne jeden Einfluß auf die Kultur, keine Spur von Agglutination. Pathogen für weiße Mäuse sind die Stäbchen weder bei subkutaner noch intraperitonealer Impfung.

Daß diese Stäbchen nicht aus der Scheide stammen, scheint mir nach einem Vergleich der bekannten Arbeiten von Döderlein und Menge-Krönig zweifellos. Der *Bacillus vaginalis* Döderlein, mit dessen in der Arbeit über das Scheidensekret mitgeteilten Photographen unser Stäbchen übrigens die größte Aehnlichkeit zeigt, unterscheidet sich, falls es sich dabei überhaupt um eine einheitliche Art handelt, durch das zarte Wachstum auf Agar, durch seine große Empfindlichkeit gegen Austrocknung, durch das Nichtwachstum auf Kartoffeln, sowie überhaupt bei niedriger Temperatur, durch seine fakultative Anaërobie, durch die stärkere Säurebildung. Menge und Krönig haben überhaupt keine strenger aërobe Kultur auf alkalischem Agar aus der Scheide von Schwangeren, Kreißenden oder Wöchnerinnen erhalten. Wenn wir von der von ihnen als *Bacillus vaginalis* Döderlein bezeichneten Art absehen, handelt es sich immer um mehr oder weniger streng anaërobe Stäbchenarten, die auf alkalischem, zuckerfreiem Agar gar nicht, auf sauerem Agar, besonders zuckerhaltigem, dagegen gut gedeihen. Da auch sonst, soweit ich die Literatur berücksichtigen konnte, von den Untersuchern der Bakteriologie des weiblichen Genitalkanals Angaben über eine Bakterienart, wie ich sie oben beschrieben habe, nicht gemacht werden, so nehme ich an, daß diese Art nicht aus der Scheide stammt. Sie hat sich in den 23 Fällen 18mal, und zwar meist in überwiegender Menge und bei Band und Schnur, häufig genug in üppigster Reinkultur, gefunden.

Die in 3 Fällen erhaltenen schleimigen Kolonien gehören einer sicher in die Gruppe der Friedländer-Bacillen (Kapselbacillen) gehörigen Bakterienart an. Genauere Untersuchungen darüber liegen nicht vor.

Streptokokkenkolonien sind 10mal, die gelben Kolonien von Haufenkokken nur 7mal und immer nur in sehr geringer Zahl angetroffen worden.

Marburg, den 17. März 1910.

Nachdruck verboten.

Ueber Fütterungsversuche an Mäusen mit gesundem Fleisch.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer zu
Kiel (Leiter: Herr Dr. Bugge.)
Arbeit V.]

Von **Albin Schellhorn**, Sanitätstierarzt in Preetz (Holstein).

Die bakteriologische Fleischschau hat in den letzten Jahren zweifellos eine große Bedeutung erlangt. Die Erfolge, welche in neuerer Zeit mit der Anwendung der bakteriologischen Prüfung des Fleisches notgeschlachteter Tiere auf Keimgehalt erzielt worden sind, sprechen am deutlichsten für die Richtigkeit. Es sind mit seiner Hilfe eine ganze Reihe von Fällen ermittelt worden, in denen das Fleisch keimhaltig war. Wäre dieses Fleisch in den freien Verkehr gelangt, so hätten unter Umständen schwere Gesundheitsschädigungen der Konsumenten eintreten können. Das Kapitel der sogenannten Fleischvergiftungen gibt uns darüber genügenden Aufschluß! Mit dem weiteren Ausbau der heute üblichen Methoden der Untersuchung verdächtigen Fleisches auf Keimgehalt dürften zweifellos noch günstigere Resultate zu erzielen sein, und es werden sich vielleicht auch noch einfachere und zweckdienlichere Verfahren finden lassen.

Bei dem Stande der Hygiene vor etwa 4 Jahrzehnten waren derartige Resultate naturgemäß nicht zu erwarten. Man ahnte damals erst etwas über die Entstehung der Infektionskrankheiten durch niedere Spaltpilze [cf. Bollinger (1)], war indessen noch nicht imstande die Erreger der Krankheiten zu isolieren. Infolgedessen suchte man sich mit anderen Mitteln zu helfen. Man zog den Tierversuch heran und suchte aus dem Verhalten der Tiere nach der Fütterung Schlüsse auf den Menschen zu ziehen. Zu solchen Versuchen wurden hauptsächlich Mäuse verwendet.

Während heutzutage die Zweckmäßigkeit der bakteriologischen Untersuchung kaum noch angezweifelt wird, beurteilen die einzelnen Autoren den Tierversuch verschieden. Die einen sehen in ihm eins der wichtigsten Hilfsmittel zur Entscheidung der Verwendbarkeit des Fleisches notgeschlachteter Tiere. Die anderen dagegen lassen die bei der Fütterung von Fleisch an Mäuse gewonnenen Resultate aus dem Grunde nicht gelten, weil die Tiere einesteils an reine Fleischnahrung nicht gewöhnt sind, andernteils aus solchen Versuchen nicht ohne weiteres auf den Menschen geschlossen werden kann.

Bisher wurden in der Hauptsache Mäuse, insbesondere weiße, als Versuchstiere herangezogen. Die Bevorzugung dieser Tiere beruhte einerseits in der Billigkeit derselben, andererseits in deren bequemer Verwendung. Als Material zu diesen Fütterungen wurde bisher nur Fleisch benutzt, nach dessen Genuß bei Menschen schon Gesundheitsschädigungen aufgetreten waren. Dagegen habe ich in der Literatur keine Angaben über Mäusefütterungen finden können, bei denen das verdächtige Fleisch bereits vor dem Konsum verfüttert worden war. Ebenso finden sich nirgends Notizen über Fütterungen mit gesundem Fleisch, obwohl dieses Moment für die Verwendbarkeit dieser Versuche von größter Wichtigkeit wäre.

Literatur*).

- 2) Johne, dem wir die erste bakteriologische Forschung über die Aetiologie der Fleischvergiftungen verdanken, gelang es schon im Jahre 1884 bei der Fleischvergiftung zu Lauterbach in Hessen einen Bacillus nachzuweisen, der auf Mäuse und andere Versuchstiere pathogen wirkte.
- 3) Gaffky u. Paak züchteten 1885 gelegentlich der Fleischvergiftungsepidemien zu Röhrsdorf und Egelsdorf einen coli-ähnlichen Bacillus aus den Organen der mit verdächtigen Pferdefleischwürsten geimpften Tiere. Dieser Bacillus tötete Versuchstiere, u. a. Mäuse auch per os.
- 4) Gärtner hat 1888 bei der Frankenhäuser Fleischvergiftung einen Mikroorganismus in dem verdächtigen Fleische nachgewiesen, den er als die eigentliche Ursache der Erkrankung ansprach und Bacillus enteritidis nannte. Gärtner konnte auch gleichzeitig das pathogene Vermögen seines Bacillus für verschiedene Versuchstiere, u. a. auch Mäuse, nachweisen; letztere erlagen sowohl der Infektion per os, wie der subkutanen und intraperitonealen Impfung. Gärtner beschrieb seinen Bacillus und die Eigenschaften desselben eingehend und gab damit den Anstoß zu weiteren exakten Forschungen über diese Bakterienarten.
- 5) Johne u. Gärtner erforschten bereits im folgenden Jahre (1889) die Fleischvergiftung zu Cotta gemeinschaftlich. Auch hier fanden sie einen Bacillus in dem verdächtigen Fleisch, der sich von dem Bacillus enteritidis nicht unterschied. Mäuse erlagen der Fütterung mit diesem Fleisch.
- 6) Groenouw beschrieb 1890 einen durch geräucherten Schinken veranlaßten Fleischvergiftungsfall. Mit den Resten des Schinkens gefütterte Mäuse starben bereits 24 Stunden nach der Fütterung.
- 7) van Ermengem fand bei der Fleischvergiftung zu Moorseele im Jahre 1891 in dem Mark der Tibia eines Kalbes einen Mikroorganismus, den er mit dem Bacillus enteritidis identifizieren konnte. Mäuse erlagen der Fütterung.
- 8) Holst konnte 1891 bei seinen Studien über die in der Irrenanstalt zu Gaustad bei Christiania ausgebrochene Fleischvergiftungsepidemie in dem verdächtigen Fleische einen Mikroorganismus nachweisen, der für Mäuse pathogen war.
- 9) Poels u. Dhont fanden 1892 bei der Fleischvergiftung zu Rotterdam unzählige Bacillen in dem verdächtigen Fleisch. Mit diesem Fleisch gefütterte Mäuse starben.
- 10) Basenau züchtete 1893 aus dem Fleisch einer Kuh, welche wegen Erkrankung nach dem Kalben notgeschlachtet worden war, den „Bacillus bovis morbi-ficans“. Er fand diesen auch bei der Verfütterung für Mäuse pathogen.
- 11) Fischer hat 1893 bei der Fleischvergiftung zu Rumfleth bei Wilster als Ursache der Erkrankungen Enteritidbakterien nachgewiesen. Mit Fleisch gefütterte Mäuse starben nach 6 bis 7 Tagen.
- 12) Kaensche isolierte 1893 gelegentlich der Breslauer Fleischvergiftung aus Hackfleisch einen Mikroorganismus, der sowohl mit dem Moorseeleer wie dem Gärtnerbacillus übereinstimmte. Von Flüge wurden Fütterungsversuche an Mäusen angestellt; letztere starben nach 2 bis 3 Tagen.
- 13) Johne beschreibt eine der Breslauer ähnliche Epidemie, die sich im Mai 1894 in Bischofswerda ereignete. Die aus dem verdächtigen Fleische isolierten Mikroorganismen standen den Gärtnerbacillen sehr nahe. Mäuse starben hier infolge der Fütterung nach 6—12 Tagen.
- 14) Fischer hatte 1895 bei der Haustedter Vergiftung, die durch Fleisch eines kranken Ochsen verursacht wurde, abermals Enteritidbakterien nachgewiesen. Mit diesem Fleisch gefütterte Mäuse starben nach 8 Tagen. Im gleichen Jahre konnte derselbe Autor bei dem Grünthaler Fleischvergiftungsfalle Versuche mit Mäusen anstellen. Die mit der verdächtigen Leberpastete gefütterten Tiere gingen nach 7 Tagen ein.
- 15) Hamburger fand 1895 in verdächtigem Fleisch, nach dessen Genuß in einem größeren Privatspital Utrechts alle Insassen erkrankt waren, einen Bacillus, den er „Bacillus celluloseformans“ nannte. Mit diesem Fleisch gefütterte Mäuse starben nach 2—4 Tagen.
- 16) van Ermengem hatte 1895 Gelegenheit, Untersuchungen über die Fleischvergiftung zu Gent in Belgien auszuführen. Er fand in den untersuchten Cervelatwürsten und in den Organen des verstorbenen Schlachthausinspektors, der die betreffenden Würste für genießbar gehalten und selbst davon gegessen hatte, einen mit dem Gärtner-Bacillus identischen Mikroorganismus, der für zahlreiche Tierarten, darunter auch Mäuse, sehr pathogen war.
- 17) Fischer hat im Jahre 1896 wieder einen Fall untersucht, der sich zu Glückstadt nach dem Genuß von Leberwürsten, die aus dem Fleisch eines offenbar krank

1) s. Einleitung!

- gewesenen Schweines hergestellt waren, ereignete. Aus den Resten zweier Leberwürste konnte er ein von dem *Bacterium coli commune* nicht zu unterscheidendes Bacterium züchten, welches bei Verfütterung an Mäuse den Tod derselben unter Erscheinungen der hämorrhagischen Enteritis herbeiführte.
- 18) Günther untersuchte 1896 bei Gelegenheit gehäufter Erkrankungen, die in verschiedenen Distrikten der Provinz Posen vorkamen (Kreis Kempen), Reste von Schweinefleisch, die als die Ursache der Vergiftungen beschuldigt wurden. Er konnte aus den betreffenden Fleischresten zwar nur Fäulniskeime gewinnen, dagegen aus Leber und Nieren eines Gestorbenen einen dem *Bacillus enteritidis* ähnlichen Mikroorganismus, der für Mäuse von verschiedenen Eingangspforten her, auch per os, sehr pathogen war.
 - 19) Wesenberg untersuchte im August 1897 Fleisch einer wegen traumatischer Herzbeutelentzündung notgeschlachteten Kuh, welches bei 63 Personen im Mansfelder Seekreis Erkrankungen herbeigeführt hatte. Er fand in diesem Fleisch einen für Mäuse sehr pathogenen Mikroorganismus.
 - 20) Pfuhl isolierte 1900 gelegentlich einer Massenerkrankung in der Kaserne in Hannover, die auf Wurstgenuß zurückgeführt wurde, einen für Mäuse bei Verfütterung sehr pathogenen Mikroorganismus.
 - 21) Hoefnagel fütterte 1904 mit Fleisch, welches ein Abdecker verkauft hatte und nach dessen Genuß Erkrankungen mehrerer Personen eingetreten waren, Mäuse. Diese starben nach 2—7 Tagen.
 - 22) Schröder stellte 1905 mit Fleisch einer mit einer schweren Metritis behafteten Kuh Fütterungsversuche an Mäusen an, welche nach 2 Tagen starben.
 - 23) Babès konnte 1905 aus Lammfleisch, nach dessen Genuß 3 Personen gestorben waren, den *Bacillus enteritidis* züchten, den er durch Verfütterung an Mäuse isolierte.
 - 24) Jacobson u. Kutscher isolierten 1906 aus beschlagnahmtem Schabefleisch, welches in Berlin bei ca. 90 Personen Erkrankungen herbeigeführt hatte von denen 2 tödlich verliefen, einen Mikroorganismus, der als *Paratyphus* erkannt wurde. Aus den mit dem betreffenden Fleisch gefütterten Mäusen konnte letzterer gleichfalls gewonnen werden.
 - 25) Fromme berichtet über eine Fleischvergiftung durch *Paratyphusbacillen*, welche sich im Oktober 1906 nach Genuß von rohem, gekochtem und gebratenem Schweinefleisch ereignete. Er verfütterte Stücke des Schinkens an 2 Mäuse, die am 2. Tage Krankheitserscheinungen zeigten, sich aber wieder erholten und dauernd gesund blieben.
 - 26) Ostertag berichtet über Erkrankungen, die im April 1907 in Hamburg bei ca. 20 Personen nach Genuß geschabten Rindfleisches eintraten. Fütterungsversuche mit dem beschlagnahmten Fleisch an Mäusen haben deren Tod herbeigeführt.
 - 27) Heller beschreibt 1907 eine Fleischvergiftungsepidemie, die auf Genuß geschmorter Leberwurst zurückgeführt wurde. Von 36 erkrankten Personen starben 4. Aus der Milz eines Gestorbenen isolierte Heller ein dem *Paratyphusbacillus* morphologisch und kulturell ähnliches Stäbchen. Fütterungsversuche an Mäusen verliefen resultatlos.
 - 28) Riemer berichtet über Erkrankungen nach Genuß von Leberwürsten. Diese waren von einem Gut in Pommern bezogen worden und dort angeblich aus dem Fleisch von ganz gesunden Schweinen hergestellt. Zahlreiche Personen erkrankten im Dezember 1907 nach dem Genuß dieser Würste. Subkutan geimpfte Mäuse starben, gefütterte blieben am Leben.
 - 29) Kutscher hatte bei Verfütterung paratyphusbacillenhaltigen Materials an weiße Mäuse bei Verwendung älterer Kulturen unsichere Resultate. Durch zwei frische PT.-Stämme konnte er regelmäßig weiße Mäuse in etwa 10—14 Tagen mittelst Verfütterung töten (1907).
 - 30) Marx beschreibt 1908 eine Paratyphusepidemie, bei der infolge Genusses von Leberwurst 43 Mann des Inf.-Rgts. 166 erkrankten. Die verdächtige Wurst wurde an 2 Mäuse verfüttert, von denen die eine am 6. Tage, die andere nach 14 Tagen starb.
 - 31) Hübener untersuchte 1908 100 Wurstproben aus verschiedenen Bezugsquellen auf das Vorkommen von *Paratyphusbacillen*; er fand darunter 6mal PT.-Bacillen. Die betr. Proben erwiesen sich bei Verfütterung an Mäuse pathogen.
 - 32) Uhlenhuth u. Schern wiesen 1908 in 3 Tage auf Eis aufbewahrtm Schabefleisch durch Mäusefütterung Gärtner-Bacillen nach.
 - 33) Mühlens, Dahm u. Fürst stellten ausgedehnte Versuche an weißen Mäusen an, die sie im Oktober 1908 veröffentlichten. Sie verfütterten 57 Proben von Fleischwaren aus dem verschiedensten Delikateßgeschäften Berlins, namentlich Gänsebrust und rohen Schinken, an 138 weiße Mäuse und konnten bei 70 (= 50 Proz.), der Versuchstiere positive Ergebnisse erzielen.

- 34) Holth verfütterte 1908 zur Nachprüfung der Versuche von Mühlens, Dahm und Fürst an 54 weiße Mäuse Proben des gleichen Materials (Gänsebrust und rohen Schinken). Seine Resultate standen jedoch in völligem Widerspruch zu denjenigen der genannten Autoren. Er konnte in keinem einzigen Falle Mikroben nachweisen, die mit den PT.- oder den Fleischvergiftungsbakterien Aehnlichkeit dargeboten hätten.

Durch alle diese Tierversuche wurde die Gesundheitsschädlichkeit des betreffenden Fleisches resp. der Fleischwaren erwiesen. Man könnte somit behaupten, daß man neben der bakteriologischen Untersuchung verdächtigen Fleisches auch durch Mäusefütterungsversuche eventuellen Gefahren für die menschliche Gesundheit rechtzeitig begegnen könnte, da diese Tiere sich in fast allen Fällen, in denen es sich tatsächlich um schädliches Fleisch handelte, als brauchbar erwiesen hatten. Aber selbst wenn man dieser Auffassung rückhaltslos beitreten wollte, ist es doch immerhin auffällig, daß es sich in allen diesen Fällen, in welchen Mäuse als Versuchstiere verwendet wurden, ohne jede Ausnahme um Fleisch handelte, durch welches die menschliche Gesundheit bereits geschädigt worden war. In der ganzen Literatur ist dagegen kein Fütterungsversuch zur Kontrolle der Wirkung von normalem Fleisch zu finden. Wollte man nun mit voller Ueberzeugung behaupten, daß nur nach Fütterung von Fleisch, welches auch die menschliche Gesundheit zu schädigen geeignet ist, Mäuse sterben, gesundes Fleisch dagegen ohne jeden Nachteil von diesen vertragen würde, so hätte man zweifellos auch erst nach dieser Richtung hin ausreichende Versuche anstellen müssen. Erst nachdem durch solche Versuche einwandfrei erwiesen worden ist, daß Mäuse gesundes Fleisch ohne jeden Nachteil für ihre Gesundheit vertragen, haben die Fütterungsversuche mit verdächtigem Fleisch ihre Berechtigung und wären als wirklich brauchbar zu empfehlen. Da nun derartige Versuche bisher völlig fehlten und die Frage der Mäusefütterung bei den in der jüngsten Zeit in großer Zahl vorgenommenen bakteriologischen Fleischuntersuchungen wieder akut geworden ist, so waren vor einer Bewertung der Mäusefütterung in der Hinsicht erst umfangreiche Versuche anzustellen. Ich folgte daher einer diesbezüglichen Anregung durch den Leiter des Tierseucheninstituts der Landwirtschaftskammer zu Kiel, Herrn Dr. Bugge, und fütterte zum Teil in meinem Laboratorium zu Preetz, zum anderen Teil in genanntem Institute und unter der Leitung des genannten Herrn eine große Reihe solcher Versuche aus. Dieselben wurden am 24. März begonnen, mußten kurz darauf aus besonderen Gründen wieder aufgegeben werden, konnten dann aber vom 17. April ab ununterbrochen weitergeführt werden, bis sie am 12. Juli definitiv abgebrochen wurden.

Eigene Versuche.

Die nachstehenden Versuche wurden an weißen und einigen grauen Mäuse unter strengster Beobachtung folgender allgemeiner Grundsätze ausgeführt.

I. Gefäße.

Die Mäuse wurden in ausgewaschenen und sterilisierten Mäusegläsern untergebracht und diese entweder nach 2 Tagen gewechselt oder gründlichst mit 5-proz. Parisollösung gereinigt. Sobald größere Verunreinigungen des Wattelagers bereits vor dem 3. Tage eine gründliche Säuberung nötig machten, geschah dies früher, mitunter täglich, namentlich wenn das Lager durch vergossenes Wasser durchfeuchtet und die Tiere dadurch naß geworden waren.

II. Fleisch.

Das verfütterte Fleisch wurde nur von bestgenährten jungen Tieren entnommen, die von mir selbst untersucht und sowohl bei der Untersuchung im lebenden wie geschlachteten Zustande vollständig gesund befunden worden waren. Zu den Versuchen der Serie IX wurden Fleischstücke verwendet, welche aus verschiedenen Orten der Provinz Schleswig-Holstein zwecks Untersuchung auf Keimgehalt an das bakteriologische Institut in Kiel eingeschickt worden waren. In allen übrigen Fällen wurden nur die besten Stücke aus der Keule verwendet. Die betreffenden Fleischstücke wurden alle auf Keimgehalt untersucht. In den Versuchen I—XXXV, XXXVIII—XLVII, L—LII, LV und LVI verwendeten Fleischstücken konnten durch das Plattenverfahren (es wurden stets 3 Platten angelegt) keine Keime ermittelt werden (abgesehen von vereinzelten Luftkeimen und zufälligen belanglosen Verunreinigungen der Platten). Die zu den Versuchen XXXVI und XXXVII verwendeten Fleischstücke stammten von einem älteren Kalbe und waren streptokokkenhaltig, das zu den Versuchen XLVIII, XLIX, LIII, LIV, LVII und LVIII verwendete Fleisch, von infizierten Kaninchen herrührend, enthielt PT.-Bacillen in großer Anzahl. Das in den Versuchen XLVIII und XLIX verfütterte Fleisch stammte von einem Kaninchen, welches mit einer 8 Wochen alten PT.-Kultur infiziert worden war, das zu den Versuchen LIII, LIV, LVII und LVIII verwendete Fleisch von zwei mit einer frischen PT.-Kultur infizierten Kaninchen.

III. Fütterungsmethoden.

Die zur Verfütterung gelangenden Fleischstücke wurden von allen Seiten gründlichst abgebrannt, bis sich eine schwarzbraune Kruste um dieselben gebildet hatte. Hierauf wurde mit sterilem Messer ein Schnitt in die Tiefe angelegt und aus dieser mit ebenfalls sterilem Messer Fleischpartikelchen abgeschabt. Die wurden in den allerersten (Orientierungs-) Versuchen in folgender Weise verfüttert: Die Mäuse wurden von einer Person mit der rechten Hand im Genick, mit der linken an der Schwanzwurzel gehalten, hierauf von einer zweiten Person mit Bindfädenschlingen Ober- und Unterkiefer auseinandergezogen und nun mit sterilen Pinzetten kleine Fleischteile in das Maul gestopft. Hierbei starben in den ersten Versuchen (I, II, V) 3 Tiere. Um in der Folge Verluste dieser Art zu vermeiden und auch eine einfachere Fütterungsmethode ausfindig zu machen, wurde weiterhin Mäusen in bestimmten Gläsern das steril entnommene geschabte Fleisch einfach in die Gläser geworfen. Es wurde dabei die Beobachtung gemacht, daß viele Mäuse gleich von dem vorgeworfenen Fleische fraßen, während andere dies verschiedentlich von allen Seiten berochen und sich dann wieder abkehrten, bis sie, wohl durch den Hunger dazu getrieben, am 2. Tage ebenfalls von dem Fleische fraßen. Diejenigen Mäuse nun, die gleich fraßen, wurden zu je 5 zusammen in Gläser gesteckt, während die anderen einseitig nebenbei noch gestopft wurden. Schließlich wurde, weil beabsichtigt war, eine möglichst große Anzahl Mäuse zu füttern, diese umständliche Stopfmethode ganz aufgegeben, namentlich weil mitunter nicht die zu dieser Fütterung nötigen Personen rechtzeitig zur Verfügung standen. Die Mäuse bekamen nun das Fleisch erst, nachdem sie etwa $\frac{1}{2}$ Tag gehungert hatten und nahmen es dann in der Regel gleich und gierig auf. Da sich diese Methode als praktisch und leicht ausführbar erwies, wurde sie beibehalten, und es waren auf diese Weise mitunter 30—40 Mäuse gleichzeitig im Versuche. Frisches Wasser wurde täglich in Nöpfchen verabreicht.

A. Fütterungsversuche mit keimfreiem Fleisch.
Versuchsreihe I: Versuche mit rohem Fleisch. (R. = Rindfleisch; Schw. = Schweinefleisch; K. = Kalbfleisch.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs- No.	Tier- No.	Fütterungszeit	Ge- storben	Sektionsbefund	Bakterio- logischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durch- schnitt nach Tagen
I	M 1	3 Tage: 24.-26. 3. 09 R.	24. 3.			Bei der Fütterung erstickt	Nicht berücks.	—
	" 2							
	" 3							
	" 4							
II	M 5	3 Tage: 17.-19. 4. 09 R.	19. 4. 20. 4. 20. 4. 17. 4.	Darmtzündung " "	— — —	Bei der Fütterung gestorben	Nicht berücks.	4
	" 6							
	" 7							
	" 8							
	" 9							
	" 10							
IV	M 15	4 Tage: 22.-25. 4. R.	29. 4. 26. 4. 28. 4.	Darmtzündung " "	— — —			6
	" 16							
	" 17							
	" 18							
V	M 19	4 Tage: 22.-25. 4. R.	26. 4. 22. 4. 29. 4. 28. 4. 29. 4. 24. 4.	Darmtzündung — Darmtzündung " "	— — — — — —	Bei der Fütterung gestorben	Nicht berücks.	6
	" 20							
	" 21							
	" 22							
	" 23							
	" 24							
	" 26							
	" 27							
VII	M 26	4 Tage: 27.-30. 4. R.	1. 5. 1. 5. 1. 5. 1. 5. 1. 5.	Starke Darmtzündung " " " "	— — — — — —	Graue Maus		5
	" 27							
	" 28							
	" 29							
	" 30							
	" 31							
VIII	M 31	4 Tage: 27.-30. 4. R.	1. 5. 1. 5. 30. 4. 1. 5. 1. 5.	Starke Darmtzündung " " " "	— — — — —			5
	" 32							
	" 33							
	" 34							
	" 35							

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs- No.	Tier- No.	Fütterungszeit	Ge- storben	Sektionsbefund	Bakterio- logischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durch- schnitt nach Tagen
IX	M 36	2 Tage: 27. u. 28. 4. R.	29. 4.	Darmentzündung	—	Graue Maus	3	3
X	M 37	4 Tage: 27.—30. 4. R.	1. 5.	Starke Darmentzündung	—		5	5
	" 38		1. 5.	"	—		5	
	" 39		30. 4.	"	—		4	
	" 40		1. 5.	"	—		5	
	" 41		1. 5.	"	—		5	
XII.	M 47	2 Tage: 1. u. 2. 5. R.	2. 5.	Darmentzündung	—		2	2
XIII	M 48	4 Tage: 4.—7. 5. R.	7. 5.	Starke Darmentzündung	—		4	4
	" 49		6. 5.	"	Coli-Bakterien		3	
	" 50		8. 5.	"	—		5	
	" 51		7. 5.	"	—		4	
	" 52		7. 5.	"	—		4	
XIV	M 53	4 Tage: 4.—7. 5. R.	7. 5.	Starke Darmentzündung	—		4	4
	" 54		7. 5.	"	—	Vordere Hälfte aufgefressen	4	
	" 55							
	" 56							
	" 57							
XV	M 58	4 Tage: 4.—7. 5. R.	6. 5.	Hochgrad. Darmentzündg.	Coli-Bakterien		3	3
	" 59		6. 5.	"	"		3	
	" 60		6. 5.	Hochgradige Darmentzündung; Leber intensiv gelb	"		3	
	" 61		6. 5.	Hochgrad. Darmentzündg.	"		3	
	" 62		6. 5.	"	"		3	
XVI	M 63	4 Tage: 4.—7. 5. R.	8. 5.	Hochgrad. Darmentzündg.	—		5	4
	" 64		6. 5.	"	Coli-Bakterien		3	
	" 65		7. 5.	"	Coli-Bakterien u. Kokken		4	
	" 66		8. 5.	"	—		5	
	" 67		6. 5.	"	Coli-Bakt., dünne u. dicke Stäbchen		3	

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs- No.	Tier- No.	Fütterungszeit	Ge- storben	Sektionsbefund	Bakterio- logischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durch- schnitt nach Tagen
XVIII	M 73	4 Tage: 4.—7. 5. R.	7. 5.	Darmentzündung	—	M 73, 74, 76 über Nacht von M 77 angefressen	4	4
	" 74		7. 5.	"	—		4	
	" 75		6. 5.	"	—		3	
	" 76		7. 5.	"	—		4	
XXI	M 82	4 Tage: 10.—13. 5. R.	17. 5.	Hochgrad. Darmentzündg.	—	Starke Fäulnis	8	7—8
	" 83		16. 5.	"	—		7	
	" 84		16. 5.	"	—		7	
	" 85		17. 5.	"	—		8	
XXII	M 87	4 Tage: 10.—13. 5. R.	12. 5.	Darmentzündung	—	Starke Fäulnis	3	6
	" 88		13. 5.	"	—		4	
	" 89		20. 5.	"	—		11	
	" 90			"	—			
XXVII	M 114	4 Tage: 14.—17. 5. R.	—	—	—	Die Tiere sind beim Futter- wechsel sehr gedrückt und struppig		
	" 115		—	—	—			
	" 116		—	—	—			
	" 117		—	—	—			
XXVIII	M 118	4 Tage: 14.—17. 5. R.	—	—	—	Die Mäuse machen einen sehr schlechten Eindruck. Sie fühlen sich am 5. Tage ganz kalt an; gehen nicht vom Fleck, wenn sie aus dem Glas herausgenommen werden		
	" 119		—	—	—			
	" 120		—	—	—			
	" 121		—	—	—			
XXXIII	M 122	4 Tage: 21.—24. 5. R.	—	—	—	Die Tiere sind beim Futter- wechsel sehr elend, ganz kalt, und machen den Eindruck, als würden sie jeden Augen- blick verenden		
	" 123		—	—	—			
	" 144		—	—	—			
	" 145		—	—	—			
	" 146		—	—	—			
	" 147		—	—	—			
	" 148		—	—	—			

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs- No.	Tier- No.	Fütterungszeit	Ge- storben	Sektionsbefund	Bakterio- logischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durch- schnitt nach Tagen
XXXIV	M 149	4 Tage: 21.—24. 5. R.	—			3 Tiere sind am 5. Tage sehr elend und erholen sich nach dem Futterwechsel nur ganz allmählich wieder		
	" 150		—					
	" 151		—					
	" 152		—					
	" 153		—					
XLI	M 164	4 Tage: 3.—6. 6. Schw.	—			Die Tiere sind beim Futterwechsel sehr struppig		
	" 165		—					
	" 166		—					
XLV	M 177	4 Tage: 9.—12. 6. Schw.	3. 7.	Darmentzündung; Leber, Milz geschwollen		Die Tiere sind sehr struppig und gedrückt beim Futterwechsel	25	25
	" 178		—					
	" 179		—					
	" 180		—					
	" 181		—					
LI	M 192	4 Tage: 15.—18. 6. K.	5. 7.	Sehr starke Darmentzünd. Schwellung der Nieren; sehr starke Leber- und Milzschwellung, Leber mit zahlreichen nekrotischen Herden durchsetzt	PT.	Wenig Auffallendes während der Fütterung außer struppigem Haar in den letzten Tagen	21	21
	" 193		—					
	" 194		—					
	" 195		—					
	" 196		—					

IV. Fütterungszeit.

Die Dauer der Fütterungsversuche erstreckte sich auf 1—4 Tage. Nach Ablauf dieser Zeit erhielten die Tiere wieder in Wasser eingeweichte Semmel. In der Regel wurde 3 oder 4 Tage gefüttert. Der 4. oder 5. Tag nach Beginn der Fleischfütterung erwies sich bei vielen Versuchen als der kritischste. Die Mehrzahl der Mäuse starb zu dieser Zeit oder war dermaßen elend, daß ein nahes Ende befürchtet werden mußte; so z. B. in den Versuchen XXIV, XXVII, XXVIII, XXX, XXXI, XXXIII, XXXIV, XXXIX, XLI und XLV. Mitunter erholten sich die Tiere überraschend schnell, in anderen Fällen dauerte dies mehrere Tage, ja es wurden sogar Tiere beobachtet, die nach mehr als 14 Tagen noch deutlich die Folgen der Fütterung zeigten (Versuch LIV).

Bei der Sektion der gestorbenen Mäuse wurden in der Mehrzahl der Fälle Darmentzündungen in den verschiedensten Abstufungen festgestellt. An den Lungen konnte nur selten etwas Auffälliges gefunden werden; nur bei den PT.-Mäusen waren teilweise Hämorrhagieen zu bemerken. An Leber, Milz und Nieren wurden häufig Schwellungen, vereinzelt auch parenchymatöse Veränderungen gefunden. Sehr starke Vergrößerungen an Leber und Milz wurden insbesondere bei verschiedenen Mäusen beobachtet, welche mit Fleisch von notgeschlachteten, kranken und mit PT.-Bacillenkulturen infizierten Tieren gefüttert worden waren. Bei diesen Mäusen wurden auch häufiger nekrotische Herde in geringer oder größerer Zahl gefunden; namentlich in den Lebern. Auch in einzelnen Milzen wurden nekrotische Herde in geringer Anzahl ermittelt.

Aus dem Herzblute der großen Mehrzahl der gestorbenen Mäuse wurden Schrägagarkulturen angelegt. Vereinzelt Tiere waren derartig angefault, daß von Blutausrichen aus diesen abgesehen werden mußte. Mitunter war es ganz unmöglich, die Mäuse weiter zu verarbeiten, da dieselben in der verschiedensten Weise über Nacht von ihren Genossen angefressen, resp. nahezu ganz aufgeessen worden waren (Versuch LIII, M 139!). In vielen Fällen blieben die Herzblutausriche steril, auf den übrigen waren Kolonien aufgegangen, in welchen zum größten Teile kleine, dünne Stäbchen in großer Anzahl nachgewiesen werden konnten. Diese erwiesen sich nach Ausstrichen auf Drigalski-Platten in der Regel als Coli- oder PT.-Bakterien. Neben diesen feinen Stäbchen wurden hauptsächlich Kokken, sowie vereinzelt dicke Stäbchen ermittelt (s. Tabelle p. 433—436).

Von den 105 mit rohem Fleisch gefütterten Mäusen der I. Versuchsreihe starben 61 = 58,09 Proz.; und zwar:

Nach	2 Tagen	1 Maus
"	3 "	13 Mäuse
"	4 "	14 "
"	5 "	20 "
"	7 "	2 "
"	8 "	5 "
"	11 "	1 Maus
"	21 "	1 "
"	25 "	1 "
Zusammen:		58 Mäuse
hierzu 3 "		die beim Füttern starben
		= 61 Mäuse

Die Mehrzahl der Tiere starb demnach zwischen dem 3. und 5. Tage (ca. 81 Proz.).

Aus der II. Versuchsreihe ergibt sich, daß das Allgemeinbefinden der Tiere bei der gemischten Fütterung wesentlich besser war als bei

Versuchsreihe II: Versuche mit rohem Fleisch (R.) mit eingeweichter Semmel vermisch.
(a. = $\frac{1}{3}$ Fleisch und $\frac{2}{3}$ Semmel; b. = $\frac{1}{2}$ Fleisch und $\frac{1}{2}$ Semmel; c. = $\frac{2}{3}$ Fleisch und $\frac{1}{3}$ Semmel.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen	
XI	M 42	4 Tage:	—			Es wurde nichts besonders Auffälliges während der Fütterung bemerkt			
	„ 43	27.—30. 4.	—						
	„ 44	(b.)	—						
	„ 45		—						
	„ 46		—						
XXIII	M 92	4 Tage:	—			Die Tiere sind am 4. Tage struppig u. weniger lebhaft als zu Beginn der Fütterung			
	„ 93	10.—13. 5.	—						
	„ 94	(c.)	—						
	„ 95		—						
	„ 96		—						
XXIV	M 97	4 Tage:	—			Sehr kl. Mäuse			
	„ 98	10.—13. 5.	—						
	„ 99	(a.)	12. 5.	Darmentzündg.	—			3	3
	„ 100		—						
	„ 101		—						

Versuchsreihe III: Fütterungsversuche mit gekochtem Fleisch (R.) in eingedickter Bouillon.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
VI	M 25	2 Tage: 25. u. 26. 4.	26. 4.	Darmentzündg.	—	Graue Maus	2	2
XXV	M 102	4 Tage: 10.—13. 5.	13. 5.	Darmentzündg.	—	Die Sektion der Mäuse 102, 103, 105, 106 u. 107 konnte erst am 14. 5. nachm. ausgeführt werden. Wegen starker Fäuln. wurden keine Herzblutausstriche angelegt	4	
	„ 103		13. 5.	„	—		4	
	„ 104		12. 5.	„	Kokken		3	4
	„ 105		13. 5.	„	—		4	
	„ 106		13. 5.	„	—		4	
	„ 107		13. 5.	„	—		4	
XXVI	M 108	4 Tage: 10.—13. 5.	12. 5.	Darmentzündg.	Kokken		3	
	„ 109		12. 5.	„	Gramneg. Stäbchen		3	
	„ 110		12. 5.	„	Gramneg. Stäbchen (PT.)		3	3
	„ 111		13. 5.	Starke Darmentzündung	Gramneg. Stäbchen (PT.)		4	
	„ 112		12. 5.	Darmentzündg.	—		3	
	„ 113		12. 5.	„	Gramneg. Stäbchen u. Kokken		3	
XXIX	M 124	4 Tage: 14.—17. 5.	—			Die Tiere waren beim Futterwechsel nahe am Verenden		
	„ 125		—					
	„ 126		—					
	„ 127		—					
	„ 128		—					

reiner Fleischfütterung. Es war kaum etwas Auffälliges an den Versuchstieren zu bemerken und die Verluste waren dementsprechend sehr gering; es starb nur eine einzige Maus nach Ablauf von 3 Tagen (= 6,6 Proz.).

Von 18 mit gekochtem Fleisch (in eingedickter Bouillon) gefütterten Mäusen der III. Versuchsreihe starben 13 = 72,15 Proz. im Durchschnitt.

Bedenkt man, daß die Tiere aus Versuch XXIX beim Futterwechsel dem Verenden nahe waren, so ergibt sich, daß die Versuche mit gekochtem Fleisch sehr ungünstig ausfielen, da in allen Versuchen, mit Ausnahme eines einzigen, 100 Proz. Verluste zu verzeichnen waren.

Die Tiere starben durchschnittlich nach 3—4 Tagen.

Versuchsreihe IV: Fütterungsversuche mit rohem Fleisch an Mäusen, die schon mit Fleisch und Semmel vorgefüttert waren.

(R. = Rindfleisch; Schw. = Schweinefleisch; H. = Hammelfleisch; K. = Kalbfleisch.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
XVII	M 68	4 Tage:	6. 5.	Darmentzündg.	Colibakterien	Die Mäuse waren bereits im Versuch XI (s. d.) M 72 angefressen	3	4
	„ 69	4.—7. 5.	8. 5.	„	—		5	
	„ 70	R.	6. 5.	„	—		3	
	„ 71		8. 5.	„	—		5	
	„ 72		6. 5.	„	—		3	
XXXIX	M 92	4 Tage:	—			Die Tiere waren bereits im Versuch XXIII (s. d.). Sie sind vor d. Futterwechsel sehr gedrückt u. struppig		
	„ 93	2.—5. 6.	—					
	„ 94	H.	—					
	„ 95		—					
	„ 96		—					
XL	M 97	4 Tage:	—			Waren bereits im Versuch XXIV. Sind am 5. Tage sehr gedrückt u. struppig		
	„ 100	3.—6. 6.	—					
	„ 101	Schw.	—					
XLI	M 98	4 Tage: 3.—6. 6. Schw.	—			War schon im Versuch XXIV. Ist vor d. Futterwechsel sehr struppig		
L	M 98	4 Tage: 15.—18. 6. K.	—			Wiederh. gefüttert. Am 4. Tage struppig, Appetit gut		

In der IV. Versuchsreihe starben von 15 mit Fleisch und Semmel in verschiedener Mischung vorgefütterten Tieren 5, und zwar alle mit Rindfleisch gefütterten Mäuse, welche im I. Versuche mit Fleisch und Semmel zu gleichen Teilen gefüttert worden waren. Die übrigen Mäuse aus dieser Versuchsreihe überstanden die Fütterung verhältnismäßig gut. Die Verluste betragen 33 Proz.

Die Mäuse starben im Durchschnitt nach 4 Tagen.

Aus der V. Versuchsreihe starben 5 von 10 Tieren, mithin 50 Proz. durchschnittlich, obgleich die Mäuse bereits einmal mit rohem Fleisch vorgefüttert worden waren. Die überlebenden Tiere waren ohne Ausnahme äußerst hinfällig. Das Resultat war demnach auch hier, wie in

der III. Versuchsreihe, sehr ungünstig. Die Tiere starben alle 4 Tage nach Beginn der Fütterung.

Versuchsreihe V: Fütterungsversuche mit gekochtem Fleisch (R.) an Mäusen, die bereits mit rohem Fleisch vorgefüttert waren.

1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen		
XXX	M 129	4 Tage: 21.—24. 5.	24. 5.	Starke Darm- entzündung dgl.	—	Die überlebenden Mäuse waren nahe am Ver- enden	4			
	„ 130		24. 5.		—		4	4		
	„ 131		—	—	—		—	—	—	
	„ 132		—	—	—		—	—	—	
	„ 133		24. 5.	—	„		—	4		
XXXI	M 134	4 Tage: 21.—24. 5.	—	Starke Darm- entzündung dgl.	—	Die überleben- den Tiere sind äußerst hinfäl- lig	4			
	„ 135		—		—		—	—	—	
	„ 136		24. 5.		—		—	4	4	
	„ 137		24. 5.		—		—	—	—	—
	„ 138		—		—		—	—	4	

Versuchsreihe VI: Fütterungsversuch mit rohem Fleisch (R.) an Mäusen, die schon mit gekochtem Fleisch vorgefüttert waren.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
XXXII	M 139	4 Tage: 21.—24. 5.	—			Die Tiere machen einen kranken Eindruck; zwei davon sind sehr elend		
	„ 140		—					
	„ 141		—					
	„ 142		—					
	„ 143		—					

Obwohl diese 5 Mäuse die im allgemeinen sehr ungünstig verlaufenen Fütterungsversuche mit gekochtem Fleisch überstanden hatten, ist doch die Fütterung mit rohem Fleisch nicht spurlos an ihnen vorübergegangen; ein Beweis dafür, daß auch eine Vorfütterung mit gekochtem Fleisch den Tieren nicht absoluten Schutz gegen weitere Fütterungen mit Fleisch verleihen kann. Immerhin waren die bei diesem Versuche erzielten Resultate als günstige zu bezeichnen, da gar keine Verluste zu verzeichnen waren.

Die Resultate der VII. Versuchsreihe sind im Gegensatz zu den meisten vorhergehenden noch als günstige zu bezeichnen. Es starben von 15 gefütterten Tieren 3 = 20 Proz. Eine Maus verendete erst nach 28 Tagen, die beiden anderen bereits nach 5 Tagen. Aus dieser Versuchsreihe könnte man vielleicht den Schluß ziehen, daß die Tiere sich mehr an die Fleischfütterungen gewöhnten, sobald sie erst einmal mehrere solcher überstanden haben.

Resultat der VIII. Versuchsreihe: Von 10 bereits in verschiedener Weise vorgefütterten Mäusen starben 5 = 50 Proz. durchschnittlich. Der Sektionsbefund bei den mit Schweinefleisch gefütterten Tieren des Versuches XLIV war ein besonders auffälliger insofern, als bei sämtlichen Tieren eine auffallend starke Entzündung des Darmes sowie starke

Versuchsreihe VII: Wiederholte Fütterungsversuche mit rohem Rindfleisch,
Schweinefleisch und Kalbfleisch.
(R. = Rindfleisch; Schw. = Schweinefleisch; K. = Kalbfleisch.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs- No.	Tier- No.	Fütterungs- zeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakterio- logischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durch- schnitt nach Tagen
III	M 11	3 Tage:	24. 4.	Darmentzündg.	—	Die Mäuse waren schon im Versuch I	5	5
	„ 12	20.—22. 4.	—					
	„ 13	R.	24. 4.	„	—		5	
	„ 14		—					
XIX	M 78	4 Tage:	—			2 aus Versuch II, 1 aus Vers. III überleb. Maus		
	„ 79	4.—7. 5.	—					
	„ 80	R.	—					
XX	M 81	4 Tage: 4.—7. 5. R.	—			Aus Versuch III überleb. graue Maus		
XL	M 85	4 Tage:	—			Aus Vers. XXI u. XXII über- lebende Mäuse		
	„ 90	3.—6. 6. Schw.	—					
XLI	M 87	4 Tage: 3.—6. 6. Schw.	—			Aus Vers. XXII überleb. Maus		
L	M 87	4 Tage: 15.—18. 6. K.	12. 7.	Leber bedeutend vergrößert und mit zahlreichen nekrotisch. Her- den durchsetzt. Milz sehr be- trächtlich ver- größert, einzelne nekrot. Herde in derselben. Starke Darm- entzündung	Gramneg. Stäb- chen in großer Zahl (PT.)	Aus Vers. XXII und XLI über- lebende Maus	28	28
L	M 164	4 Tage:	—			Die Tiere waren bereits im Ver- such XLI mit roh. Schweine- schinken ge- füttert		
	„ 165	15.—18. 6.	—					
	„ 166	K.	—					

Schwellung der Milz, Leber und Nieren zu konstatieren war. Namentlich bei 3 Tieren (M 132, 134, 138) waren auffallende Veränderungen an der Leber, und zwar bedeutende Vergrößerung dieses Organes und Knötchenbildung in demselben, zu finden. Wie der bakteriologische Befund ergab, waren diese Knötchen resp. nekrotischen Herde auf eine Infektion mit Paratyphusbacillen zurückzuführen. Da das verfütterte Fleischstück bei der bakteriologischen Untersuchung keimfrei befunden worden war, muß wohl angenommen werden, daß ein Tier dieser Versuchsreihe ein PT.-Bacillenträger war und die übrigen Mäuse durch dieses Tier infiziert wurden. Auffällig an Versuch XLIV ist ferner, daß die Tiere sehr spät — im Durchschnitt erst nach 25 Tagen — starben.

Zu IX: Aus der 9. Versuchsreihe starben von zusammen 41 mit verschiedenen Fleischsorten gefütterten Mäusen 22 = 55,46 Proz. Sämtliche Fleischstücke mit einer Ausnahme stammten von Tieren, welche sich im geschlachteten Zustande mit Mängeln behaftet erwiesen, welche

Versuchsreihe VIII: Fütterungsversuche mit verschiedenen Fleischsorten und in verschiedener Art verabreicht.

(Rindfleisch mit Semmel vermischt, gekochtes Rindfleisch, rohes Hammelfleisch, rohes nüchternes Kalbfleisch.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
XXXVIII	M 131 " 132 " 134 " 135 " 138	4 Tage: 2.—5. 6. H.	— — — — —			Diese Mäuse waren im Vers. XXVII resp. XXVIII mit rohem Rindfleisch, im Vers. XXX resp. XXXI mit gekochtem Rindfleisch und im Vers. XXXVI mit streptokokkenhaltig. Kalbfleisch gefüttert worden		
XLIV	M 131 " 132 " 134 " 135 " 138	4 Tage: 9.—12. 6. Schw.	23. 6. 1. 7. 3. 7. 6. 7. 10. 7.	Bei sämtlichen Mäusen starke Darmentzündung, Milz-, Leber- und Nierenschwellung. Bei M 132, 134 und 138 Leber bedeutend geschwollen u. mit vielen kleinen nekrotisch. Herden durchsetzt	Die Ausstriche aus den Herzblutkulturen sind auf Drigalski-Agar blau gewachsen (PT.)	(S. unter Bemerkungen b. Vers. XXXVIII	15 23 25 28 32	25

den Verdacht erwecken mußten, daß der Genuß des Fleisches dieser Tiere die menschliche Gesundheit unter Umständen schädigen würde. Die betreffenden Fleischproben waren deshalb dem bakteriologischen Institut zur Untersuchung eingeschickt worden, es konnten jedoch in keinem Falle Keime in den Proben ermittelt werden. Die betreffenden Tiere wurden infolgedessen auch dem freien Verkehr überlassen und es sind keinerlei gesundheitliche Schädigungen durch den Genuß des Fleisches dieser Tiere bekannt geworden. Um so auffälliger ist es, daß über die Hälfte der Tiere dieser Versuchsreihe infolge der Fleischfütterung starb und zum Teil, wie die eingehende bakteriologische Untersuchung ergab, mit Paratyphusbacillen behaftet war. Letztere wurden bei 14 = 34,02 Proz. ermittelt. Die Tiere starben, wie nachstehende Uebersicht zeigt, verhältnismäßig spät, nämlich:

nach 4 Tagen	3 Mäuse	Uebertrag:	11 Mäuse
" 5 "	2 "	nach 11 Tagen	2 "
" 6 "	2 "	" 12 "	3 "
" 7 "	1 Maus	" 13 "	1 Maus
" 8 "	2 Mäuse	" 14 "	2 Mäuse
" 9 "	1 Maus	" 15 "	2 "
	11 Mäuse	" 16 "	1 Maus
		Zusammen:	22 Mäuse

Versuchsreihe IX: Fütterungsversuche mit Fleisch von kranken, notgeschlachteten und verendeten Tieren.
(R = Rindfleisch; Schw. = Schweinefleisch.)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
XXXV	M 154	4 Tage: 25.—28. 5.	29. 5.	Hochgradige Darmentzündg.	Gramneg. Stäbchen	Das verfütterte Fleischstammte	5	5
	" 155	R.	28. 5.	"	Colibakterien	von einer 3-jährigen Kuh mit	4	
	" 156		28. 5.	"	—	Septikämieverdacht	4	
	" 157		30. 5.	"	Gramneg. Stäbchen in großer Anzahl		6	
	" 158		29. 5.	"	Colibakterien		5	
XLII	M 167	4 Tage: 8.—11. 6.	18. 6.	Starke Darm-entzündung;	Gramneg. Stäbchen in großer	Das verfütterte	11	13
	" 168	R.	21. 6.	Schwellung der	Zahl (PT.)	Fleischstammte	14	
	" 169		22. 6.	Leber, Milz u.		von einer Kuh	15	
	" 170			Nieren. In der		mit Metritis		
	" 171			Leber von M 168 und M 169 viele nekrot. Herde				
XLIII	M 172	4 Tage: 8.—11. 6.	19. 6.	Starke Darmentzündung; Leber	Gramneg. Stäbchen in großer	Das verfütterte	12	13
	" 173	R.	19. 6.	bedeutend vergrößert, mit	Zahl (PT.)	Fleischstammte	12	
	" 174		22. 6.	vielen nekrotischen Herden		von einer mit	15	
	" 175			durchsetzt; Milz stark geschwollen		Metritis behafteten Kuh		
	" 176							
XLVI	M 182	4 Tage: 9.—12. 6.	21. 6.	Hochgradige Darmentzündg.	—	Das verfütterte	13	15
	" 183	Schw.	24. 6.	Hochgradige		Fleischstammte	16	
	" 184			Darmentzündg.	Gramneg. Stäbchen in großer	von einem not-		
	" 185			Leber und Milz geschwollen; in	Zahl (PT.)	geschlachteten		
	" 186			der Leber kleine nekrot. Herde		Schwein mit septikämischen Erscheinungen		
XLVII	M 187	4 Tage: 9.—12. 6.	14. 6.	Hochgradige Darmentzündg.	—	Das verfütterte	6	8
	" 188	Schw.	16. 6.	"		Fleischstammte	8	
	" 189		16. 6.	Hochgr. Darm-entzd. Leber u.	{Gramneg. Stäbchen in großer	von einem not-	8	
	" 190		17. 6.	Milz geschwollen und mit nekrotischen Herden durchsetzt		Zahl (PT.)	geschlachteten	
	" 191		—	—		Schwein mit Septikämieverdacht	9	
LII	M 197	4 Tage: 16.—19. 6.	29. 6.	Hochgr. Darm-entzündung;	Gramneg. Stäbchen in großer	Das verfütterte	14	14
	" 198	Schw.	—	Leber, Milz u.	Zahl (PT.)	Fleischstammte		
	" 199		—	Nieren stark geschwollen; in d.		von einem unter		
	" 200		—	Leber viele nekrotische Herde		verdächtig. Erscheinungen		
	" 201		—			(Sept.) krepier-ten Schwein. Die Mäuse waren während d. Fütterungsehlend und struppig		

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuchs-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
LV	M 202	4 Tage: 23.—26. 6. R.	26. 6.	Starke Darm- entzdg. Leber u. Milz stark ge- schwollen. In d. Leber von M 204 u. 205 viele ne- krotische Herde	(Gramneg. Stäb- chen in großer Anzahl (PT.))	Das verfütterte Fleisch stammte v. einem Ochsen mit Enteritis u. Peritonitis	4	9
	„ 203		29. 6.				7	
	„ 204		3. 7.				11	
	„ 205		4. 7.				12	
	„ 206		getötet 12. 7.				—	
	LVI	M 207	4 Tage: 24.—27. 6. Schw.	—	—	—	Das verfütterte Fleisch stammte v. einem Schwein mit hochgradig. Gelbsucht. Die Mäuse waren alle während u. noch 10 Tage nach der Fütte- rung sehr strupp- pig, sonst aber lebhaft	—
„ 208	—	—						
„ 209	—	—						
„ 210	—	—						
„ 211	—	—						
„ 212	—	—						

Hiernach trat der Tod bei der einen Hälfte vor, bei der anderen Hälfte erst nach 10 Tagen ein. Die letztere blieb aus praktischen Gründen außer Berechnung. Ein Blick über die erste Hälfte zeigt, daß auch hier noch von 11 Tieren 7 = ca. 64 Proz. nach durchschnittlich 5 Tagen starben.

Auffällig an Versuch LVI war, daß die Tiere dieses Versuches noch lange Zeit nach beendeter Fütterung struppiges und schmutziggelbes Aussehen zeigten.

B. Fütterungsversuche mit keimhaltigem Fleisch.

Versuchsreihe Xa: Fütterungsversuche mit streptokokkenhaltigem Fleisch (Kalbfleisch).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuch-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
XXXVI	M 131	4 Tage: 29. 5. — 1. 6.	—	—	—	M 131 und 132 waren bereits im Vers. XXVII u. XXX M 134, 135 u. 138 im Vers. XXVIII und XXXI	—	—
	„ 132		—					
	„ 134		—					
	„ 135		—					
	„ 138		—					
XXXVII	M 159	4 Tage: 29. 5. — 1. 6.	2. 6.	Darm- entzündung	—	M 161 und 163 waren nahe am Verenden, er- holten sich je- doch nach 2 Tagen wieder vollständig	5	5
	„ 160		—					
	„ 161		—					
	„ 162		—					
	„ 163		—					

Die Verluste infolge der Fütterungen mit streptokokkenhaltigem Fleisch betragen 10 Proz.; es starb von 10 Tieren nur ein einziges. Die Sektionserscheinungen bei der verendeten Maus waren unerheblich; außer einer geringgradigen Darmentzündung konnte nichts Besonderes festgestellt werden.

Die verendete Maus starb nach 5 Tagen.

Versuchsreihe Xb: Fütterungsversuche mit PT.-Bacillenhaltigem Fleisch.

1) mit 8 Wochen alter PT.-Bacillenkultur infiziertes Kaninchenfleisch.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Versuch-No.	Tier-No.	Fütterungszeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durchschnitt nach Tagen
XLVIII M	92	3 Tage: 12.—14. 6.	7. 7.	Starke Darmentzündung. Leber, Milz, Nieren stark geschwollen; in der Leber vereinzelte nekrot. Herde	Gramneg. Stäbchen in großer Zahl (PT.)	Die Tiere waren bereits im Versuch XXIII	26	26
"	93		—					
"	94		—					
"	95		—					
"	96		—					
XLIX M	85	3 Tage: 12.—14. 6.	—			Die Tiere waren schon in Versuch XXI, XXII und XXVII		
"	90		—					
"	97		—					
"	100		—					
"	101		—					

Von 10 Mäusen, die mit Fleisch eines mit einer 8 Wochen alten Paratyphusbacillenkultur infizierten Kaninchens 3 Tage lang gefüttert worden waren, starb nur eine nach 26 Tagen. In der Leber dieser Maus konnten nur vereinzelte nekrotische Herde gefunden werden. Aus dem Herzblute wurden Paratyphusbacillen in Reinkultur gewonnen. Nach diesem Fütterungsergebnis scheinen ältere Kulturen an Virulenz zu verlieren.

Zu X b, 2: Im Gegensatz zu dem Sektionsbefund der im Vers. XLVIII verendeten M 92 stand derjenige der Mäuse aus den Versuchen LIII, LIV, LVII und LVIII. Die Tiere waren mit Fleisch von Kaninchen gefüttert worden, die mit frischen Paratyphusbacillenkulturen infiziert worden waren. Die Sektionserscheinungen waren dementsprechend viel auffälliger. Bei sämtlichen Tieren war eine hochgradige Darmentzündung und bedeutende Schwellung der Leber, Milz und Nieren zu konstatieren. Infolge des schnelleren Verlaufes resp. früheren Todes der Tiere waren nur vereinzelte nekrotische Herde in den Lebern einiger Mäuse zu finden.

Sämtliche Tiere der 4 Versuche starben infolge der Fütterung nach 4—11 Tagen, und zwar:

nach 3 Tagen	1 Maus
" 4 "	6 Mäuse
" 5 "	4 "
" 6 "	1 Maus
" 9 "	3 Mäuse
" 10 "	3 "
" 11 "	2 "

Demnach starb auch in dieser Serie wieder die große Mehrzahl (= 66 Proz.) durchschnittlich nach 4—5 Tagen. Zwei nach dem 10. Tage gestorbene Tiere blieben hierbei außer Berechnung.

Xb, 2) mit frischer PT.-Bacillenkultur infiziertes Kaninchenfleisch.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Versuch- No.	Tier- No.	Fütterungs- zeit	Gestorben	Sektionsbefund	Bakterio- logischer Befund	Bemerkungen	Tot nach Tagen	Im Durch- schnitt nach Tagen	
LIII	M 139	4 Tage: 18.—21. 6.	22. 6.	—	—	Bis auf die Haut und den linken Vorderfuß auf- gefressen. Die Mäuse waren am 16. u. 17. 6. mit keimfreiem Kaninchenfl. vorgefüttert worden	5	9	
	„ 140		26. 6.	Hochgradige Darmentzündg.			Gramnegative Stäbchen PT.		9
	„ 141		27. 6.	dgl.					10
	„ 142		28. 6.	„					11
	„ 143		28. 6.	Hochgr. Darm- entzdg.; Leber, Milz u. Nieren stark geschwol- len					11
LIV	M 144	4 Tage: 18.—21. 6.	21. 6.	—	—	Halb aufgefes- sen. Die Mäuse waren am 16. u. 17. 6. mit keim- freiem Kanin- chenfleisch vor- gefüttert wor- den	4	5	
	„ 145		22. 6.	Hochgr. Darm- entzdg. Leber,			PT.		5
	„ 146		22. 6.	Milz u. Nieren					5
	„ 147		22. 6.	geschwollen					5
	„ 148		23. 6.	geschwollen					6
LVII	M 213	4 Tage: 26.—29. 6.	29. 6.	Starke Darm- entzündung;	PT.	Frische Mäuse. Die Tiere waren teilweise bereits am 2. Fütte- rungstage schwer krank. Halb aufgefes- sen	4	8	
	„ 214		4. 7.	Starke Darm- entzdg.; Leber			9		
	„ 215		4. 7.	u. Milz stark ge- schwollen, ver- einzelte nekrot.			10		
	„ 216		5. 7.	Herde in der Leber			10		
	„ 217		5. 7.	Herde in der Leber			10		
LVIII	M 218	4 Tage: 26.—29. 6.	28. 6.	Hochgr. Darm- entzdg., starke	PT.	Die Tiere waren teilweise schon vom 2. Tage ab sehr elend	3	4	
	„ 219		29. 6.	Schwellung der			4		
	„ 220		29. 6.	Leber, Milz u.			4		
	„ 221		29. 6.	Nieren			4		
	„ 222		29. 6.	Nieren			4		

Zusammenfassung.

Aus dem Resultat der 58 Versuche ist zu ersehen, daß reine Fleischfütterung, sowohl keimhaltigen wie keimfreien Fleisches, von weißen wie grauen Mäusen durchschnittlich schlecht vertragen wurde. Ein großer Prozentsatz der mit keimfreiem Fleisch gefütterten Tiere verendete bereits nach dem 3.—5. Tage und die überlebenden waren zum allergrößten Teile sehr hinfällig. Selbst nach dem Futterwechsel am 4. oder 5. Tage erholte sich eine große Anzahl der Versuchstiere nicht wieder, sondern starb im Verlaufe einiger weiterer Tage. Da die Versuche am 12. Juli 1909 abgeschlossen wurden und von ca. 60 überlebenden Mäusen noch eine ganze Anzahl im Verlaufe der nächsten Wochen starb, so würde das Gesamtergebnis bei weitem ungünstiger ausfallen. Aber abgesehen davon können wir doch aus den Versuchen wichtige Schlüsse ziehen. Läßt man die bei der ursprünglichen Stopfmethode verendeten (erstickten) 3 Tiere außer Berechnung, so findet man, daß nur 2 der mit keimfreiem Fleisch gefütterten Tiere bereits nach Ablauf von 2 Tagen starben. Der größte Prozentsatz starb nach 3 resp. 4 und 5 Tagen, und vom 6. Tage ab verminderte sich die Zahl der Todesfälle wieder ganz erheblich. Aus folgender Aufstellung ist das Nähere zu ersehen.

Es starben nach Verfütterung keimfreien Fleisches:

(am 1. Tage — beim Stopfen —			Uebertrag: 98 Mäuse		
nach	2 Tagen	2 Mäuse	nach	13 Tagen	1 Maus
"	3	23	"	14	2 Mäuse
"	4	28	"	15	3 "
"	5	26	"	16	1 Maus
"	6	2	"	21	1 "
"	7	3	"	23	1 "
"	8	7	"	25	2 Mäuse
"	9	1 Maus	"	28	2 "
"	11	3 Mäuse	"	32	1 Maus
"	12	3	<u>Zusammen: 115 Mäuse</u>		
98 Mäuse					

Von diesen 115 verendeten Tieren entfallen:

- I. 58 = 55,10 Proz. auf rohes Fleisch.
- II. 1 = 6,6 Proz. auf gemischte Fütterungen (Fleisch und Semmel).
- III. 13 = 72,15 Proz. auf gekochtes Fleisch in eingedickter Bouillon.
- IV. 5 = 33 Proz. auf mit Fleisch und Semmel vorgefütterte, mit rohem Fleisch nachgefütterte Tiere.
- V. 5 = 50 Proz. auf mit rohem Fleisch vorgefütterte, mit gekochtem Fleisch nachgefütterte Tiere.
- VI. 3 = 20 Proz. auf wiederholte Fütterungen mit rohem Fleisch.
- VII. 5 = 50 Proz. auf verschiedenartige Fütterungen.
- IX. 22 = 55,46 Proz. auf Fütterungen mit Fleisch von kranken, notgeschlachteten und verendeten Tieren.

(Die 3 am 1. Tage beim Stopfen verendeten Mäuse blieben außer Berechnung.)

Den niedrigsten Verlustprozentsatz weisen demnach die gemischten Fütterungen (= 6,6 Proz.), den höchsten die Fütterungen mit gekochtem Fleisch in eingedickter Bouillon (= 72,15 Proz.) auf. Der geringe Prozentsatz der gemischten Fütterungen erklärt sich ohne weiteres aus der Semmelbeigabe. Die Zwischenstufen weisen mit 55,46 Proz., 55,10 Proz., 50 Proz., 33 Proz. und 20 Proz. noch sehr beträchtliche Verluste auf. Trotzdem in der verschiedensten Weise gefüttert wurde und die Verlusttiere durch die gemischten und wiederholten Fütterungen gewissermaßen erst an die veränderten Lebensbedingungen gewöhnt worden waren, waren doch selbst nach dieser Vorbereitung bedeutende Verluste nicht zu vermeiden.

Die Fütterungen mit keimhaltigem Fleisch fielen verschieden aus. Während die Verluste bei Fütterungen mit streptokokkenhaltigem und mit Fleisch von Kaninchen, die mit einer 8 Wochen alten Paratyphusbacillenkultur infiziert worden waren, nur 10 Proz. betragen, starben sämtliche Versuchstiere (= 100 Proz.), welche mit Fleisch von Kaninchen gefüttert worden waren, die mit frischen Paratyphusbacillenkulturen infiziert waren. Letztere starben nicht früher, sondern später als die nach Fütterungen mit keimfreiem Fleisch verendeten Versuchstiere. Durchschnittlich starben mit keimfreiem Fleisch gefütterte Mäuse nach 9, mit frischer Paratyphusbacillenkultur infiziertem Fleisch gefütterte nach 10 Tagen.

Hieraus müßten wir folgern, daß sich Mäuse zu Versuchstieren für Fälle, in denen die Genußtauglichkeit resp. -untauglichkeit verdächtigen Fleisches festgestellt werden soll, nicht eignen, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Die Mäuse sind gegen ausschließliche Fleischfütterungen äußerst empfindlich, es stirbt selbst nach Verfütterungen allerbesten keimfreien Fleisches durchschnittlich über die Hälfte der Versuchstiere. Versuche,

die Tiere an reine Fleischnahrung zu gewöhnen und damit für die Zwecke der Fleischuntersuchungen geeigneter zu machen, sind äußerst schwierig, wenn nicht gar unmöglich. Hierüber müßten weitere, ausgedehnte Versuche angestellt werden.

2) Die Versuche ziehen sich zu sehr in die Länge und sind infolgedessen praktisch nicht zu verwerten. Es wird in der Praxis in den allermeisten Fällen ganz ausgeschlossen sein, verdächtiges Fleisch, dessen Genußtauglichkeit erst festgestellt werden soll, bis zur völligen Beendigung des Mäusefütterungsversuches so aufzubewahren, daß es vor dem Verderben u. dgl. geschützt ist. Die Mehrzahl aller Notschlachtungen entfällt zweifellos auf das platte Land, und dort stehen in der Regel geeignete Räumlichkeiten für die Aufbewahrung des Fleisches nicht zur Verfügung, dieses wird infolgedessen namentlich in den Sommermonaten leicht dem Verderben ausgesetzt sein. Wie aus den Versuchen zu ersehen ist, stirbt die Mehrzahl der Versuchstiere erst nach dem 4. resp. 5. Tage und noch später. Hierzu müßte man die Zeit für die Anlieferung der verdächtigen Fleischproben nach einer Zentrale und die dort zu treffenden Anordnungen für die Versuche mit mindestens 1 Tag hinzurechnen, da ja eine Verarbeitung resp. Verfütterung von event. erst in den späten Abendstunden oder in der Nacht eintreffenden Proben nicht gut verlangt werden kann. Es würde sich demnach um durchschnittlich 4—6 Tage handeln, bis die Entscheidung über die Fütterungsversuche getroffen werden könnte, und bis dahin dürften in den meisten Fällen in dem verdächtigen Fleische bereits Veränderungen vor sich gegangen sein, die eine Verwendung desselben als Nahrungsmittel für Menschen ausschließen würden.

3) In der Regel werden Fleischproben zur Untersuchung eingeschickt und dann verfüttert werden müssen, welche in bezug auf die Genußtauglichkeit Bedenken aufkommen ließen (vgl. Versuchsreihe IX). Würden nun nach Verfütterung solcher Proben an Mäuse 50 oder noch mehr Prozent derselben innerhalb weniger Tage sterben, so würde man gewiß geneigt sein, irgendwelche dem betreffenden Fleische anhaftende Schädlichkeiten zu vermuten und infolgedessen eventuell die völlige Vernichtung des betreffenden Tieres in Frage kommen. Durch die vorliegenden Versuche ist erwiesen worden, daß die Mäuse gegen reine Fleischnahrung, auch wenn es sich um solches allerbesten Sorte handelt, äußerst empfindlich sind; es stirbt ein bedeutender Prozentsatz infolge der Fütterungen. Der Mäusefütterungsversuch ist demnach keineswegs einwandfrei. Man würde unter Umständen zu Trugschlüssen kommen, würde Gesundheitsschädigungen nach dem Genuß verdächtigen Fleisches erwarten, die in Wirklichkeit gar nicht eintreten (vgl. die Versuche der Serie IX), würde die Vernichtung des betreffenden Tieres empfehlen und dadurch die Produzenten empfindlich und grundlos schädigen.

Dies muß natürlich unter allen Umständen vermieden werden, und es sind deshalb Hilfsmittel, die nicht in jeder Beziehung einwandfrei sind, von vornherein auszuschließen.

Würde es möglich sein, die Mäuse in irgendeiner Weise für derartige Versuche geeigneter zu machen, so daß sie ein wirkliches Hilfsmittel bei Fleischuntersuchungen darstellen würden, welches einwandfrei wäre, dann wären auch die Fütterungsversuche mit solchen Tieren zu empfehlen.

Derartige Vorbereitungsversuche, die in großer Zahl angestellt werden müssen und wohl äußerst langwierig und zugleich schwierig sein dürften, wären dringend anzuraten, damit die jetzt soviel diskutierte Frage des Wertes resp. Unwertes der Mäusefütterungen völlig geklärt

würde. Bis zu diesem Zeitpunkte ist aber auf Grund der vorliegenden Versuche die bakteriologische Untersuchung verdächtigen Fleisches, die sich bis jetzt aufs beste bewährt hat und auch einwandfrei ist, in jeder Beziehung vorzuziehen und zu empfehlen. Diese Untersuchungen sind in denkbar kürzester Frist auszuführen, das verdächtige Fleisch wird während dieser Zeit auch im Hochsommer und bei mangelhafter Aufbewahrung keine nennenswerten Schädigungen erleiden, und die Untersuchungen selbst sind nach den Erfahrungen, die seit Einführung dieses Verfahrens gewonnen wurden, und unter der Voraussetzung, daß sie in geeigneten Instituten oder dgl. und von bestgeschulten Kräften ausgeführt werden, bis jetzt noch immer als das zuverlässigste Hilfsmittel zur Entscheidung der in vielen Fällen äußerst schwierigen Frage der Genußtauglichkeit resp. -untauglichkeit verdächtigen Fleisches zu bezeichnen.

Schluß.

Aus den vorliegenden 58 Versuchen an 274 Mäusen ergibt sich demnach folgendes Resultat:

1) Nach Verfütterung besten keimfreien Materials starben 50 Proz. der Versuchstiere.

2) Der Tod trat bei der Mehrzahl im Durchschnitt nach 3—5 Tagen ein.

3) Nach Verfütterung keimhaltigen Materials starben:

a) 10 Proz. mit streptokokkenhaltigem Fleisch gefütterter Tiere. Diese verendeten nach 5 Tagen.

b) 10 Proz. mit einer 8 Wochen alten Paratyphusbacillenkultur infizierten Fleisches gefütterter Tiere. Der Tod trat nach 26 Tagen ein.

c) 100 Proz. mit frischer Paratyphusbacillenkultur infizierten Fleisches gefütterter Tiere. Die Tiere verendeten in der Mehrzahl der Fälle nach 4—5 Tagen.

Auf Grund der gewonnenen Resultate kann demnach der Mäusefütterungsversuch für die Zwecke der Beurteilung des Fleisches notgeschlachteter Tiere auf dem Lande nicht in Frage kommen, weil derselbe

1) sich zu sehr in die Länge zieht;

2) wegen des hohen Verlustprozentsatzes nicht absolut einwandfrei ist.

Für die Anregung zur vorliegenden Arbeit und für das stets rege Interesse an derselben, sowie auch für die Förderung dieser in jeder Hinsicht, erlaube ich mir, dem Leiter des bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer zu Kiel, Herrn Dr. Bugge, sowie auch dessen I. Assistenten, Herrn Dr. Kiessig, hierdurch meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Bollinger, Vortrag, gehalten vor d. 16. Versamml. d. Deutsch. Ver. f. öffentl. Gesundheitspfl. zu Düsseldorf. Juni 1876. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 1. 1890.)
- 2) Johne, Die Fleischvergiftung zu Lauterbach in Hessen 1884. (Ostertag, Handbuch d. Fleischschau. 4. Aufl. 1902.)
- 3) Gaffky u. Paak, Die Fleischvergiftung zu Röhrsdorf 1885. (Ostertag, Handbuch der Fleischschau.)

- 4) Gärtner, Ueber die Fleischvergiftung zu Frankenhausen am Kyffhäuser und den Erreger derselben, 1888. (Baumgartens Jahresber. üb. Mikroorganism. Jahrg. 4. 1888.)
- 5) Johne u. Gärtner, Die Fleischvergiftung zu Cotta 1889. (21. Jahresber. üb. d. Medizinalw. im Königr. Sachsen. 1889. p. 104/121.)
- 6) Groenouw, Fleischvergiftung durch geräucherten Schinken. (Klin. Monatsh. f. Augenheilk. 1890. Mai; Deutsche Mediz.-Ztg. 1890. No. 94.)
- 7) van Ermengem, Untersuchungen über die Fleischvergiftung zu Moorseele 1891. (Travaux du laborat. d'hyg. de l'Université de Gand. 1892.)
- 8) Holst, Bakteriologische Untersuchungen anlässlich der Massenerkrankungen in der Irrenanstalt zu Gaustadt 1891. (Norsk Magaz. f. Lægevidensk. 1894. No. 9.)
- 9) Poels u. Dhont, Ueber eine Fleischvergiftung zu Rotterdam 1892. (Nach einem Referat d. Deutsch. Mediz.-Ztg. in Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 5. Heft 2.)
- 10) Basenau, Ueber eine im Fleisch gefundene infektiöse Bakterie. (Arch. f. Hyg. Bd. 20. Heft 3.)
- 11) Fischer, Zur Aetiologie der sog. Fleischvergiftungen: 1) Fleischvergiftung zu Rumfleth bei Wilster 1893. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902.)
- 12) Kaensche, Zur Kenntnis der Krankheitserreger bei Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 22. Heft 1.)
- 13) Johne, Eine Fleischvergiftung in Bischofswerda 1894. (Ber. üb. d. Veterinärw. im Königr. Sachsen. 1894.)
- 14) Fischer, Zur Aetiologie der sog. Fleischvergiftungen: 2) Die Fleischvergiftung zu Haustedt 1895. 3) Die Fleischvergiftung zu Grünthal am Kaiser-Wilhelm-Kanal 1895. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902.)
- 15) Hamburger, Bacillus cellulaeformans. Zur Bakteriologie der Fleischvergiftungen 1895. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 6. Heft 10.)
- 16) van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 3.)
- 17) Fischer, Zur Aetiologie der Fleischvergiftungen: 4) Die Fleischvergiftung zu Glückstadt. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902.)
- 18) Günther, Fleischvergiftung im Kreise Kempen (Posen). (Ostertag, Handb. d. Fleischschau. 4. Aufl. 1902. p. 745.)
- 19) Wesenberg, Beitrag zur Bakteriologie der Fleischvergiftung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 28. Heft 3.)
- 20) Pfuhl, Massenerkrankung nach Wurstgenuß. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. Heft 2.)
- 21) Hoefnagel, Fleischvergiftung zu Utrecht 1904. (Tijdschr. v. Veeartsenijkunde. 1904. p. 561/65.)
- 22) Schröder, Folgen der Entfernung und Beseitigung einzelner Organe vor der Fleischschau. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 16. Heft 3.)
- 23) Babès, Die Fleischvergiftungen und ihre Beziehungen zu infektiösen Krankheiten der Tiere und des Menschen. (Romania med. 1905. No. 18; Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 17. Heft 1.)
- 24) Jacobson u. Kutscher, Eine Fleischvergiftungsepidemie infolge Infektion mit dem Bacillus paratyphi B. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. 1906. p. 331.)
- 25) Fromme, Ueber eine Fleischvergiftung durch Paratyphus B. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. Heft 2. p. 775.)
- 26) Ostertag, Hackfleischvergiftung zu Hamburg 1907. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 17. Heft 8.)
- 27) Heller, Bakteriologische Befunde bei einer Fleischvergiftungsepidemie. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. p. 146.)
- 28) Riemer, Ueber eine nach Genuß von Leberwurst beobachtete Fleischvergiftung und deren Erreger. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 169.)
- 29) Kutscher, Paratyphus. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Ergänzungsbd. 1.)
- 30) Marx, Ueber eine Paratyphus B-Epidemie beim Inf.-Regt. Hessen-Homburg No. 166. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909. p. 29.)
- 31) Hübener, Ueber das Vorkommen von Bakterien der Paratyphus B-Gruppe in der Außenwelt. (Deutsche med. Wochenschr. 1908. p. 1044.)
- 32) Uhlenhuth u. Schern, München. med. Wochenschr. 1909.
- 33) Mühlens, Dahm u. Fürst, Untersuchungen über Bakterien der Enteritisgruppe (Typus Gärtner und Typus Flügge), insbesondere über die sog. Fleischvergiftungserreger und die sog. Rattenschädlinge. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 43. Heft 1.)
- 34) Holth, Fütterungsversuche an weißen Mäusen mit Fleischwaren verschiedener Herkunft. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 49. Heft 5. p. 611.)

Nachdruck verboten.

Réponse au travail de Mr. Gaertner „Eine neue Katzensuche“.

[Institut Pasteur Paris.]

Par **Z. Skrzynski**, Paris.

Dans le Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51 du 14 août 1909 Mr. le Dr. Gaertner a publié un mémoire sur un microbe pathogène pour les chats qu'il appelle „B. pneumoniae felis“. Il est facile de se convaincre en lisant la notice ci-dessous, que le microbe de Mr. Gaertner est le même que celui que j'ai décrit en 1908 dans mon mémoire, publié dans „Les Annales de l'Institut Pasteur“, le mémoire qui a échappé à l'attention de Mr. Gaertner, parce qu'il n'en fait aucune mention dans sa notice bibliographique. Mon travail est intitulé „Nouveau microbe pathogène pour les chats“ (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 22. 1908. p. 682. 25 août).

C'est un microbe isolé d'une épidémie des chats. Par l'ensemble de ses caractères morphologiques, culturels et physiologiques, il appartient au groupe du coli bacille. Il se distingue pourtant du B. coli typique par son immobilité, par l'aspect des cultures sur gélose, par le fait qu'il ne fait pas fermenter le saccharose, par la spécificité de ses agglutinines et par son action pathogène spécifique sur les chats. Inoculé ou donné par ingestion à des chats jeunes ou âgés, ce microbe les tue en quelques jours.

Les souris, les rats, les cobayes, les lapins et les pigeons, nourris avec les mêmes cultures, se sont montrés insensibles. Pour les inoculations sous-cutanées, c'est les cobayes qui sont les moins résistants de tous ces animaux. Ils sont tués par des doses de 0,5 c. c. en 1—5 jours. Inoculés dans le péritoine avec 0,5 c. c., ils meurent en quelques heures. Les souris très résistantes aux inoculations sous-cutanées succombent très vite (en 4—10 heures) quand on les inocule dans le péritoine à une dose de 0,025 c. c. Il n'est pas difficile de préserver ou de guérir un chat de cette maladie soit en le vaccinant par des injections sous-cutanées avec les cultures atténuées, soit en le traitant avec un sérum spécifique.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf vorstehenden Artikel des Herrn Skrzynski.

Von Dr. A. Gaertner, Tierarzt in Wolgast.

Bei der Abfassung meiner Arbeit ist mir in der Tat die Veröffentlichung des Herrn Z. Skrzynski entgangen, sonst würde ich schon damals auf die Verschiedenheit der beiden von Herrn Skrzynski und mir gefundenen Erreger hingewiesen haben.

Skrzynski hat als Erreger einer Katzensuche einen Bacillus gefunden, der nach seinem morphologischen und kulturellen Verhalten in die Gruppe des Bacterium coli gehört, während ich bei einer

anderen Seuche ein kleines Kurzstäbchen gefunden und beschrieben habe, das zur Gruppe der Erreger der hämorrhagischen Septikämie gerechnet werden muß.

Skrzynski gibt Größenmaße seines Stäbchens nicht an. Er sagt nur: Die Mikroben stellen sich dar unter dem Mikroskop in der Form von mehr oder weniger langen Stäbchen mit abgerundeten Enden. Nicht selten findet man ovoide, fast runde Formen neben Stäbchen, die 4- oder 5mal so lang wie breit sind. Niemals bilden sich Fäden. Diese Formen sind sehr beständig auf allen Kulturmedien und in Kulturen jeden Alters.

Das von mir *Bacterium pneumoniae felis* benannte Kurzstäbchen ist 0,4—0,5 μ lang und 0,3—0,4 μ breit. Es ist also außerordentlich klein, etwa von der Größe der Influenzabacillen. Nur im Mäusekörper erscheint es etwas größer. Es erreicht in diesem öfters eine Länge von 1,2 μ und eine Breite von 0,4—0,6 μ . Neben den kleinsten Stäbchen kommen auch längere Formen zur Beobachtung, die, aus einer Reihe von Einzelindividuen zusammengesetzt, sich deutlich als Scheinfäden charakterisieren. Der ganze Habitus der Stäbchen erinnert auch nicht im geringsten an das *Bacterium coli*.

Abgesehen von der Form unterscheiden sich die beiden Stäbchen aber auch noch durch ihr kulturelles, biologisches und pathogenes Verhalten.

Das Skrzynskische Stäbchen wächst ausgezeichnet auf der Kartoffel und bringt Milch durch Säurebildung zum Gerinnen.

Mein Stäbchen wächst auf der Kartoffel nicht. Es wuchs nur dann, wenn Blut oder Milzsaft mit ausgestrichen wurde. In der Milch bewirkt es niemals eine Veränderung ihrer Reaktion, auch führt es niemals eine Gerinnung derselben herbei.

Für Katzen war das Skrzynskische Stäbchen viel virulenter als das *Bacterium pneumoniae felis*. Das Skrzynskische Stäbchen tötete die Katzen bei Verabreichung geringer Mengen per os. Mit meinem Stäbchen konnte ich Katzen niemals per os infizieren.

Die beiden Stäbchen sind daher vollständig voneinander verschieden.

Vielleicht ist Herr Skrzynski zu seiner irrtümlichen Auffassung von der Identität der Erreger dadurch gekommen, daß ich bei einer Katze in der Lunge neben dem *Bacterium pneumoniae felis* Mikroorganismen gefunden habe, die zur Gruppe des *Bacterium coli* gehörten.

Nachdruck verboten.

Ueber ein Cysticeroid aus einem Floh der Springmaus (*Alactaga jaculus*).

Von **Alfons Dampf**, Assistenten am Zoolog. Museum, Königsberg Pr.
Mit 2 Figuren.

Cysticercoide aus Flöhen scheinen erst in sehr geringer Zahl beschrieben zu sein, wenigstens ist aus der Literatur¹⁾ nur das Vorkommen der Larve von *Dipylidium caninum* (L.) (= *Taenia cucumerina*) in *Ctenocephalus canis* (Curt.) (= *Pulex serraticeps*)²⁾ und in

1) Vgl. die Zusammenstellung der bekannten Tänienfinnen in Brauns Bearbeitung der Cestoden in Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. IV, 1. p. 1561—1567.

2) Sonsino, P., Ricerche sugli ematozoi del cane e sul ciclo vitale della *Taenia*

Pulex irritans L.¹⁾ bekannt. Ich halte es daher für angebracht, ein Cysticeroid, das ich in der Abdominalhöhle eines Exemplares von *Mesopsylla eucta* n. sp.²⁾ fand (gesammelt von Prof. Heymons in Russisch-Turkestan [Golodnaja Stepj] auf *Alactaga jaculus*), hier kurz zu charakterisieren und damit die Aufmerksamkeit auf diese Form zu lenken, sowie das Wiedererkennen zu ermöglichen.

Leider konnte das Objekt nicht aus der Körperhöhle herauspräpariert werden, da es bei der Kleinheit des Wirtstieres unmöglich war, die Arbeit mit der nötigen Behutsamkeit anzuführen und der Wirt (Type) geschont werden mußte. Es ließen sich daher durch die aufgehellte Körperwandung des Flohes nicht alle Details mit wünschenswerter Sicherheit erkennen, und außerdem war es allein möglich, die optischen Querschnitte nur in einer Ebene zu nehmen. Die Beschreibung muß daher lückenhaft bleiben. Zur Lagerung im Körper sei bemerkt, daß

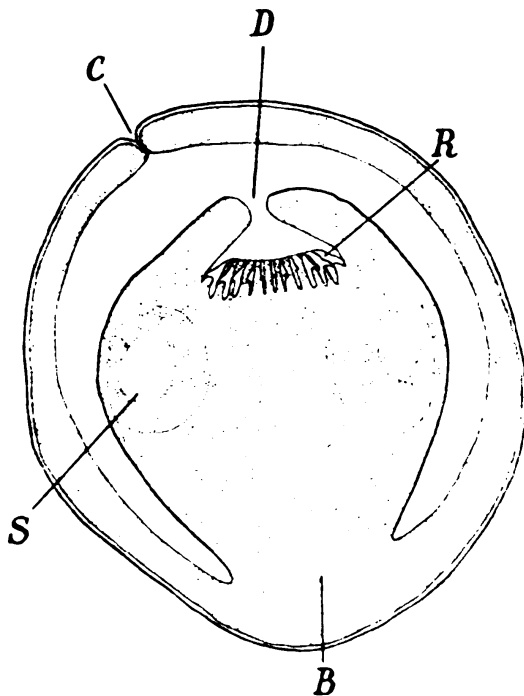


Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1. Cysticeroid aus *Mesopsylla eucta*. B Ansatzstelle der Cyste; C Oeffnung derselben; D Scheiteldepression bei zurückgezogenem Rostellum; R Rostellarhakenkranz; S Saugnapf. Vergr. 350. (Optischer Durchschnitt.)

Fig. 2. Isolierter linker Rostellarhaken des Cysticeroids aus *Mesopsylla eucta*. Vergr. 1350.

sich das Cysticeroid an der Basis des Abdomens fand, im Bereich des 2. und 3. Sternits und sich mit einer Seite an die Apophysen des Penis und den proximalen Teil der Penisscheide anlehnte. Einen Schwanzanhang habe ich nicht wahrnehmen können. Der Durchmesser der Cyste betrug 0,16 mm in der Quere, 0,18 mm in der Länge, der Durchmesser der Wandung 0,007–0,01 mm. Die allgemeine Form des Cysticeroids geht aus Fig. 1 hervor.

Die Form der Haken ist in Fig. 2 wiedergegeben. Die Länge betrug 0,017 mm, die vorspringende Spitze war im Verhältnis zur Hakenlänge gut entwickelt. Die Anzahl der Haken konnte nicht mit aller

cucumerina. (Atti soc. Tosc. d. sci. natur. Vol. 10. Pisa 1888. p. 1–48. 2 tav.) (Nach Braun.)

1) Grassi, B., Beiträge zur Kenntnis des Entwicklungszyklus von 5 Parasiten des Hundes. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 4. 1888. p. 609–620.)

2) Die Beschreibung der Art erfolgt im laufenden Jahrgange der „Zoolog. Jahrbücher“.

Sicherheit festgestellt werden, es schienen jedoch 20—24 Stück vorhanden zu sein, die sich, soviel zu erkennen war, in der Größe kaum unterschieden. Der Durchmesser des Rostellarhakenkranzes betrug 0,046 mm.

Da aus dem Turkestaner *Alactaga jaculus*, soweit sich die Literatur übersehen läßt, keine Tänie bekannt ist, auf die man das oben beschriebene Cysticeroid beziehen könnte, muß von einer Benennung abgesehen werden. Es wird jedoch wahrscheinlich ein leichtes sein, in dem Wirt von *Mesopsylla eucta* den zugehörigen Cestoden zu finden. Ueber die Gattungszugehörigkeit will ich wegen mangelnder Kenntnis der Cestodensystematik keine Vermutung äußern, doch machte mich Herr Prof. Dr. Lühe auf die große Aehnlichkeit der Haken wie auch des ganzen Cysticeroids mit den entsprechenden Gebilden bei *Hymenolepis nana* (v. Sieb.) aufmerksam.

Herrn Prof. Dr. M. Lühe bin ich für Hinweise auf Literatur zu Dank verpflichtet.

Königsberg i. Pr., 21. Februar 1910.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Löslichkeit von Tuberkelbacillen.

[Aus Prof. Jessens Sanatorium Oberhof in Davos.]

Von F. Jessen und Lydia Rabinowitsch (Berlin).

Während bis vor kurzem die allgemeine Ansicht bestand, daß die Tuberkelbacillen unlöslich seien, haben Deycke und Much auf der internationalen Leprakonferenz in Bergen die Tatsache berichtet, daß es ihnen gelungen sei, Tuberkelbacillen aufzulösen. Seitdem haben dieselben Autoren in zahlreichen Veröffentlichungen näheres über diese Löslichkeit der Tuberkelbacillen in verschiedenen Stoffen, wie Lecithin, Cholin und Neurin, angegeben.

Bereits in Bergen hat Uhlenhuth die Bakteriolyse der Tuberkelbacillen angezweifelt und neuerdings hat Löwenstein¹⁾ auf eine Reihe von Bedenken hingewiesen und verschiedene Fehlerquellen bei diesen Versuchen bezeichnet.

Während Deycke und Much angeben, daß Tuberkelbacillen in Neurin rasch — schon nach wenigen Stunden — gelöst werden und an ihre Stelle rote homogene Kugeln treten, hat Löwenstein darauf hingewiesen, daß bei Betrachtung im hängenden Tropfen diese Auflösung nicht zu beobachten ist und daß die Neurinlösung, wenn sie nicht mit Eiweiß am Objektträger fixiert ist, sehr leicht abgespült wird, so daß auf diese Weise eine falsche Meinung über eine Lösung der Bacillen entstehen könne und daß jedenfalls die Lösungsfähigkeit des Neurins auf Tuberkelbacillen nicht größer ist, als es der erheblichen Alkaleszenz des Neurins entspricht.

Gelegentlich von Untersuchungen über Tuberkulosegifte, über die der eine von uns demnächst ausführlich berichten wird, haben wir uns auch mit der Lösbarkeit von Tuberkelbacillen in Neurin beschäftigt.

Wir haben zunächst mit der von Deycke und Much angegebenen Konzentration des von Merck in zwei Sendungen bezogenen 25-proz.

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 53. p. 5.

Neurins gearbeitet, aber auch mit der doppelten Menge des Neurins sowie mit etwas schwächerer Konzentration Versuche angestellt.

Die Versuche wurden derart ausgeführt, daß zu je einer Aufschwemmung von $\frac{1}{2}$ Normalöse Tuberkelbacillen, in 0,5 ccm physiologischer NaCl-Lösung fein verrieben, 0,25 g 25-proz. Neurin resp. 0,2 g und 0,4 g Neurin zugesetzt wurde. Die Röhrchen sowie Kontrollproben von gleich konzentrierter Bacillenaufschwemmung in NaCl wurden in den Brutschrank gestellt und nach 10 Minuten, 1 Stunde, 8 Stunden, 16 Stunden und 1—16 Tagen im hängenden Tropfen, nach Ziehl und nach Gram untersucht. Da es bereits Koch¹⁾ gelungen war, Tuberkelbacillen durch starke Alkalien in gelösten Zustand überzuführen, so haben wir die gleichen Bacillenaufschwemmungen auch mit so viel 10-proz. Kalilauge versetzt, daß der Alkaligehalt dem des Neurins ungefähr entsprach.

Wir fanden nun, daß in der Tat, wie Deycke und Much angeben, die Neurinlösung, die zu einer Bacillenaufschwemmung zugesetzt wird, eine sofortige makroskopisch sichtbare Aufhellung der Bacillenaufschwemmung gegenüber der Kontrollprobe bedingt. Mikroskopisch war aber eine sofortige Auflösung der Bacillen in keiner der angegebenen Konzentrationen sichtbar. Versetzt man Neurin mit Kochsalzlösung, so tritt auch eine bemerkenswerte Aufhellung der Neurinlösung ein.

Wir fanden weiter, daß bei der von Deycke und Much angegebenen Konzentration noch nach 16 Tagen gut gefärbte Bacillen in der Neurinlösung waren, und daß noch nach 8 Tagen im hängenden Tropfen deutliche Bacillen zu sehen waren.

Bei Untersuchung mehrerer Präparate und wiederholter Anstellung des Versuches findet man, daß durch das Neurin anfänglich eine gewisse Agglutination der Bacillen hervorgerufen wird; in den entstandenen kleinen und großen Haufen finden sich aber stets noch gut erhaltene Ziehl-positive Bacillen. Die anfänglich beobachteten Haufen verschwinden allmählich, so daß in den nach 2—3 Wochen gemachten Präparaten kaum noch Haufen, aber ganze Gesichtsfelder zu sehen sind, in denen einzelne gut gefärbte Bacillen liegen. Eine gewisse Abnahme der Bacillenmenge ist im Verlaufe längerer Zeit nicht zu verkennen; in den ersten Stunden nach Beginn des Versuches findet man aber sowohl im hängenden Tropfen, als nach Ziehl und nach Gram nicht weniger Bacillen in der Neurin- als in der Kontrollprobe.

Nimmt man aber eine fast doppelt so starke Neurinmenge, wie Deycke und Much angeben, so verschwinden nach 8 Tagen die gut erhaltenen Bacillen nahezu vollständig, und man sieht in den Präparaten kleine Ziehl-positive homogene Kügelchen, die zuweilen von einer mit Methylenblau färbbaren Substanz umgeben sind.

Wir haben bis jetzt mit 3 verschiedenen aus Sputum frisch isolierten Bacillenstämmen vom Typus humanus die gleichen Resultate erhalten.

Löwenstein hat bereits angegeben, daß die von Deycke und Much beschriebenen roten homogenen Kugeln auch ohne Zusatz von Bacillen durch Vermischung von Neurin mit Karbolfuchsin zu erzielen seien.

Ferner hat er darauf hingewiesen, daß das ölige Neurin sehr schwer am Objektträger haftet und daher leicht abgespült werden kann, wodurch

1) Dtsche med. Wochenschr. 1897. p. 14.

auch eine irrige Meinung über die Auflösung der Bacillen entstehen kann.

Auch hat er die große Alkaleszenz des Cholins und Neurins betont.

Die von Deycke und Much beschriebenen rotgefärbten homogenen Kugeln haben wir bei der von diesen Autoren angegebenen Konzentration des Neurins nicht gesehen.

Wenn wir einerseits Löwenstein Recht geben müssen, daß man homogene rote Kugeln durch Vermischung von Neurin mit Karbolfuchsin erzeugen kann, so sind doch diese Kugeln im mikroskopischen Bilde erheblich größer und violetter als die kleinen runden, rein Ziehl gefärbten Kügelchen, welche wir in den mit doppelt so starkem Neurinzusatz hergestellten Präparaten nach 8 Tagen sahen, in Präparaten, in denen die Tuberkelbacillen fast völlig verschwunden waren.

Wir müssen diese kleinen Kügelchen doch wohl als Bacillenreste auffassen. Unsere Annahme wird noch dadurch bestätigt, daß wir im hängenden Tropfen in zu entsprechender Zeit hergestellten Präparaten Haufen sahen, in denen wir Kugeln unterscheiden konnten.

Hierbei ist daran zu erinnern, daß bereits Koch (l. c.) sagt: „Durch heiße Natronlauge kann man die Fettsäure langsam aus den Tuberkelbacillen austreiben und mit Hilfe des Mikroskopes den Vorgang der Abscheidung leicht verfolgen, wie die Fettsäure in Form von färbbaren Tröpfchen aus dem Bacillus austritt und zu größeren Tropfen zusammenfließt, während die Bacillen anfangs noch ihre Form bewahren, aber nicht mehr die spezifische Färbung der Tuberkelbacillen, sondern nur noch die der übrigen Bacillen annehmen. Diese Fettsäuren bilden, wie das mikroskopische Bild des gefärbten Bacillus lehrt, eine zusammenhängende Schicht um den Körper desselben. Sie schützen ihn gegen Eingriffe von außen und wirken, daß seine Resorption so schwer vor sich geht. Es kommt somit darauf an, diese Schutzhülle zu zerstören, wenn die Tuberkelbacillen resorbierbar gemacht werden sollen.“

Was nun den Fehler eines eventuellen Nichthaftens des Neurins am Objektträger anlangt, so haben wir Parallelversuche mit Präparaten gemacht, in denen sowohl das Neurin direkt lufttrocken war, als auch in einem Eiweißtropfen fixiert war. Einen wesentlichen Unterschied zwischen beiden Arten von Präparaten konnten wir nicht feststellen; abwechselnd boten uns das eine oder das andere Präparat bessere Bilder. Doch läßt sich nicht leugnen, daß das Neurin schwer am Objektträger haftet und daß die Präparate mit einer gewissen Vorsicht hergestellt werden müssen.

Während wir also Deycke und Much zugeben, daß bei ausreichender Konzentration des Neurinzusatzes — es ist nicht unmöglich, daß die einzelnen von Merck gelieferten Neurinproben verschieden stark wirken, wie das Deycke und Much auch für die verschiedenen Lezithine angeben, und daß die einzelnen Tuberkelbacillenstämme verschiedene Widerstandskraft haben — allmählich (allerdings nicht in wenigen Stunden) eine Auflösung der Tuberkelbacillen in Neurin erfolgt, so müssen wir andererseits betonen, daß man genau die gleichen Resultate wie mit Neurinlösung mit einer ihrer Alkaleszenz entsprechenden Kalilauge erhält.

Auch in den Kalilaugeproben finden sich die zuerst auftretenden agglutinierten Bacillenhaufen und am Ende des Versuches die roten Kügelchen; ja wir müssen sagen, daß mitunter in der Kalilaugeprobe in geringerer Anzahl gut erhaltene Bacillen zu sehen waren als in der entsprechenden Neurinprobe.

Man kann sich also anstatt des teuren und giftigen Neurins zur Lösung von Tuberkelbacillen der überall vorhandenen Kalilauge bedienen.

Ob aber diese beobachteten Prozesse wirklich eine Auflösung von Tuberkelbacillen und etwa nicht nur eine Abscheidung der mit Ziehl färbbaren Substanz darstellen, muß man auch noch dahingestellt sein lassen.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakteriziden, von einigen Milzbrandbacillen-Antagonisten-Mikroben ausziehbaren Substanzen.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Kgl. Universität zu Neapel (Direktor: Prof. N. Pane).]

Von Prof. Dr. N. Pane.

In dem Bericht über Bakterienantagonismus, welchen ich auf dem letzten internationalen Kongreß in Budapest erstattete, legte ich den jetzigen Stand unserer Kenntnisse bezüglich der Natur desselben dar. Ich vertrat entschieden die Ansicht, daß der Antagonismus unter den pathogenen Bakterien im tierischen Organismus sich nur gegen den Milzbrandbacillus vollständig äußern kann. Wenn dieses Bakterium dem Kaninchen in vielfachen tödlichen Dosen unter die Haut geimpft wird zusammen mit einem seiner bekannten energischeren Antagonisten, wie *Bacillus pyocyaneus* und *Pneumococcus*, so erzeugt es keine Milzbrandinfektion. Dasselbe gilt auch von den Schafen, aber in geringerem Grade als von den Kaninchen. Bei den Meerschweinchen dagegen ruft es regelmäßig die Milzbrandinfektion hervor, auch wenn die eingeimpfte Dose ganz gering war.

Aus diesem Grunde glaube ich, daß zu dem Tode der Milzbrandbacillen in den Kaninchen (bezw. Schafen) zwei Faktoren beitragen, und zwar entstammt der erste den Antagonisten resp. ihren auflösenden Substanzen, der zweite dagegen den Antikörpern des Organismus, welche die Zerstörung der besagten Bacillen vollenden.

Daß an dieser Tätigkeit des Organismus gegen die Milzbrandbacillen nicht die Phagozytose teilnimmt, gibt auch Metschnikoffs Schule (*Blagowestchensky*) zu. Welcher Natur aber sind die Substanzen oder die Substanz, welche den ersten und wichtigsten Faktor ausmachen? *Emmerich* und *Löw* hielten es bezüglich der bakteriziden Tätigkeit der Bouillonkultur des *Bacillus pyocyaneus* gegen die Milzbrandbacillen für sicher, daß diese Wirkung durch ein Enzym, welches sie *Pyocyanase* nannten, verursacht würde. Dieses spezielle Enzym besitzt eine so große Hitzebeständigkeit seiner bakteriziden Kraft, daß bei einer Temperatur von 100° während 2 Stunden seine Wirkung nicht vernichtet wird. Aber nachdem die in letzter Zeit von zahlreichen Forschern gemachten Untersuchungen über die Lipoide gezeigt haben, daß unter diesen einige antitoxische und auch bakterizide Eigenschaften besitzen, dachten *Raubitschek* und *Russ*, daß die *Pyocyanase* ein wirkliches Lipoid sei. Und in der Tat erlangten sie mit fettige Substanzen lösenden Flüssigkeiten, wie Alkohol, Aether, Benzol, Auszügen aus der *Pyocyanase* des Handels, eine starke bakterizide Substanz. So lagen die Dinge, als ich mich entschloß, das Argument zu studieren, um den besagten

Bericht zu vervollständigen. Zu diesem Zwecke arbeitete ich nicht nur mit dem *Bacillus pyocyaneus*, sondern auch mit dem *Pneumococcus* und *Staphylococcus*, welche beide, wie bekannt, Antagonisten des *Milzbrandbacillus* sind, und zur Kontrolle verwandte ich zwei Nicht-Antagonisten, den *Typhusbacillus* und den *Hühnercholera-bacillus*. Von diesen Bakterien waren der *Pneumococcus* und der *Hühnercholera-bacillus* außerordentlich virulent, der *Typhusbacillus* und der *Staphylococcus* mittelmäßig virulent, nur wenig virulent (für das Kaninchen) war der *Pyocyaneus*. Nach verschiedenen Versuchen habe ich für meine Untersuchungen folgende Methode gewählt, welche mir die passendste und auch relativ billigste schien. Nachdem die Bouillonkultur von jeden der genannten Bakterien in dem Brutschrank während der notwendigen Zeit (5 Tage für den *Pyocyaneus*, 3 Tage für den *Staphylococcus*, 1 Tag für den *Pneumococcus*, *Typhus-* und *Hühnercholera-bacillus*) sich entwickelt hatte, goß ich von ihr 60 ccm in eine sterile Porzellankapsel, und ließ dieselbe bei einer Temperatur von 60° verdampfen, bis ich eine fast trockene Substanz erhielt, welche aus dem festen Inhalt der Bouillon, den kultivierten Bakterien und ihren Produkten zusammengesetzt war. Diese Substanz sonderte ich mittels metallischer Spatel von der Kapsel ab und mischte mit 200 ccm absoluten Alkohol (99,5-proz.), welcher in einer, mit einem luftdichten Glasstöpsel versehenen Glaszylindervase von 40 cm Höhe und 3 cm Breite enthalten war. Nach wiederholtem Umschütteln ließ ich sie im Dunkeln in senkrechter Stellung bis zur vollständigen Klarheit der Flüssigkeit, was sich nach 24 oder höchstens 48 Stunden vollzog.

Nach dieser Zeit nahm ich die Flüssigkeit (die nun ganz hell und klar war) mit einer langen Pipette heraus und ließ nur eine kleine Quantität derselben auf dem Niederschlage zurück, welcher sich am Boden der Vase mehr oder weniger reichlich abgesetzt hatte. Diese Flüssigkeit ließ ich in einer sterilen Porzellankapsel bei einer Temperatur von 60° verdampfen, bis ich eine trockene Substanz erhielt, welche am Boden der Kapsel anklebte.

Diese Substanz oder das alkoholische Extrakt war mehr oder weniger erheblich, je nach den verschiedenen Bakterien. Die kleine Schicht, aus welcher sie bestand, zeigte ein graugelbliches Aussehen, und die gelbliche Nuance war stärker, wenn die Schicht dichter war. Um sie aufzulösen, wandte ich 6 ccm physiologischen Wassers an, worin sie sich schnell und vollständig auflöste. Besichtigt man nun diese Lösung durch eine Glasröhre, in die sie gegossen war, so bemerkt man, daß sie das Aussehen einer kolloidalen Lösung hat, welche je nach der Menge der aufgelösten Substanz mehr oder weniger trübe ist. Jedenfalls war die Lösung immer eine sehr konzentrierte, denn nach 24 Stunden teilte sich ein Teil der Substanz, schwimmende Verdichtungen bildend. Ihre Reaktion war leicht sauer oder neutral. Von einer derartig konzentrierten Lösung, welche ich der Kürze halber mit a bezeichne, bereitete ich eine zweite, zehnmal verdünnte. Diese letzte, welche ich b benenne, erschien mehr oder weniger durchsichtig, je nach der verschiedenen Trübung der ersten, aber immer mit leichtem opalartigem Aussehen; auch nach einigen Tagen bildete sich kein Niederschlag von der aufgelösten Substanz. Die mikroskopische Untersuchung eines Tropfens der Lösung a, die eben präpariert war, ließ bei einer Vergrößerung von 600 kein Körnchen irgendwelcher Art erkennen, jedoch konnte man mit einer Vergrößerung von 1200 ganz außerordentlich feine Körnchen

wahrnehmen. Um zu erproben, ob eine solche Lösung bakterizide Wirkung hätte, mischte ich 1 ccm derselben mit verschiedenen Mengen der Bouillonkultur des virulenten Milzbrandbacillus (a und b), welcher ungefähr 20 Stunden im Brutschranke entwickelt war. Die verschiedenen Gemische stellte ich in den Brutschrank (Temperatur 37°), und machte nach verschiedener Zeit Kulturen in Gelatine oder Agar in Doppelschälchen, um die Zahl der sterilisierten Bakterien abzuschätzen. Die geringste Quantität der Bouillonkultur war 0,002 ccm, die höchste 1,0 ccm. Auf diese Art konnte ich mit Sicherheit feststellen, ob das alkoholische Extrakt des Bakteriums bei der Prüfung mit bakterizider Wirkung versehen war oder nicht.

Ich fasse nun kurz die von mir erhaltenen Resultate zusammen, welche mehrere Male kontrolliert worden sind:

1) *Bacillus pyocyaneus*. Die schwache Lösung b hat in 4 Tagen eine gleiche Menge Bouillonkultur der Milzbrandbacillen sterilisiert; und zwar findet man, wenn man die Zahl der Doppelschälchenkontrollkulturen berechnet, daß ca. 100 Millionen von diesen letzteren von 1,0 ccm der Lösung b in 4 Tagen sterilisiert worden sind. Denselben Erfolg erzielte ich an einem einzigen Tage mit der konzentrierten Lösung a. Es ist bemerkenswert, daß die Lösung b, welche das alkoholische Extrakt von 1 ccm Bouillonkultur enthält, sich mehr bakterizid zeigte, als diese letztere.

2) *Pneumococcus*. Sowohl die konzentrierte Lösung a als auch die schwache b haben sich für den Milzbrandbacillus bakterizid gezeigt, aber die sterilisierende Tätigkeit vervollständigte sich ungefähr in der doppelten Zeit von jener, welche die obengenannten Lösungen a und b des *Bacillus pyocyaneus* gebrauchten. Es ist ebenfalls zu bemerken, daß die sterile Bouillonkultur des *Pneumococcus* den Milzbrandbacillus nicht sterilisiert, sondern nur den Tod des Kaninchens verzögert, wenn dasselbe zusammen mit dem Milzbrandvirus geimpft war.

3) *Staphylococcus aureus*. Ein Teil der Lösung a des alkoholischen Extraktes dieses Bakteriums sterilisiert in ungefähr 3 Tagen einen gleichen Teil der Milzbrandbacillen-Bouillonkultur. Ihre bakterizide Tätigkeit ist also geringer, als jene der gleichen Lösung des *Pneumococcus*-Extraktes. Ebenso sterilisiert sowohl die Bouillonkultur des letzteren, als auch jene des *Staphylococcus* in vitro die Milzbrandbacillen nicht.

4) *Typhusbacillus*. Die konzentrierte Lösung a hatte nach 3 Tagen keine ersichtliche bakterizide Wirkung auf den Milzbrandbacillus hervorgerufen.

5) *Hühnercholera bacillus*. Die Lösung a verhielt sich in derselben Weise wie die des *Typhusbacillus*, zeigte also nach 3 Tagen auf den Milzbrandbacillus keinerlei sichtbare bakterizide Wirkung.

Die bakterizide Wirkung des alkoholischen Extraktes der Bakterien 1, 2 und 3 zeigt sich auf den Milzbrandbacillus immer sehr schnell, so daß die Sterilisierung von Minute zu Minute mit Plattenkulturen festzustellen war. Z. B. blieben von ca. 50 Millionen Milzbrandbacillen, welche in 1 ccm der Lösung a des alkoholischen Extraktes des *Pneumococcus* gemischt waren, nach 24 Stunden nicht mehr als ein Hundertstel lebend übrig.

Nach diesen Resultaten schien es mir nützlich, zu prüfen, ob die bakterizide Wirkung des alkoholischen Extraktes der genannten Bakterien für den Milzbrandbacillus eigenartig sei, oder eine allgemeine Wirkung, wie die der reinen chemischen, mikrobiziden Substanzen hätte,

Ich wandte zu diesem Zweck den Typhusbacillus an, welcher, wie man weiß, nur einen mittelmäßigen Widerstand besitzt. Die verschiedenen gemachten Proben bewiesen nun, daß dieses Bakterium weder mit der konzentrierten Lösung a des alkoholischen Extraktes des *Bacillus pyocyaneus*, noch mit der gleichen des *Pneumococcus* und des *Staphylococcus* sterilisiert war. Es blieb nun noch festzustellen, ob dasselbe Bakterium, von welchem man das alkoholische Extrakt erhielt, von diesem letzteren sterilisiert sein könnte. Dieser Gedanke kam mir nach der Beobachtung, daß nach einer gewissen Zeit, die je nach den speziellen Bedingungen schwankt, jeder Mikrobe in den Nährboden, worin er sich entwickelt hat, lebensfähig zu sein aufhört. Ich prüfte zu diesem Zwecke die Wirkung der Lösungen des alkoholischen Extraktes des *Bacillus pyocyaneus*, des *Milzbrandbacillus* und des *Pneumococcus* auf dieselben Bakterien.

Der *Bacillus pyocyaneus* und der *Milzbrandbacillus* erfuhren keinerlei schädliche Wirkung durch ihre respektiven alkoholischen Extrakte. Der *Pneumococcus* hingegen zeigte sich sehr empfindlich, so daß $\frac{1}{2}$ ccm seiner eigenen Bouillonkultur von 1 ccm der Lösung a in 24 Stunden sterilisiert war. Wurde dieses nun durch eine besondere Empfindlichkeit dieses Bakteriums gegen alle alkoholischen bakteriziden Extrakte erzeugt? Um dieses festzustellen, habe ich bei demselben die Lösung a des *Bacillus pyocyaneus*, des *Milzbrandbacillus* und des *Staphylococcus* angewendet.

Nach den gemachten Versuchen, deren Dauer, wegen des Verlustes der Lebensfähigkeit des *Pneumococcus* in seiner Bouillonkultur, auf einen einzigen Tag abgekürzt war, ergab es sich, daß dieses Mikrob in der Lösung a des *Bacillus pyocyaneus* sehr schnell sterilisierbar war, wenig in der gleichen Lösung des *Staphylococcus* und fast gar nicht in jener des *Milzbrandbacillus*. Dem *Pneumococcus* ist also das eigene alkoholische Extrakt, außer jenem von anderen speziellen Bakterien, außerordentlich schädlich. Das ist, glaube ich, für die Biologie des besagten Bakteriums sehr interessant, und scheint mir, daß es erklärt, warum er seine Lebensfähigkeit so leicht und in so kurzer Zeit in den Agar- und Bouillonkulturen verliert. Der *Pneumococcus* löst sich in den sterilisierenden Lösungen der alkoholischen Extrakte langsam auf. In mikroskopischen Präparaten, welche mit Methylenblau gefärbt sind, sieht man, daß Pneumokokken nach einer gewissen Zeit (beispielsweise 15—20 Stunden) nur im zentralen Teil, der einem kleinen Kern gleicht, blau gefärbt sind. Später färbt sich auch dieser zentrale Teil nicht, und der ganze Coccus ist wie ein farbloser Schatten in Auflösung begriffen. Die *Milzbrandbacillen* dagegen lösen sich in ebensolcher Lösung nicht auf. In den mit Methylenblau gefärbten mikroskopischen Präparaten zeigen sich die Bacillen fast oder ganz farblos, aber niemals in Auflösung begriffen. Ihre Umrisse sind gut erhalten oder nur wenig angegriffen.

Diese Tatsache, welche ich wiederholt beobachtet habe, bestätigt die auf dem internationalen Kongreß von Budapest gemachte Behauptung von Preisz, daß die *Milzbrandbacillen* sich beim Kontakt mit der sterilisierenden Substanz der *Pyocyaneus*-Kulturen nicht auflösen. (Preis hat die *Pyocyanase* von Emmerich angewendet.) Bemerkenswert jedoch ist, daß wenn man eine beträchtliche Quantität der *Milzbrandbacillenbouillonkultur* in die Kultur der lebenden *Pyocyaneus*-Bacillen, welche sich im Brutschranke befinden, überträgt und man ihrem Schicksal folgt, man beobachtet, daß dieselben in den mikrosko-

pischen Präparaten stufenweise weniger zahlreich sind, so daß ungefähr nach 10 Tagen der größte Teil verschwunden ist, was bedeuten könnte, daß eine wirkliche Auflösung derselben erfolgt sei.

Zusammenfassung.

Nach allem, was ich dargelegt habe, scheint mir, daß ich bestätigen kann, daß die von den Bouillonkulturen der Milzbrandbacillen-Antagonisten abstammende bakterizide Substanz eine Leibessubstanz derselben ist, welche sich stufenweise, sobald sie in Zerstörung begriffen ist, in Bouillon verbreitet. Der absolute Alkohol, wie andere Lösungsmittel von fettigen Materien (Aether, Benzol) ziehen die genannte Substanz nicht allein aus, wenn sie in der Bouillonkultur aufgelöst ist, sondern auch direkt aus den gut getrocknet gewesenen Bakterien. So erklärt es sich, daß während die Bouillonkultur des *Pneumococcus* und des *Staphylococcus* nicht in sichtbarer Form für den Milzbrandbacillus bakterizid ist, deren alkoholisches Extrakt dagegen ihn mit genügender Schnelligkeit sterilisiert. Wenn andererseits das Bakterium die sterilisierende Substanz nicht erzeugt, wie der *Typhusbacillus*, der *Cholerabacillus* der Hühner, so enthält auch nicht das alkoholische Extrakt, wie vorher bewiesen war, nennenswerte Dosen für die Sterilisierung des Milzbrandbacillus. Infolge dieser Resultate könnte ich nicht sagen, welchen Wert die Behauptung von Emmerich und Löw hatte, daß die bakterizide Substanz der *Pyocyanus*-Bouillonkulturen (ihre *Pyocyanase*) nicht derselben Natur sei, als jene des alkoholischen Extraktes derselben Kultur. Selbstverständlich hat nur ein Teil, vielleicht der kleinste, der bakteriziden, alkoholischen Extrakte die sterilisierende Befähigung. Es ist daher ausgeschlossen, daß es ein Enzym sei, wie früher behauptet wurde, weil, obgleich es Enzyme gibt, wie *Dastre* gezeigt hat, die auch in starken, alkoholischen Lösungen, und zwar von 22 bis 65 Proz. (*Trypsin*, *Pankreatin*, *Amylase*) und nach *Jäger* auch in einer Lösung von 95 Proz. (*Ptyalin*) auflöslich sind, keines jedoch von ihnen im absoluten Alkohol und weniger noch im Aether lösbar ist. Im Gegenteil wird die Annahme, daß solche bakterizide Substanz ein spezielles Lipoid sei, durch die Tatsache bekräftigt, daß sie in denselben Lipoidlösungen löslich ist. Nach der Einteilung von *Iscovesco* rechnet man zu den Lipoiden nicht nur die eigentlichen (*Cholesterin*, *Lecithin*), sondern auch die neutralen Fette, die sauren Fette und die Seifen, welche letztere, wie bekannt, bakterizid sind, und spezielle Mikroben (*Pneumokokken*) werden von ihnen auch aufgelöst.

Literatur.

- Emmerich und Löw, *Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. 26. p. 236.*
 Raubitschek und Russ, *Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 48. p. 114.*
 Emmerich und Löw, *Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 49. p. 571.*
 Raubitschek, *Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 468.*
 Pane, XVI. Congrès internat. de méd. 1909. Section IV. Fasc. 1 (microbiologie).
 p. 44.

Nachdruck verboten.

Studien über die Spezifität der Serumpräzipitine und der Erythropräzipitine.

[Aus der Kgl. Universitäts-Unterrichtsanstalt für Staatsarzneikunde (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. F. Strassmann).]

Von Dr. **Otto Leers**,

Assistenten der Kgl. Unterrichtsanstalt für Staatsarzneikunde an der Universität.

Für die Zwecke der gerichtlichen Medizin hat die Präzipitinreaktion einen ungeahnten Erfolg gezeitigt. Sie hat eine der schwierigsten und verantwortlichsten Aufgaben der forensischen Praxis, die Bestimmung der Herkunft von Blutspuren, der Lösung erheblich näher gebracht. Ja, die Lösung würde eine vollständige sein, wenn die Spezifität der Präzipitinreaktion eine unter allen Umständen geltende, absolute wäre.

Das ist sie nicht. Nach zwei Seiten hin erleidet die Spezifität eine Einschränkung, nach der chemischen und nach der biologischen. Die biologische, die forensisch vor allem interessiert, wird dadurch eingeschränkt, daß ein Präzipitinserum nicht nur auf die zu seiner Herstellung benutzte Eiweißart reagiert, sondern, wenn auch in geringerem Maße und langsamer, auch auf die Eiweißstoffe verwandter Arten.

Eine solche Verwandtschaftsreaktion hat sich z. B. gefunden zwischen den Eiweißkörpern von Pferd und Esel, Ziege, Schaf und Rind, Hund und Fuchs, Hase und Kaninchen, Huhn und Taube, vor allem zwischen Mensch und Affe. Und sie geht herab zu den wirbellosen Tieren: Auch hier zeigten die interessanten Versuche v. Dungerns das Uebergreifen der Präzipitinreaktion zwischen *Octopus vulgaris*- und *Eledone moschata*-Arten.

Eine weitere Einschränkung erfährt die Spezifität der Reaktion dadurch, daß manche Präzipitinsera auch in heterologen Eiweißlösungen, und zwar auch in solchen von entfernter stehenden Tierarten, eine Fällung verursachen, wenn auch hier wieder langsamer und quantitativ geringer als in dem gleichartigen Eiweiß.

Und endlich, für die forensische Praxis zweifellos das Wichtigste, mangelt ihr die Organspezifität, die sie zu einem absolut sicheren Blutnachweis machen würde.

Die Hoffnung, mit Hilfe der Präzipitinreaktion die verschiedenen Eiweißkörper nicht nur der Arten und des Individuums, sondern auch des Körpers chemisch und biologisch exakt zu differenzieren, hat sich nicht völlig erfüllt. Weder ist die Scheidung der Globuline und Albumine vollständig gelungen, noch die Trennung der Eiweißkörper des Blutserums von den anderen des Körpers. Ein mit Blutserum erzeugtes Präzipitin wirkt auch auf Milchserum, auf Sperma, Eiter, Sputumeiweiß, kurz auf alle Eiweißstoffe der Organe, der Se- und Exkrete desselben Körpers, auch hier sind die Differenzen der Reaktion nur quantitative.

Es muß daher forensisch immer hervorgehoben werden, daß die Präzipitinreaktion — in ihrem jetzigen Gewande — kein Blutnachweis ist, sondern, wie Wassermann von Anfang an betont hat, ein Eiweißnachweis, eine Eiweißdifferenzierungsmethode im weiteren Sinne. In jedem Falle muß zunächst und gesondert der Nachweis, daß Blut als solches vorliegt, mit den gebräuchlichen chemischen und spektroskopischen Methoden erbracht werden. Der Schluß auf die betreffende Blutart

geschieht dann lediglich durch Verbindung des Ausfalls beider Untersuchungen. Er ist, wie Neisser und Sachs sagen, keine wissenschaftliche Folgerung aus der Untersuchung, sondern ein je nach den Umständen mehr oder weniger berechtigter Wahrscheinlichkeitsschluß, wenn beide Untersuchungen in positivem Sinne ausfallen.

Gewinnt auch diese Wahrscheinlichkeit dadurch, daß beide Untersuchungen mit dem Extrakt oder Material ein und desselben Ausschnittes des Objektes (bei größeren Blutflecken von mehreren verschiedenen Stellen) angestellt werden und auch die nicht blutbefleckte Umgebung biologisch geprüft wird, so kann doch eine größere forensische Sicherheit nur der negative Ausfall der biologischen Reaktion beanspruchen. Ist an einer Blutspur Blut erwiesen und fällt die Reaktion mit Menschen-eiweiß präzipitierendem Serum negativ aus, so kann die Anwesenheit von Menschenblut ausgeschlossen werden.

Es hat nicht an Bemühungen gefehlt, diesen besonders in der forensischen Praxis empfundenen Mangel der Präzipitinreaktion zu beheben, ihre Spezifität zu erhöhen.

I.

Uhlenhuth selbst hat versucht, die Verwandtschaftsreaktionen auszuschalten und er hat damit mehr Erfolg gehabt als vor ihm Bordet, Nolf, Schur und Biondi. Es ist ihm gelungen, durch kreuzweise Immunisierung mit dem Serum der verwandten Arten allerdings schwache, aber spezifische Präzipitinsera zu erzeugen, mit welchen sich die verwandten Tierarten (Hase—Kaninchen, Huhn—Taube, Mensch—Affe) differenzieren ließen. Müßte also in einem forensischen Falle Menschenblut gegen Affenblut abgegrenzt werden, so wäre hierzu ein vom Affen (der Alten Welt) stammendes mit Menschenserum erzeugtes Präzipitin erforderlich. Indes hat sich gezeigt, daß die kreuzweise Immunisierung ihre Grenzen hat. Es gelang z. B. bisher nicht in dieser Weise die Differenzierung zwischen Pferd und Esel, Hammel und Ziege.

Hamburger suchte daher in einem Falle, wo es Ziegen-, Rinder- und Schafblut voneinander abzugrenzen galt, dadurch zum Ziele zu kommen, daß er 3 Kaninchen mit den 3 Blutarten impfte und mit den erhaltenen Immunseren von annähernd gleicher Wirksamkeit und dem unbekanntem Antigen die Präzipitinreaktion anstellte und deren Ausfall verglich. Die Fällung war mit dem Ziegenantiserum am stärksten, der Schluß auf Ziegen-eiweiß im Antigen also gerechtfertigt.

Unter der Voraussetzung, daß die verschiedenen Antiseren möglichst gleiche Wertigkeit haben, worauf sie vorher zu prüfen und eventuell durch Verdünnung zu bringen wären, sowie daß das Antigen ein einfaches, keine Blutmischung verschiedener Arten ist, wird man diese Methode bei Tierarten, die der kreuzweisen Immunisierung unzugänglich sind, wohl versuchen können. Bei älterem, ausgetrocknetem Blut fand sie Uhlenhuth allerdings nicht ganz zuverlässig.

II.

Die Präzipitine sind keine einheitlichen Eiweißkörper. Sie besitzen neben den spezifischen mehr oder weniger zahlreiche Eiweißmoleküle, die einen gemeinsamen Artcharakter haben. Darauf beruht ja das Uebergreifen der Reaktion auf verwandte und sogar auf entfernt stehende Tierarten. In dem mit Menschenserum erzeugten Präzipitin sind neben den spezifisch menschlichen Antikörpern auch noch solche Partialantikörper enthalten, die auf die dem Menschen- und Affenserum gemein-

samen Komponenten wirken, ja vielfach sogar auf solche von weiter abstehenden Tieren, vom Pferd, Rind, Hund, Schwein, Hammel usw.

Um diese gemeinsamen Komponenten, die heterologe Reaktionen verursachen, aus einem Antiserum oder Antigen herauszuschaffen, die spezifischen zu isolieren und so der Präzipitinreaktion eine erhöhte Spezifität zu geben, wandten Ascoli, Kister und Weichardt, v. Dungern u. a. die der elektiven Absorption nach Ehrlich und Morgenroth nachgebildete Methode der spezifischen Absättigung an. Erstere vermochten hiermit nicht nur verwandte Arten und Rassen, sondern auch individuelle Eiweiße zu differenzieren; v. Dungern konnte die beiden wirbellosen Arten trennen, indem er das Gesamtpräzipitin in 2 für die beiden Arten spezifische Partialpräzipitine durch Absättigung zerlegte, und ebenso gelang die Trennung von Blut- und Organeisweißen (Weichardt, Maragliano, Schütze, H. Pfeiffer, Liepmann, Grund, Forssner u. a.).

Zur Absättigung des Antigens wären durch Zusatz der heterologen Antisera die mit diesen reagierenden Bestandteile auszufällen; nach dem Abzentrifugieren des 24-stündigen Niederschlags blieben dann nur die auf das homologe Antiserum wirkenden spezifischen Affinitäten zurück. Es bedarf kaum einer Begründung, daß diese Reihe von zeitraubenden Maßnahmen mit einem forensischen Antigen nicht durchzuführen ist.

Besser eignet sich hier die Absättigung des nicht genügend artspezifischen Antiserums mit den verschiedenen heterologen Eiweißen, mit denen es reagiert. Aber auch diese ist umständlich und bietet technische Schwierigkeiten. Es ist vor allem erforderlich, worauf Grund mit Recht hinweist, nur die dem Reaktionsoptimum entsprechende Menge der heterologen präzipitablen Substanz zuzusetzen. Ein Zuviel kann durch den Eintritt einer nicht spezifischen Eiweißausfällung eine Schwächung der späteren spezifischen Wirkung des Antiserums verursachen, oder es kann andererseits durch den Ueberschuß zu einer Hemmung der nicht spezifischen Reaktion an Stelle der Ausfällung kommen.

Das in Vorversuchen festgestellte Optimum ist also dann wiederholt zuzusetzen und der Niederschlag abzentrifugieren, bis keine Fällung mehr erfolgt und das Antiserum nur mehr spezifisch reagiert.

Diese Methoden der spezifischen Absättigung, die sich bei wissenschaftlichen Untersuchungen bewährt haben, haben sich in die forensische Praxis nicht einbürgern lassen.

Dehne hat die von Halban und Landsteiner, Eisenberg, v. Dungern, Rostoski, L. Michaelis gefundene und vielfach bestätigte Tatsache, daß Ueberschuß des homologen, unverdünnten Antigens den spezifischen Niederschlag hemmt bzw. den schon gebildeten wieder löst, herangezogen, um spezifische Fällungen von nicht spezifischen abzugrenzen.

Er setzt biologische Proben von 2,0 ccm Antigen + 0,1 ccm Antiserum an. Nach 20 Minuten wird die getrübe Probe geschüttelt, in 4 gleiche Teile geteilt und jeder Teil mit 1,0 ccm unverdünntem Menschen-, Tierserum und physiologischer Kochsalzlösung versetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. „Nach 10—20 Minuten schon tritt in der Probe, zu welcher homologes Serum gekommen ist, Klärung ein. Nach 24 Stunden zeigt dieses Röhrchen keinen Niederschlag, die anderen dagegen das heterologe Sediment“. Durch diese Kontrollproben glaubt Dehne schwache homologe Präzipitate von schwachen heterologen differenzieren zu können.

Eine Bestätigung dieser Methode von anderer Seite ist mir nicht bekannt, und da sie verhältnißmäßig einfach ist, schien sie einer Nachprüfung wert.

Benutzt wurde von mir ein minderwertiges Antiserum 99, welches Menschenserum in $\frac{1}{1000}$ Verdünnung in 5 Minuten schwach, in 20 Minuten etwas stärker trübte und mit Hammelserum in $\frac{1}{10}$ Verdünnung in derselben Zeit annähernd die gleiche Trübung gab. Nach 18 Stunden im Eisschrank war in allen Proben mit Menschen- und Hammelserum ein feinflockiger Niederschlag ausgefällt, der in der Menschenserumprobe allerdings etwas dichter schien.

Daneben wurden zur Kontrolle dieselben Proben mit einem hochwertigen und artspezifischen Antiserum 97 angesetzt (Tab. I).

Tabelle I.

A-S 97 mit	20 Min.	30 Min bei 37°	18 Stunden
$\frac{1}{1000}$ Menschen-S	= sehr stark	0,5 + 1,5 M-S = klarend	geringes Sediment
		0,5 + 1,5 K-S = trüb	
		0,5 + 1,5 Ha-S = „	
		0,5 + 1,5 P-S = „	
$\frac{1}{10}$ Kalb-S	= —		
$\frac{1}{10}$ Hammel-S	= —		
$\frac{1}{10}$ Pferde-S	= —		
M-S + K-S	= stark	0,5 + 1,0 M-S = klarend	geringes Sediment
		0,5 + 1,0 K-S = trüb	
		0,5 + 1,0 Ha-S = „	
		0,5 + 1,0 P-S = „	
M-S + Ha-S	= stark	0,5 + 1,0 M-S = klarend	geringes Sediment
		0,5 + 1,0 K-S = trüb	
		0,5 + 1,0 Ha-S = „	
		0,5 + 1,0 P-S = „	
M-S + P-S	= stark	0,5 + 1,0 M-S = klarend	geringes Sediment
		0,5 + 1,0 K-S = trüb	
		0,5 + 1,0 Ha-S = „	
		0,5 + 1,0 P-S = „	

Um diese vorwegzunehmen, gab die Dehnesche Kontrolle hier sowohl in einfachem Antigen wie auch in Artgemischen im ganzen eindeutige Resultate. Ueberall klärte und löste der homologe Ueberschuß prompt das Präzipitat; er mußte allerdings in diejenigen Proben, die einen massigeren Niederschlag zeigten (infolge der Hochwertigkeit des Antiserums) über 1 cm hinaus erhöht werden. Es wurden nach 2 Stunden noch je 0,5 Normalserum hinzugegeben. Die in den Mischungen mit Pferdeserum eintretende geringere Präzipitatabildung ist wohl durch die Hemmung der homologen Reaktion durch die Anwesenheit von Pferdeserum, wie sie Landsteiner und Halban ebenfalls beobachteten, verursacht. Bei sehr verdünntem Antigen könnte übrigens eine solche Hemmung den Ausfall der Reaktion in dem Gemisch negativ gestalten und die Anwesenheit des Menschenserums verdecken.

Mit einem Antiserum wie 97 ist natürlich die Dehnesche Kontrolle unnötig, da es bei seiner hohen Artspezifität ohnedies einwandfreie Resultate gibt.

Anders gestaltet sich jedoch der Ausfall der Kontrollproben, wenn mit nicht artspezifischem Antiserum gearbeitet wird, für das Dehne sie gerade empfiehlt.

Freilich bei einfachem Antigen kommt man auch hier noch zu einem Ergebnis, wenn man die heterologe Trübung durch homologes Serum und das gleichnamige heterologe Serum im Ueberschuß gelöst findet.

Antiserum 99 fällt Menschserum wie Hammelserum schwach, nicht aber Kalbserum. In den Kontrollen klart die Menschenserumprobe auf, die Hammelserumprobe mit Menschenserum- sowohl wie mit Hammelserumüberschuß ebenfalls, nicht aber mit Kalbserumüberschuß (Tab II).

Tabelle II.

A-S 99 mit	20 Min.	30 Min. bei 37°	18 Stunden
$\frac{1}{1000}$ M-S = stark	}	0,5 + 1,0 M-S = klarend	—
		0,5 + 1,0 Ha-S = trüb	geringes Sediment
		0,5 + 1,0 K-S = "	" "
$\frac{1}{10}$ K-S = —			
$\frac{1}{10}$ Ha-S = deutlich	}	0,5 + 1,0 M-S = klarend	—
		0,5 + 1,0 Ha-S = "	—
		0,5 + 1,0 K-S = etwas trüb	sehr geringes Sediment

Es bestätigt sich also die Tatsache, daß die heterologe Trübung vom homologen (M) wie vom gleichnamigen heterologen (Hammel) Ueberschuß gelöst wird, nicht aber vom andersartigen heterologen Ueberschuß (K). Trotzdem findet eine gewisse Hemmung auch im letzteren Falle statt, und Tabelle III zeigt, daß, wenn die Reaktion nur eine schwache ist,

Tabelle III.

A-S 99 mit	20 Min.	30 Min. bei 37°	18 Stunden
$\frac{1}{5000}$ M-S = sehr schwach	}	0,5 + 1,0 M-S = klarend	—
		0,5 + 1,0 Ha-S = schwach trüb	sehr geringes Sediment
$\frac{1}{100}$ K-S = —			
$\frac{1}{100}$ Ha-S = sehr schwach	}	0,5 + 1,0 M-S = klarend	—
		0,5 + 1,0 Ha-S = "	—
		0,5 + 1,0 K-S = fast klar	—

auch der Ueberschuß des andersartigen heterologen Serums sie negativ gestalten kann. Ich erhalte dann in allen Kontrollen Klärung, das spezifische Antigen bleibt unentdeckt. Hier bestätigt sich also die von L. Michaelis gefundene Tatsache, daß jede Eiweißlösung im Ueberschuß jede Präzipitinreaktion in gewissem Grade hemmt, und schwache Niederschläge in der Schwebe erhalten kann.

Besonders in Artgemischen macht sich dieser Mangel bemerkbar und die Dosierung des Ueberschusses wird hier noch schwieriger. Es kann vorkommen, daß der Zusatz von 1 ccm Ueberschuß des homologen und der heterologen Seren nicht genügt und in allen Kontrollen eine mehr oder weniger deutliche Trübung, nach 18 Stunden ein geringes Sediment zurückbleibt (Tab. III a).

Tabelle IIIa.

A-S 99 mit	20 Min.	30 Min. bei 37°	18 Stunden
$\frac{1}{1000}$ M-S + $\frac{1}{10}$ Ha-S = stark	}	0,5 + 1,0 M-S = trüb	geringes Sediment
		0,5 + 1,0 Ha-S = "	" "
		0,5 + 1,0 K-S = "	" "

In erneuten Proben wurde daher der Ueberschuß auf 1,5 ccm erhöht; aber jetzt trat in allen Röhren Klärung ein. Der Ueberschuß des Kalbserum war so groß, daß er den Ausfall des schwachen Präzipitats ganz unterdrückte (Tab. III b).

Tabelle IIIb.

A-S 99 mit	20 Min.	30 Min. bei 37°	18 Stunden
$\frac{1}{1000}$ M-S + $\frac{1}{10}$ Ha-S = stark	}	0,5 + 1,5 M-S = klarend	—
		0,5 + 1,5 Ha-S = "	—
		0,5 + 1,5 K-S = "	—

Absolut klare, nicht opaleszierende und möglichst sterile Normalsera sind Vorbedingung für den Versuch, und solche sind nicht leicht zu erlangen. Vor allem aber ist das forensische Antigen nicht steril und es entwickeln sich daher schon bei dem halbstündigen Aufenthalt im Brutschrank, besonders aber nach dem 18—24-stündigen Stehen selbst auf Eis störende bakterielle Trübungen in den Kontrollen, die die Beurteilung des Resultates noch mehr erschweren.

Gerade forensisch bedarf es eines schnellen Hantierens mit dem Antigen; man muß bedenken, daß die Extraktion bei geringen oder älteren Blutspuren an sich schon oft geraume Zeit beansprucht, in der sich unliebsame Trübungen einstellen können, die auch durch Filtration nicht mehr zu entfernen sind.

Leider verbietet es sich dadurch auch, die Dehnesche Kontrolle an das Ende der Reaktion zu verlegen, anstatt nach Ablauf von 20 Minuten. Sie würde dadurch an Sicherheit des Arbeitens und der Beurteilung gewinnen. Die Dosierung des Ueberschusses ist nach dem Absitzen des Präzipitats seiner Menge entsprechend exakter zu bemessen als nach 20 Minuten, wo ich über die Stärke der Reaktion noch kein klares Bild habe.

Die Kontrolle würde sich dann so gestalten: Nach dem Absitzen des 24-stündigen Präzipitats (homologer oder heterologer Natur) wird die überstehende Flüssigkeit abpipettiert, das Sediment eventuell noch in Kochsalzlösung gewaschen, abzentrifugiert, von der Kochsalzlösung wieder befreit, in neuer auf 2 ccm aufgeschwemmt, geschüttelt, in 4 Teile zu 0,5 ccm geteilt und diese Teile mit dem entsprechenden Ueberschuß des homologen und der heterologen Seren und Kochsalzlösung versetzt. Es ist ersichtlich, daß dadurch die Gefahr einer unspezifischen Hemmung der Reaktion durch heterologen Ueberschuß verhindert wird.

In ähnlicher Weise wie Dehne den Ueberschuß habe ich versucht, die Hemmung der spezifischen Reaktion durch Präzipitoidserum zur Kontrolle heranzuziehen.

Versetzt man präzipitable Substanz (Pb) mit Antiserum, dessen Präzipitine durch dreiviertelstündiges Erhitzen auf 70—72° in Präzipitoide umgewandelt sind (Pd) und einige Zeit später mit unverändertem spezifischen Präzipitin (Pn), so tritt eine Hemmung der Reaktion und Verhinderung der Ausflockung ein. Die Präzipitoide zeigen eine stärkere Avidität zur präzipitablen Substanz als die Präzipitine.

Diese zuerst von L. Michaelis beobachtete Tatsache ist streng spezifisch. Menschen-Pd hemmt nur die Reaktion zwischen Menschen-Pb + Menschen-Pn, nicht z. B. die zwischen Kalb-Pb + Kalb-Pn, und Kalb-Pd nicht die zwischen Menschen-Pb + Menschen-Pn.

Zur Hemmung genügen Michaelis 0,1—0,5 ccm 5-fach verdünnten Präzipitoids auf 0,1 ccm 10-fach verdünnten Antigens + 0,1 ccm Präzipitins, letzteres 10 Minuten nach dem Zusatz des Präzipitoids zugesetzt.

Gelte dieses Gesetz der spezifischen Hemmung durch Pd im negativen Sinne auch für heterologe Fällungen, träte sie also auch in der Kombination Hammel-Pb + Menschen-Pd + Menschen-Pn nicht ein, so wäre damit die Möglichkeit gegeben, heterologe Trübungen und Niederschläge von spezifischen abzugrenzen. Spezifische würden gehemmt, heterologe nicht.

In einem Vorversuche mußte dies zunächst festgestellt werden. Das benutzte Menschenantiserum reagierte mit Menschen-, Pferde-, Hammel- und Kalbserum folgendermaßen:

	5 Min.	20 Min.	18 Stunden
0,1 Pn + $\frac{1}{1000}$ M-S =	++	Flocken	starkes Sediment
0,1 Pn + $\frac{1}{10}$ P-S =	+	++	geringes Sediment
0,1 Pn + $\frac{1}{10}$ Ha-S =	+	++	sehr starkes Sediment
0,1 Pn + $\frac{1}{10}$ K-S =	+	++	" " "

Es gab also in allen Lösungen in derselben Zeit (20 Minuten) annähernd gleiche Reaktionen.

Fügte ich vor dem Pn-Zusatz 0,2 ccm Menschen-Pd zu, so erhielt ich folgendes Bild:

	5 Min.	20 Min.	18 Stunden
1,0 $\frac{1}{1000}$ M-S + 0,2 M-Pd + 0,1 M-Pn =	+	+	sehr geringes Sediment
1,0 $\frac{1}{10}$ Pf-S + 0,2 M-Pd + 0,1 M-Pn =	++	Flocken	geringes Sediment
1,0 $\frac{1}{10}$ Ha-S + 0,2 M-Pd + 0,1 M-Pn =	++	"	sehr geringes Sediment
1,0 $\frac{1}{10}$ K-S + 0,2 M-Pd + 0,1 M-Pn =	++	"	" " "

0,2 ccm Menschen-Pd genügt also in dem homologen Antigen noch nicht zur völligen Hemmung der spezifischen Reaktion, es schwächte aber schon beträchtlich ab. Dagegen erschienen jetzt die heterologen Reaktionen sogar stärker. Das Menschen-Pd hatte offenbar die vorhandenen spezifischen Affinitäten in den heterologen Antigenen gebunden, so daß sie die heterologe Reaktion nicht mehr hemmten.

In einer neuen Reihe wurde nun der Pd-Zusatz auf 0,5 ccm erhöht und nun folgende Reaktionen erhalten:

	5 Min.	20 Min.	18 Stunden
1,0 $\frac{1}{1000}$ M-S + 0,5 M-P + 0,1 M-Pn =	—	—	—
1,0 $\frac{1}{10}$ P-S + 0,5 M-P + 0,1 M-Pn =	++	Flocken	geringes Sediment
1,0 $\frac{1}{10}$ Ha-S + 0,5 M-P + 0,1 M-Pn =	++	"	sehr geringes Sediment
1,0 $\frac{1}{10}$ K-S + 0,5 M-P + 0,1 M-Pn =	++	"	" " "

0,5 ccm Pd-Zusatz hemmte also die homologe Reaktion vollkommen, während die heterologen nach wie vor verstärkt erschienen.

Erhalte ich also im unbekanntem forensischen Antigen eine schwache Reaktion, die ich nicht als spezifisch von einer heterologen trennen kann, weil das Antiserum nicht artspezifisch ist, so gibt die Kontrollprobe mit Präzipitoidzusatz Aufklärung. Fällt sie positiv aus, so war die Reaktion eine spezifische, bei negativem Ausfall eine heterologe.

Wie bei der Dehnesche Kontrolle in der passenden Dosierung des Ueberschusses liegt auch hier der Schwerpunkt in der exakten Dosierung des Pd, d. h. die Grenze ist scharf zu treffen, wo die Hemmung gerade eben noch vollkommen ist. Wird zu wenig Pd zugesetzt, so bewirkt das Pd zwar eine Verlangsamung der Reaktion, verhindert aber, wie wir gesehen haben, nicht die völlige Ausfällung des spezifischen Präzipitats. Ein Ueberschuß an Pd hemmt aber andererseits auch die heterologe Reaktion:

	5 Min.	20 Min.	30 Min.	18 Stunden
1,0 $\frac{1}{10}$ Ha-S + 1,0 M-Pd + 0,1 M-Pn =	+	+	Flocken	Sediment

Daß auch die Konzentration des Antigens bei der Probe von Belang ist, zeigt der folgende Versuch mit fallenden Mengen Antigen bei gleichen Pd- und Pn-Mengen.

	10 Min.	20 Min.	18 Stunden
0,1 $\frac{1}{10}$ M-S + 0,5 Pd + 0,1 Pn + 0,7 ClNa =	++	++	Sediment
0,1 $\frac{1}{100}$ M-S + 0,5 Pd + 0,1 Pn + 0,7 ClNa =	—	±	geringes Sediment
0,1 $\frac{1}{1000}$ M-S + 0,5 Pd + 0,1 Pn + 0,7 ClNa =	—	—	—

In den beiden ersten Lösungen hat also 0,5 ccm Pd nicht genügt, um die Reaktion zu hemmen, sie tritt nur verzögert und schwächer auf, so daß es zu einer geringeren Fällung kommt. Vollständige Hemmung trat in der ersten Reihe erst bei 1,0 ccm Pd-Zusatz ein, in der zweiten genügten 0,8 ccm Pd. Wurde aber der Antiserumzusatz auf 0,1 ccm

einer $\frac{1}{10}$ Verdünnung beschränkt, so genügten jetzt auch in der ersten Lösung 0,5 ccm Pd.

Der Pd-Zusatz muß also gegen das Präzipitin und präzipitable Substanz austitriert werden, letztere in dem unbekanntem Antigen annähernd entsprechender Konzentration.

Auch diese Kontrollprobe eignet sich nicht für Artgemische. Erhalte ich, um bei unserem Beispiel zu bleiben, in der Reihe Menschen-Pb + Hammel-Pb + Menschen-Pd + Menschen-Pn eine Trübung, so müßte ich diese, falls der Pd-Zusatz zur völligen spezifischen Hemmung ausreichte, als heterologe deuten; Menschen-Pb bliebe dann unentdeckt.

III.

Durch eine exakte Wertmessung des Präzipitinerums gegenüber der präzipitablen Substanz, die ein quantitatives Arbeiten ermöglicht, ist die Erhöhung der Spezifität weiterhin angestrebt worden.

Verschiedene Methoden stehen hierzu zur Verfügung.

Wassermann und Schütze empfehlen, die im Antiserum vorhandenen spezifischen Präzipitierungseinheiten festzustellen. Als Normalpräzipitierungseinheit sehen sie die kleinste Menge Antiserum an, die mit einer konstanten Menge Antigen nach einstündigem Aufenthalt bei 37° gerade noch flockige Fällung gibt. Für 5,0 ccm einer Blutlösung, die aus 0,1 ccm defibriniertem, getrocknetem Blut + 5,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung bereitet ist, soll diese Normaleinheit 1,0 ccm des Antiserums sein. Gibt also schon 0,5 ccm Antiserum Flockung, so hat das Antiserum doppelte Einheiten und sein Zusatz muß bei Ausführung der biologischen Probe auf die Normaleinheit beschränkt werden, entweder durch Verminderung der Menge oder entsprechende Verdünnung.

Bei genügend artspezifischem Antiserum ist diese Vorsicht unnötig, weil hier ja kein Uebergriff des Antiserums auf andere Arten innerhalb der begrenzten Zeit zu befürchten ist. Bei nicht artspezifischem genügt es aber nicht, seine optimale Menge in einem beliebigen Grenzwert für die homologe Eiweißart zu kennen, ich muß auch über den Reaktionsablauf in variablen Konzentrationen des Antigens orientiert sein und vor allem über die Stärke seiner Wirkung und den Reaktionsverlauf in den heterologen Antigenen.

Dasselbe gilt für die Methode der Wertmessung von L. Michaelis, der die Tatsache benutzt, daß Präzipitin und präzipitable Substanz nur bei bestimmtem Mengenverhältnis einen Niederschlag geben, ein Ueberschuß an präzipitabler Substanz, die Niederschlagsbildung verhindert bzw. wieder löst.

Michaelis fügt zu einer konstantiven relativ großen Menge des Antigens kleine, steigende Mengen Präzipitin, bis es zu einer deutlichen Ausflockung kommt. Dann ist das Maß für die Stärke des Präzipitins der Bruch, der als Zähler die Menge der präzipitablen Substanz, als Nenner die Menge des Präzipitins in Kubikzentimeter enthält.

Auch diese Zahl gibt nur den Grenzwert der Reaktion für eine bestimmte Konstellation zwischen Antiserum und präzipitabler Substanz. Für die forensische Praxis genügen diese Methoden der Wertmessung nicht.

Ide, Nuttal und Kraus, Hamburger haben vorgeschlagen, die Stärke eines Antiserums an der Quantität des in einer bestimmten Menge präzipitabler Substanz erzeugten Niederschlags zu messen.

Die exakteste Messung, die Wägung, scheidet leider an den äußerst geringen Mengen des Präzipitats. Sie berechnen daher die Menge desselben aus seiner Höhe und dem Lumen des Zentrifugenröhrchens, in

welchem die Reaktion angestellt und der Niederschlag nach 24 Stunden — eine bestimmte Zeit oder bis zum konstanten Volumen — abzentrifugiert wird. Die Höhe desselben wird an der Skala des graduierten Röhrchens mit der Lupe oder mit einem besonderen Meßapparat abgelesen.

Diese äußerst feine Wertmessung würde sich auch für die Praxis eignen, obschon das Zentrifugieren der zahlreichen Kontrollen, die erforderlich sind, technische Schwierigkeiten macht. Es ließe sich aber durch diese Methode gleichsam der Endwert der Reaktion bei konstantem Antiserumsatz zu wechselnden Mengen der verschiedensten Antigene feststellen und die feinsten Differenzen im Ausfall spezifischer und nichtspezifischer Niederschläge erkennen.

Indes zeigt die Erfahrung, daß die Absetzung des Präzipitats auch bei längerem und stärkerem Zentrifugieren nicht gleichmäßig erfolgt, vielmehr abhängig ist von der lockeren und festeren Konsistenz des Niederschlags. Ein nichtspezifisches lockeres Präzipitat kann unter Umständen eine höhere Säule ergeben als ein dichtflockiges spezifisches.

Für forensische Fälle ist außerdem zu berücksichtigen, daß die Menge des Präzipitats von dem Alter eines Blutfleckens abhängt, mit zunehmendem Alter sich verringert, und daß hiernach approximativ die Kontrollantigene zu wählen sind.

Und endlich ist auch hier wieder in praxi die lange Beobachtungszeit eines nicht sterilen Antigens bis zur 24-stündigen Niederschlagsbildung störend. Durch eingetretene bakterielle Trübungen kann nicht nur die Ablesung des Resultats erschwert, sondern auch das Volumen des Sediments vermehrt werden.

Es empfiehlt sich also gewiß aus diesen Gesichtspunkten heraus die Wertmessung anstatt an das Ende der Reaktion an den Anfang zu legen, anstatt die Menge des 24-stündigen Niederschlags, das erste Auftreten der Trübung nach dem Zusatz des Antiserums nach Zeit und Stärke festzulegen. Und wir bleiben dabei nicht stehen, sondern bestimmen auch den weiteren Reaktionsablauf in seinen verschiedenen Stadien in derselben Weise, titrieren das Antiserum für wechselnde Konzentrationsgrade der verschiedensten Antigene aus. So erhält man den vollkommensten Ueberblick über die homologe und heterologe Wirkungsweise des Antiserums.

Diesen Weg hat Uhlenhuth zuerst beschritten und mit Beumer die Grundsätze aufgestellt, nach denen die Prüfung des Antiserums in dieser Weise auszuführen ist, Grundsätze, nach denen auch wir in der Praxis verfahren, und die auch bei Anstellung der biologischen Probe in quantitativem Arbeiten, zeitlich begrenzter Beobachtung der Reaktion und in der Sicherung der Beurteilung durch Kontrollproben gipfeln.

Die Erfahrung hat gelehrt, daß, wenn ein Antiserum störende heterologe Affinitäten hat, die unpassendste Verbindung zur Anstellung der Reaktion: konzentriertes Antigen + hochwertigem Antiserum ist. Denn wenn das vorbehandelte Tier neben den spezifischen auch heterologe Partialpräzipitine bildet, so wachsen natürlich mit der Erhöhung der spezifischen Wertigkeit auch die vorhandenen heterologen Präzipitine.

Kister und Wolff empfahlen daher in der forensischen Praxis ganz allgemein nicht zu hochwertige Antisera (etwa von der Wertigkeit 1:100) zu benutzen, um die störende Präzipitinwirkung heterologer Antikörper zu vermeiden oder wenigstens auf das geringste Maß zu beschränken.

Die Verwendung so geringwertiger Antisera verbietet sich jedoch bei den häufig ganz geringfügigen Blutspuren, und überdies lehrt die praktische Erfahrung, daß mit Hochwertigkeit nicht unbedingt stets ein gleich großer Mangel an Artspezifität verknüpft ist. Es ist auch da, wie überhaupt bei der Präzipitinproduktion die individuelle Disposition des Tieres von Einfluß.

Zu meinen Versuchen benutzte ich unter anderem 2 Immunsera von ganz verschiedenem Charakter, obgleich beide in derselben Weise erzeugt waren. Beide Tiere erhielten in Abständen von 6 Tagen je 2 ccm Menschenserum intravenös. Immunsrum 99 hatte nach der vierten Injektion nur einen Titer von $\frac{1}{1000}$ deutliche Trübung in 5 Minuten und gab mit Hammelserum $\frac{1}{10}$ eine annähernd gleich starke Reaktion in derselben Zeit. Nach der sechsten Injektion war der Titer zwar auf 1:10000 deutliche Trübung in 10 Minuten gestiegen, aber jetzt gab es in der gleichen Zeit die gleiche Reaktion in einer Hammelserumverdünnung 1:500.

Immunsrum 97 erreichte durch dieselbe Zahl Injektionen eine Wertigkeit von 1:100000 noch deutliche Trübung in 10 Minuten. Es war dabei hoch artspezifisch und reagierte auch nach Stunden mit keiner der landläufigen Tierarten (von denen etwa 20 geprüft wurden). Es ging in einigen Wochen bis auf den Titer 1:30000 in 5 Minuten deutliche Trübung zurück, auf dem es sich monatelang konstant und natürlich artspezifisch hielt.

Diese Erfahrung steht nicht vereinzelt da. Es gelingt wohl, hochwertige und zugleich hoch artspezifische Antiseren zu erhalten. Dagegen finden sich weit seltener hochwertige Serumpräzipitine organspezifisch und ohne die verwandten Partialgruppen.

Da wir vom forensischen Antiserum, um auch kleinste Blutspuren nachweisen zu können, eine höhere Wertigkeit (1:20000 bis 1:30000) fordern müssen, verdünnen wir konzentriertere Antigene dementsprechend auf mindestens 1:1000, um bei nicht artspezifischem Antiserum einen möglichst weiten Abstand der Reaktionsgrenzen für das homologe und heterologe Eiweiß zu erhalten. Wir nehmen dabei allerdings eine Verlangsamung und Abschwächung der Reaktion mit in den Kauf, aber es wächst gleichsam die Spezifität: das hochwertige Antiserum ist in dem verdünnten Antigen ebenso spezifisch als schwächeres in dem konzentrierteren.

Auch aus dem Grunde empfiehlt sich die Kombination: relativ geringe Menge präzipitabler Substanz + relativ größere Menge Präzipitinsersums, weil der Ueberschuß der ersteren die Reaktion hemmt und dann auch bei vorhandenen spezifischen Komponenten die Niederschlagsbildung geringer werden oder ganz ausbleiben kann.

Und endlich weil nach den bisherigen Untersuchungen (Moll, Friedemann u. a.) das Präzipitat im wesentlichen vom Präzipitin stammt, Verdünnung der präzipitablen Substanz bis zu einem gewissen Grade die Stärke der Reaktion weniger beeinflußt, als es Verminderung der Präzipitinmenge tun würde.

Leider läßt sich in der Praxis bei Anstellung der Reaktion die Forderung, quantitativ zu arbeiten, nicht immer durchführen. Abgesehen von der Unmöglichkeit, mit der geringen Blutspur eine genügend konzentrierte Eiweißlösung zu erreichen, kann dem spezifischen Eiweiß fremdartiges beigemischt sein — heterologes Tier- oder Organeiweiß —, in einer Menge, die es unmöglich macht, für das spezifische den Kon-

zentrationen 1:1000 nach den praktisch erprobten Vorschriften Uhlenhuths und Beumers (Kochprobe auf Eiweiß, Schaumbildung beim Schütteln) gerade zu treffen. Die geforderten Merkmale können von dem fremdartigen Eiweiß herrühren, während das spezifische in weit geringerer Menge in der Lösung enthalten ist.

Je höher aber die Verdünnung der spezifischen Eiweißmenge, desto schwächer und langsamer fällt die spezifische Reaktion aus und desto schwieriger wird die Beurteilung, ob sie überhaupt eine spezifische ist oder vielmehr — wenn nicht artspezifisches Antiserum verwendet wurde — eine heterologe.

Bei der Untersuchung von Gemischen verschiedener Eiweißarten drängt sich überdies die Frage auf, ob und inwieweit eine Beeinträchtigung der spezifischen Reaktion durch die Anwesenheit heterologen Eiweißes zu erwarten ist.

Uhlenhuth und Beumer geben ganz allgemein an, daß eine Diagnose auch bei Gegenwart mehrerer Blutarten möglich sei, jede einzelne aus der Mischung für sich erkannt werden könne.

Nuttal, Ziemke fanden ebenfalls keine Störung der spezifischen Reaktion durch heterologes Eiweiß. Aber sie arbeiteten mit Mischungen aus gleichen Teilen. Ziemke mischte je 1 ccm Sodauszug aus Flecken von Rinder-, Schweine-, Hunde-, Pferde-, Kälber-, Schaf- und Katzenblut mit je 1 ccm aus Menschenblut und erhielt eine prompte und kräftige spezifische Reaktion. Er hat offenbar ein stark wirkendes und, da unvermischte Tierblutlösungen auch nach Stunden vollkommen klar blieben, auch ein sehr artspezifisches Menschenantiserum gehabt. Außerdem gestattet die Versuchsanordnung — Mischungen aus gleichen Teilen, die in der Praxis kaum je zu erwarten sind — nicht, diese Resultate zu verallgemeinern.

Ihnen gegenüber berichten Halban und Landsteiner, daß die Anwesenheit von Pferde- und Rinderserum neben menschlichem die Präzipitation dieses letzteren nach ihren Erfahrungen hemme, nicht aber Hunde-, Kaninchen- und Hühnerserum.

Zu ähnlichen Schlüssen gelangten auch Sachs und Bauer, die Menschenserum mit Schweine-, Rinder- und Pferdeserum in verschiedenen Art- und Mengenverhältnissen mischten. Es gelinge nur die in stärkerer Konzentration vorhandene spezifische Art zu ermitteln. Sie geben daher dem Komplementverfahren bei der Untersuchung von Artgemischen den Vorzug, da es spezifischer, empfindlicher sei und viel geringerer Mengen des spezifischen Antigens bedürfe, als sie für die Präzipitation erforderlich seien.

Noch weiter führten die Untersuchungen von L. Michaelis. Er fand, daß jede Eiweißlösung in etwas erheblicherer Konzentration jede Präzipitinreaktion in geringer Weise derart hemmt, daß das Ausfallen des Niederschlags verlangsamt wird, und daß derselbe, wenn er sehr gering ist, unter Umständen ganz in der Schwebe gehalten werden, die Reaktion also negativ ausfallen kann.

Die folgenden Versuche sind dieser für die forensische Praxis äußerst wichtigen Frage der Beeinflussung der spezifischen Reaktion durch art- und organfremdes Eiweiß gewidmet.

Sie sind angeregt durch einen forensischen Fall, in welchem mir in der mündlichen Verhandlung die Frage vorgelegt wurde, ob sich unter der beträchtlichen Menge Schweineblut, welches sich an der Hose des Angeschuldigten befand, nicht etwa ganz geringe Mengen vielleicht abgewischten Menschenblutes befinden könnten. Der Angeschuldigte hatte

3 Personen durch Beiliebe getötet und es konnte angenommen werden, daß er dabei Blutspritze erhalten hatte. Da die Untersuchung der Hose mit dem hochwertigen und hoch artspezifischen Menschenantiserum 97 ein negatives Resultat ergeben hatte, während andere Gegenstände zahlreiche Menschenblutspritzen zeigten, glaubte ich die gestellte Frage verneinen zu müssen.

Unter spezifischer Reaktion ist im folgenden stets die mit menschlichem Blutsrum verstanden; das Mengenverhältnis zwischen präzipitabler Substanz und Präzipitin ist stets 0,9:0,1. Im Reaktionsablauf unterschied ich sehr starke Fällung bezw. beginnende Flockenbildung + + + +, starke Fällung + + +, deutliche + +, schwach deutliche, geringe +, sehr schwache, fragliche ±, keine Reaktion —.

Benutzt wurde zu den Versuchen das Präzipitinserum 97, welches auch nach Stunden mit keiner heterologen Serumart eine Reaktion gab. Die Reaktionsweise dieses Antiserums mit dem homologen Antiserum zeigt Tabelle III c; seine Reaktion mit fallenden Mengen Menschenserum + $\frac{1}{100}$ bezw. $\frac{1}{10}$ Pferdeserum die Tabelle IV und V.

Tabelle IIIc.

Menschen A-S austitriert.	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
100 =	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	sehr stark. Sed.
1000 =	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	" " "
10000 =	+	++	+++	+++	++++	++++	++++	starkes Sediment
100000 =	—	—	±	+	+	+	+	gering. Sediment

Tabelle IV.

Menschen A-S 97 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{100}$ P-S:	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
100 + $\frac{1}{100}$ =	+	++	+++	+++	+++	++++	++++	sehr st. Sed.
1000 + $\frac{1}{100}$ =	+	++	+++	+++	+++	++++	++++	" " "
10000 + $\frac{1}{100}$ =	—	++	+++	+++	+++	++++	++++	starkes Sed.
20000 + $\frac{1}{100}$ =	—	—	++	++	++	++	++	Sediment
40000 + $\frac{1}{100}$ =	—	—	++	+	+	+	+	sehr ger. Sed.
60000 + $\frac{1}{100}$ =	—	—	—	—	±	±	±	—
100000 + $\frac{1}{100}$ =	—	—	—	—	—	±	±	—

Tabelle V.

Menschen A-S 97 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ P-S.	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
100 + $\frac{1}{10}$ =	+	++	+++	+++	+++	++++	++++	sehr st. Sed.
1000 + $\frac{1}{10}$ =	+	+	++	++	++	+++	+++	" " "
10000 + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	+	+	++	+++	starkes Sed.
20000 + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	+	+	+	+	Sediment
40000 + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	+	+	+	+	gering. Sed.
60000 + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	+	+	sehr ger. Sed.
100000 + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	—	—	—

Man sieht, wie schon die Beimischung von $\frac{1}{100}$ Pferdeserum die spezifische Reaktion beeinflusst; sie tritt nicht nur verspätet, sondern in allen Verdünnungsgraden des Antigens auch schwächer auf. Noch größer ist die Schwächung und Verlangsamung durch $\frac{1}{10}$ Pferdeserum. Besonders deutlich wird dies, wenn die Menschenserummenge in der Mischung geringer wird: $\frac{1}{20000}$ M-S + $\frac{1}{100}$ P-S gibt noch deutliche und kräftige spezifische Trübung, $\frac{1}{20000}$ M-S + $\frac{1}{10}$ P-S dagegen nur eben noch erkennbare schwache Trübung. Wäre das Antiserum nicht artspezifisch, könnten Zweifel entstehen, ob solche schwache Reaktionen auch spezifische sind. Während die Verdünnung $\frac{1}{100000}$ reinen M-S noch deutliche Reaktion gibt, wird dieselbe in der Mischung mit $\frac{1}{100}$ P-S so schwach, daß sie nicht verwertet werden kann und in der Mischung mit $\frac{1}{10}$ P-S fällt sei sogar negativ aus.

Die folgenden Tabellen VI und VII zeigen die gleiche Abschwächung und Verlangsamung der spezifischen Reaktion durch $\frac{1}{100}$ und $\frac{1}{10}$ Kalbserum, sie wächst auch hier mit der Konzentration des beigemischten heterologen Eiweißes.

Tabelle VI.

Menschen A-S 97 mit fallenden Mengen $\frac{1}{100}$ K-S		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{100}$	+ $\frac{1}{100}$	=	—	+	+	++	++	++++	starkes Sed.
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{100}$	=	—	+	++	+++	+++	+++	„ „ „
$\frac{1}{10000}$	+ $\frac{1}{100}$	=	±	+	++	++	++	++	geringes Sed.
$\frac{1}{100000}$	+ $\frac{1}{100}$	=	—	—	—	±	±	±	—

Tabelle VII.

Menschen A-S 97 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ K-S.		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{100}$	+ $\frac{1}{10}$	=	—	+	+	++	++	++++	starkes Sediment
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{10}$	=	—	±	+	++	+++	+++	„ „ „
$\frac{1}{10000}$	+ $\frac{1}{10}$	=	—	—	+	+	++	++	geringes Sediment
$\frac{1}{100000}$	+ $\frac{1}{10}$	=	—	—	—	—	±	±	—

Die nächsten beiden Tabellen VIII und IX zeigen die umgekehrte Versuchsanordnung — konstante Mengen M-S mit fallenden Mengen heterologen Serums (K-Ha) — mit demselben Resultat. Man sieht hier,

Tabelle VIII.

Menschen A-S 97 mit $\frac{1}{10000}$ M-S und fallenden Mengen K-S.		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{2}$	=	—	—	—	+	+	++	starkes Sed.
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{10}$	=	—	±	+	++	+++	+++	„ „
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{100}$	=	—	+	++	+++	+++	+++	„ „
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{1000}$	=	+	+	++	+++	+++	+++	„ „
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{10000}$	=	+	++	++	+++	+++	+++	„ „

Tabelle IX.

Menschen A-S 97 mit $\frac{1}{10000}$ M-S und fallenden Mengen H-S.		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{2}$	=	—	—	—	±	+	++	starkes Sed.
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{10}$	=	—	±	+	++	+++	+++	„ „
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{100}$	=	—	+	++	+++	+++	+++	„ „
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{1000}$	=	+	++	++	+++	+++	+++	„ „
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{10000}$	=	+	++	++	+++	+++	+++	„ „

wie mit steigender Konzentration des heterologen Eiweißes die Schwächung und Verzögerung der Reaktion ganz erheblich wächst. In der Kombination $\frac{1}{1000}$ + $\frac{1}{2}$ ist sie innerhalb 20 Minuten so schwach, daß, wenn das Antiserum nicht artspezifisch wäre, gewiß Zweifel über ihre Spezifität berechtigt wären.

Die Fehlerquellen vermehren sich, wenn mit nicht artspezifischem A-S gearbeitet wird. Menschen A-S 96 ist nicht artspezifisch, es gibt mit H-S und P-S heterologe Reaktion. Die spezifischen Reaktionen mit M-S zeigt die Tabelle X; die heterologen mit Ha-S und P-S die Tab. XI und XII.

Tabelle X.

Menschen A-S 96 austitriert mit M-S.		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{100}$	=	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	sehr st. Sed.
$\frac{1}{1000}$	=	±	+	++	++	+++	+++	+++	„ „ „
$\frac{1}{10000}$	=	—	±	±	+	++	++	++	starkes Sed.
$\frac{1}{20000}$	=	—	—	—	±	+	+	++	Sediment
$\frac{1}{50000}$	=	—	—	—	—	±	±	+	„
$\frac{1}{100000}$	=	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XI.

Menschen A-S 96 austitriert mit Ha-S.

	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{3}$ =				—	—	±	±	—
$\frac{1}{10}$ =				—	±	+	±	—
$\frac{1}{100}$ =				—	±	+	±	gering. Sediment
$\frac{1}{1000}$ =				—	—	—	—	—

Tabelle XII.

Menschen A-S 96 austitriert mit P-S.

	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	24	18 Stunden
$\frac{1}{3}$ =				—	—	—	—	±	—
$\frac{1}{5}$ =				—	—	—	—	+	—
$\frac{1}{10}$ =				—	—	+	+	+	—
$\frac{1}{50}$ =				±	±	+	+	+	Sediment
$\frac{1}{100}$ =				±	+	+	+	+	„
$\frac{1}{200}$ =				±	+	+	+	+	„
$\frac{1}{500}$ =				—	—	—	+	+	—
$\frac{1}{1000}$ =				—	—	—	—	—	—

Zu diesen beiden letzteren ist zunächst zu bemerken, daß auch die heterologe nicht spezifische Reaktion in den fallenden Konzentrationen der präzipitablen Substanz eine Kurve zeigt, mit einem Gipfel, der dem Reaktionsoptimum entspricht, und einem Abfall nach beiden Seiten. Die optimale Konzentration des Ha-S für das Menschen A-S 96 liegt zwischen $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{100}$, bei dem exakter austitrierten P-S verengen sich die Grenzen auf $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{200}$ Verdünnung der präzipitablen Substanz. Es tritt also auch hier eine Hemmung durch den Ueberschuß ein.

Wir ersehen ferner, daß das Menschen A-S 96 gegenüber Ha-S eine Spezifitätsbreite hat von 1:200; die äußersten Verdünnungen, die in derselben Zeit (20 Minuten) annähernd noch in gleicher Weise reagieren, sind $\frac{1}{100}$ Ha-S und $\frac{1}{20000}$ M-S. Gegenüber dem Pferdeserum beträgt diese Breite sogar nur 1:100; hier geben die Verdünnungen 1:200 P-S und 1:20000 M-S noch gleiche Reaktionen in 20 Minuten.

Bei der geringen Artspezifität dieses Antiserums müssen wir auf erhebliche Fehlerquellen gefaßt sein, und wir werden es zu forensischen Untersuchungen nicht verwenden.

Die Fehlerquellen zeigen die Tabellen XIII und XIV. Tabelle XIII die Einwirkung des A-S 96 auf fallende Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ H-S. Tabelle XIV die Wirkung auf fallende Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ PS.

Tabelle XIII.

Menschen A-S 96 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ Ha-S.

	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	±	+	+	Sediment
$\frac{1}{100}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	±	+	+	++	++	starkes Sed.
$\frac{1}{1000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	±	+	+	++	+++	„
$\frac{1}{10000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	±	+	++	Sediment
$\frac{1}{20000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	+	++	„
$\frac{1}{50000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	—	+	geringes Sed.

Tabelle XIV.

Menschen A-S 96 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ P-S.

	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	±	+	geringes Sed.
$\frac{1}{100}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	±	+	++	+++	starkes Sed.
$\frac{1}{1000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	±	+	+	+++	+++	„
$\frac{1}{10000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	±	+	+	+	+	Sediment
$\frac{1}{20000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	±	+	?
$\frac{1}{50000}$ + $\frac{1}{10}$ =	—	—	—	—	—	—	—	—

Wir sehen, daß zahlreiche Reaktionen, besonders zunehmend mit der größeren Verdünnung des Menschenserums einen Ausfall zeigen, aus

dem nicht zu entscheiden ist, ob er vom M-S oder von dem heterologen Serum herrührt, weil die Stärke der Reaktion innerhalb 20 Minuten nicht die übertrifft, die reines Pferde- und Hammelserum in dieser Zeit in gewissen Verdünnungen mit dem A-S 96 geben.

Eine einwandfreie Deutung lassen nur die Reaktionen $\frac{1}{100}$ M-S + $\frac{1}{10}$ Ha-S und $\frac{1}{1000}$ M-S + $\frac{1}{10}$ Ha-S, sowie die gleichen Kombinationen mit P-S zu. Hier hat die Fällung schon innerhalb 20 Minuten einen Grad, der als spezifische Reaktion angesehen werden muß, da diese Stärke im Ha-S und P-S allein nicht erreicht wird.

Die folgenden Versuche beweisen die Beeinflussung der Präzipitinreaktion durch die Anwesenheit von organfremdem Eiweiß. Als solches wurden eitriges Sputum und Sperma, die noch am ehesten in forensen Fällen zu erwarten sind, gewählt.

Menschen A-S 97 gibt mit klar filtriertem, unverdünntem Sputum folgende Reaktion:

Tabelle XV.

	Sofort	5 Min.	10 Min.	20 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{1}$ =	—	±	+	++	Sediment
$\frac{1}{10}$ =	—	—	+	++	"
$\frac{1}{100}$ =	—	—	—	±	—

Tabelle XVI.

Menschen A-S 97 mit den Samenblasen der Leiche entnommen zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung versetztem und klar filtriertem Sperma.

	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$ =	±	+	+	++	Sediment
$\frac{1}{10}$ =	—	±	+	++	"
$\frac{1}{100}$ =	—	—	—	±	—

Tabelle XVII.

Menschen A-S 97 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{1}$ Sputum.

	Sofort	3 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{100}$ + $\frac{1}{1}$ =	+	+	+++	+++	Flocken	sehr starkes Sediment
$\frac{1}{1000}$ + $\frac{1}{1}$ =	±	+	++	+++	"	" starkes Sediment"
$\frac{1}{10000}$ + $\frac{1}{1}$ =	—	±	+	++	"	" starkes Sediment"

Tabelle XVIII.

Menschen A-S 97 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{2}$ Sperma.

	Sofort	3 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{100}$ + $\frac{1}{2}$ =	+	+	++	+++	Flocken	sehr starkes Sediment
$\frac{1}{1000}$ + $\frac{1}{2}$ =	±	++	++	+++	"	" starkes Sediment"
$\frac{1}{10000}$ + $\frac{1}{2}$ =	—	±	+	++	"	" starkes Sediment"

Sachs und Bauer, die, wie auch Rickmann, zu ähnlichen Resultaten bei der Untersuchung von Artgemischen mittels der Präzipitinreaktion gekommen sind, haben versucht, durch Herabsetzung der Antiserumdose auf die Menge, wie sie z. B. für die Komplementbildung benutzt wird, das Auftreten der heterologen Reaktion einzuschränken. Sie gingen dabei von dem Gesichtspunkt aus, den wir oben bereits erwähnt haben, daß Verminderung des Antiserumzusatzes die heterologen Partialpräzipitine vermindert. Sie erreichten damit jedoch keine wesentliche Besserung des Resultats. Anstatt in 2 Minuten „deutlich“ trat jetzt im Gemisch die Reaktion erst in 10 Minuten „schwach“ auf; im reinen Schweineserum statt in 4 Minuten „deutlich“ erst in 15—20 Min. „schwach“ auf.

Man muß sich ja a priori sagen, daß in demselben Verhältnis auch die spezifischen Partialantikörper, also auch die spezifische Reaktion abnehmen muß; es tritt also eine Verschiebung aller Reaktionen nach der negativen Seite auf, die insofern schon nicht günstig sein kann, als ohne-

hin in Artgemischen die spezifische Reaktion durch das heterologe Eiweiß geschwächt ist.

Ich habe im Gegenteil seit längerem einen vermehrten Antiserumzusatz bei Artgemischen bevorzugt und bin dabei von folgendem Gedankengang geleitet worden.

Wie wir oben gesehen haben, liegt der Grund für die erschwerte Beurteilung bei nicht artspezifischen Antiseren in der geringen Spezifitätsbreite derselben. Ein Antiserum mit einer Spezifitätsbreite von $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{200}$ für heterologe Eiweißarten gab so viele gleich starke Reaktionen in nur wenig abweichenden Verdünnungsgraden des homologen und heterologen Antigens, daß eine sichere Erkennung des Charakters der Reaktion nicht möglich war. Auch Sachs und Bauer benutzten solche Antiseren, und daher ihr ungünstiges Resultat mit der Präzipitinreaktion.

Je höher die Spezifitätsbreite des Antiserums, desto weniger stören eventuell auftretende heterologe Reaktionen. Das hochwertige Antiserum 98 gibt z. B. mit M-S folgende Reaktionen:

Tabelle XIX.

	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{100}$ =	sofort ganze Kuppe flockig							sehr st. Sed.
$\frac{1}{1000}$ =	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	"starkes" Sed.
$\frac{1}{10000}$ =	++	++	++	+++	+++	+++	+++	Sediment
$\frac{1}{100000}$ =	—	—	+	±	+	++	++	

Es ist aber nicht völlig artspezifisch und reagiert mit P-S folgendermaßen:

Tabelle XX.

	Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$ =	—	—	—	—	—	—	—	—
$\frac{1}{10}$ =	—	—	—	±	+	+	+	gering. Sediment
$\frac{1}{100}$ =	—	—	—	±	+	++	++	Sediment
$\frac{1}{1000}$ =	—	—	—	—	—	—	±	—

Man sieht, daß hier erst die Reaktionen in $\frac{1}{100000}$ Verdünnung M-S denen in $\frac{1}{100}$ P-S ähnlich werden. A-S 98 hat also für P-S eine Spezifitätsbreite, die etwa 1000 beträgt. Ich könnte hier also erst bei einer Mischung beider Arten, die fast tausendmal soviel P-S wie M-S enthält, schwankend werden, ob ich die Reaktion auf M-S oder P-S beziehen soll. Alle anderen Reaktionen sind in der Stärke und zeitlich so verschieden, daß sie nicht verwechselt werden können.

Die Menge des Präzipitats steigt nun, wie L. Michaelis zeigte, bis zu einem gewissen Grade und bleibt von da an konstant, wenn man zu einer konstanten Menge der präzipitablen Substanz steigende Mengen Präzipitins in einer Versuchsreihe setzt.

Daß aber die Bindungsfähigkeiten zwischen Präzipitin und präzipitabler Substanz bei dem gebräuchlichen 5—10-proz. Zusatz von Präzipitins serum nicht völlig erschöpft werden, beweist die Tatsache, daß nach Ablauf der Reaktion und 24-stündigem Absitzen des Präzipitats stets noch ungebundene Gruppen präzipitabler Substanz in der überstehenden Flüssigkeit durch erneuten Präzipitinzusatz nachzuweisen sind (Eisenberg und Volk, v. Dungern).

Durch eine Vermehrung des Präzipitinzusatzes können die Bindungsverhältnisse in höherem Maße erschöpft werden, ohne daß die Reaktion, selbst durch einen Ueberschuß an Präzipitin, wie Michaelis nachwies, beeinträchtigt wird.

Die Tabellen XXI, XXII zeigen die Reaktionen nach doppeltem Präzipitinzusatz. Wir sehen, daß im homologen Antigen die Reaktion nicht nur beschleunigt, sondern auch verstärkt auftritt, daß sie dagegen

Tabelle XXI.

Doppelte Dosis Menschen A-S 98 mit fallenden Mengen M-S.		Mengen M-S.							18 Stunden
		Sofort	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.		
$\frac{1}{100}$	=	++++	++++	++++	++++	++++	++++	sehr stark. Sed.	
$\frac{1}{1000}$	=	+++	+++	++++	++++	++++	++++	!,, " "	
$\frac{1}{10000}$	=	++	++	++++	++++	++++	++++	" " "	
$\frac{1}{100000}$	=	+	+	++	++	++	++	starkes Sed.	
$\frac{1}{1000000}$	=	-	-	-	-	-	-	-	

Tabelle XXII.

Doppelte Dosis Menschen A-S 98 mit fallenden Mengen P-S.		Mengen P-S.							18 Stunden
		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	
$\frac{1}{10}$	=	-	-	-	-	±	+	+	gering. Sediment
$\frac{1}{100}$	=	-	-	-	-	+	+	+	" "
$\frac{1}{1000}$	=	-	-	-	-	-	-	±	-
$\frac{1}{10000}$	=	-	-	-	-	-	-	-	-

im heterologen zwar auch eine Beschleunigung, aber keine wesentliche Verstärkung erfährt.

Die spezifischen Affinitäten im homologen Antigen waren bei der einfachen Antiserumdosis von 0,1 nicht alle ausgenutzt, die doppelte Dosis bindet auch von diesen noch einen beträchtlichen Teil, und daher die Verstärkung der Reaktion im homologen Antigen.

In dem heterologen aber hat die einfache Antiserumdosis schon genügt, um alle verwandten Gruppen aus der präzipitablen Substanz zu binden und mit in Fällung zu nehmen. Vermehrung des Antiserumzusatzes findet hier keine bindungsfähigen Gruppen mehr, eine Vermehrung des Präzipitats kann daher nicht mehr erfolgen.

Tabelle XXIII zeigt die Wirkung doppelten Antiserumzusatzes im Artgemisch (M-S + P-S). Wir sehen, wie die Stärke der Reaktion auch

Tabelle XXIII.

Doppelte Dosis Menschen A-S 98 mit fallenden Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ P-S.		Mengen M-S + $\frac{1}{10}$ P-S.							18 Stunden
		Sofort	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	
$\frac{1}{10}$	+ $\frac{1}{10}$ =	sofort ganze Kuppe flockig							sehr st. Sed.
$\frac{1}{100}$	+ $\frac{1}{10}$ =	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	" " "
$\frac{1}{1000}$	+ $\frac{1}{10}$ =	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	" " "
$\frac{1}{10000}$	+ $\frac{1}{10}$ =	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	" " "
$\frac{1}{20000}$	+ $\frac{1}{10}$ =	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	" " "
$\frac{1}{50000}$	+ $\frac{1}{10}$ =	+	+	+	+	+	+	+	Sediment

in den höheren Verdünnungen des M-S so erheblich gewachsen ist, daß ihr Charakter als spezifische Reaktion auch in den höheren Verdünnungen unverkennbar ist, da diese Stärke in dem P-S allein in keiner Konzentration und Zeit erreicht wird.

Wir haben also in der Vermehrung des Antiserumzusatzes ein Mittel, die Spezifitätsbreite für homologe gegenüber heterologen Eiweißarten in dem Präzipitinserum zu erhöhen. Besonders für Artgemische, die mit einem nicht artspezifischen Serum geringer Spezifitätsbreite, wie z. B. Sachs und Bauer es in ihren Versuchen anwandten, untersucht werden müßten, würde eine Vermehrung des Antiserumzusatzes zu versuchen sein. Die spezifischen Affinitäten werden mehr ausgenutzt und die Hemmung durch heterologe Beimischung besser überwunden. Ueber die Verdoppelung bin ich nie hinausgegangen.

Ueberblicken wir noch einmal das Resultat der Arbeit bis hierher.

Keine der Bemühungen, die Spezifität der Präzipitinreaktion in ihrem jetzigen Gewande zu erhöhen, hat für die forensische Praxis zu verlässlichen und in allen Fällen brauchbaren Ergebnissen geführt. Keine gibt an der Hand einfacher Maßnahmen, wie für die Praxis gefordert werden muß, für alle Verhältnisse sichere Normen.

Die verschiedenen Kontrollproben sind teils zu diffizil und zu umständlich, teils bergen auch sie Fehlerquellen oder eignen sich nicht für forensische Antigene.

Die von Dehne empfohlene Ueberschußhemmung und die von mir versuchte Präzipitoidhemmung geben schon mit bekanntem und in seiner Konzentration bestimmbar Antigen nicht immer eindeutige Resultate, viel weniger mit dem unbekanntem forensischen Antigen. Die passende Dosierung des Ueberschusses bzw. des Präzipitoids ist hier noch schwieriger zu treffen.

Wir bleiben also, um Täuschungen zu vermeiden, auf ein möglichst quantitatives Arbeiten, zeitlich beschränkte Beobachtung der Reaktion und sorgfältigste Austitrierung des Antiserums vor dem Gebrauch angewiesen. Wir müssen nicht nur seine Stärke, seine Wertigkeit kennen, sondern auch seine Mängel und Schwächen. Und dazu genügt nicht die Feststellung der Präzipitierungseinheiten oder die Menge des Niederschlages am Ende der Reaktion, also gewisser Grenzwerte, sondern wir müssen über den gesamten Ablauf der Reaktion in ihren verschiedenen Stadien und in variablen Konzentrationen der verschiedenen Antigene — nicht nur des spezifischen — orientiert sein.

Ganz besonders gilt dies für Artgemische, und wenn wir gezwungen sind, mit nicht spezifischen Antiseren zu arbeiten.

Unsere Bemühungen erstreben ja die Herstellung möglicher Art-spezifität des Antiserums und wir suchen diese durch Impfung von der nachzuweisenden Blutart möglichst entfernt stehender Tierarten zu erreichen, um verwandte und gemeinsame heterologe Partialpräzipitine auszuschließen.

Auch meine Erfahrungen gehen dahin, daß, je länger und intensiver die Vorbehandlung ist, desto eher ein Uebergreifen des Antiserums auf heterologe Eiweißarten zu befürchten ist. Ich mache daher jetzt gewöhnlich nur 2—3 Einspritzungen von je 2 ccm desselben Normalserums intravenös innerhalb 3—4 Wochen und erhalte damit, sofern das Tier sich überhaupt eignet, Antiseren von $\frac{1}{30000}$ bis $\frac{1}{50000}$ und mehr Wertigkeit und erheblicher Spezifitätsbreite, wenn nicht völliger Artspezifität gegenüber heterologem Eiweiß.

Bei den Serumpräzipitinen ist Artspezifität eher zu erreichen als Organspezifität.

Von der forensischen Verwendung sind wenigstens die Antiseren mit geringer Spezifitätsbreite auszuschließen, weil hier der geringe Abstand der Reaktion in den verschiedenen Konzentrationen der Antigene die Fehlerquellen vermehrt. Durch Erhöhung der Antiserumdosis könnte eventuell eine Vermehrung der Spezifitätsbreite versucht werden.

Weiter hat sich ergeben, daß die heterologe Reaktion wie die spezifische in einer Kurve verläuft mit einem dem Reaktions- und Konzentrationsoptimum entsprechenden Gipfel und Abfall nach beiden Seiten; die Bestätigung, daß Ueberschuß an homologem und heterologem Eiweiß jede Präzipitinreaktion hemmt, sie abschwächt und verlangsamt; daß Beimischung heterologen Eiweißes in dieser Weise schon an sich hemmt;

und endlich, daß Wertigkeit und Artspezifität nicht an und für sich schon in dem Verhältnis zueinander stehen, daß eine hohe Wertigkeit stets mit entsprechend großem Mangel an Artspezifität verbunden sein muß.

In dem folgenden Abschnitt soll über Versuche berichtet werden, die darauf ausgehen, die Spezifität der Präzipitinreaktion, die jetzt auf der Bereitung von Serumpräzipitinen beruht, dadurch zu erhöhen, daß sie auf eine andere Basis gestellt wird.

Bei seinen Studien über Agglutinine und Präzipitine, bei welchen er mit den getrennten Bestandteilen des Blutes, mit Blutserum, Erythrocyten, Hämoglobinlösungen und Stromata immunisierte, gelangte A. Klein-Wien u. a. zur Abgrenzung der Erythropräzipitine von den Serumpräzipitinen.

Schon vorher waren Immunisierungsversuche mit dem gelösten Inhalt der Erythrocyten von Nolf, Bordet, v. Dungern, Stewart, und weiterhin von Ford und Halsey, Nagelschmidt, Centanni, Levene, Batelli u. a. mit wechselndem Erfolg gemacht worden.

Klein behandelte je 1 Kaninchen mit dem Extrakt von Erythrocyten des Menschen, des Pferdes und des Rindes vor und prüfte die erhaltenen Antisera wechselweise an den 3 Extrakten. Jedes Antiserum gab nur in dem Extrakt, der zur Vorbehandlung gedient hatte, kräftigen Niederschlag, nicht jedoch in den artfremden Extrakten.

Er prüfte ferner ein Antiserum, welches er durch Vorbehandlung mit Pferdeerythrocytenextrakt erhalten hatte, auf sein Fällungsvermögen für diesen Extrakt und für Blutserum derselben Art. Er erhielt im Extrakt Niederschläge, im Serum nicht.

Das forensisch interessante Ergebnis aus diesen Versuchen Kleins, ist also das, daß er durch Immunisierung mit dem Auszug des Blutfarbstoffes aus den roten Blutkörperchen ein Immunserum erhielt, welches nur im homologen Erythrocytenextrakt, aber weder in heterologen Erythrocytenextrakten, noch in homologen oder heterologen Blutseren einen Niederschlag gab, welches also mit Artspezifität auch Organspezifität verband.

Es ist klar, wenn es gelingt, ein Präzipitinserum mit dem charakteristischen Repräsentanten des Blutes, dem Rotfarbstoff, zu erzeugen, welches ausschließlich mit diesem durch Präzipitation reagiert, daß dann sich der Blutnachweis nicht nur vereinfachen, sondern auch sicherer gestalten würde. Er brauchte sich nur auf eine Untersuchung, eben die Präzipitinreaktion, zu beschränken; und das Urteil könnte bestimmter lauten, als jetzt, wo wir es auf der Kombination des Ausfalls zweier getrennter Untersuchungen gründen müssen.

Es erschien daher gerechtfertigt, die von A. Klein aus anderen Gesichtspunkten unternommenen Studien, soweit sie die Erzeugung von Erythropräzipitinen betreffen, auch vom forensischen Standpunkt zu prüfen. Unter mannigfachen dankenswerten Anregungen dieses Autors habe ich daher im Laufe des Jahres 1909 Tiere (Meerschweinchen, Kaninchen) mit Erythrocytenextrakten immunisiert.

Da mir menschliches Leichenblut jederzeit zugänglich war und die Untersuchungen auf Menschenblut in der forensischen Praxis weit überwiegen, beschränkte ich mich auf die Bereitung menschlicher Präzipitinsera.

Die Erythrocytenextrakte wurden auf folgende Weise bereitet (im allgemeinen folgte ich dabei dem Verfahren Kleins): Eine bestimmte Menge möglichst frischen und mit sterilen Gefäßen aus den Herzen entnommenen defibrinierten Leichenblutes wurde mit der 10-fachen Menge 0,9-proz. Kochsalzlösung versetzt und die Blutkörperchen in der Zentrifuge serumfrei gewaschen. Da hierauf alles ankommt, die Organspezifität hiervon abhängt, können diese Waschungen nicht sorgfältig genug vorgenommen werden. Sie wurden daher so oft erneuert, bis die Waschflüssigkeit vollständig eiweißfrei war (Ferricyankaliprobe oder biologische

Probe). Diese wurde dann abpipettiert, die sedimentierten Blutkörperchen mit der 3—4-fachen Menge destillierten Wassers unter Umschütteln gelöst, die Lösung durch Zusatz von 9,0-proz. Kochsalzlösung im Verhältnis 9:1 auf physiologischen Gehalt gebracht und zentrifugiert. Auch diese Prozedur darf nicht zu sehr beschränkt werden, da die Sedimentierung der Stromata nur langsam vor sich geht, der Extrakt aber völlig frei davon sein muß.

Der absolut klare und, wenn alle Maßnahmen in sterilen Gefäßen und mit sterilen Lösungen vorgenommen wurden, auch sterile kirschrote Hämoglobineextrakt wurde abpipettiert und diente zur Einspritzung. Ist er steril, hält er sich ohne Zusatz wochenlang, wobei er allerdings stark dunkelt.

Die Kaninchen erhielten davon entweder jedesmal 20,0 ccm intraperitoneal in Abständen von 7 Tagen bis 3 Wochen, je nach ihrem körperlichen Befinden, oder je 2 ccm jeden 6. Tag intravenös. Im ganzen wurden so 11 Tiere geimpft, von denen die ersten 3, die einer Stallseuche zum Opfer fielen, ausschalten.

Nach der 3. bis 8. und mehr Injektionen wurden aus dem Ohr Blutproben entnommen und auf Wertigkeit und Artspezifität geprüft.

Die Fähigkeit der Tiere, Erythroantikörper zu bilden, erwies sich begrenzt; während wir bei der Serumpräzipitinbereitung annähernd von jedem zweiten Tier jetzt ein forensisch brauchbares Antiserum erhalten, gab hier nur der dritte bis vierte Teil der Tiere ein solches. Bei manchen Tieren fand sich im Verlauf der Behandlung, wenn die Injektionen fortgesetzt wurden, um die Wertigkeit zu steigern, ein Erlahmen der Antikörperbildung und Rückgang der Wertigkeit, wie wir dies ja auch bei der Serumpräzipitinbereitung beobachten. Die Behandlung wurde dann längere Zeit ausgesetzt und später bei gutem Gewicht der Tiere wieder aufgenommen. Die ersten Einspritzungen waren meist angreifend und mit Gewichtsabnahme verbunden, erst allmählich trat Gewöhnung und Wohlbefinden ein. Durch die Einspritzungen selbst, auch durch die wiederholten intravenösen, habe ich indes kein Tier verloren. Die Hämoglobinlösung menschlicher Blutkörperchen ist also für Kaninchen nicht toxisch, eine Ergänzung der Angaben Batellis, der die Hämoglobinlösungen von Hund, Katze, Rind und Kaninchen nicht toxisch für Kaninchen fand, wohl dagegen die von Schwein, Hammel, Ratte, also solcher Tiere, auf deren Erythrocyten Kaninchenserum hämolytisch wirkt.

Die Prüfung der Erythropräzipitinsera auf Art und Organspezifität geschah nach der in meiner „Technik“¹⁾ näher ausgeführten Methode. Zunächst wurde an fallenden Konzentrationen des zur Vorbehandlung benutzten Extraktes die Wertigkeit bestimmt; dann an Blutserum, Sperma, Sputum die Organspezifität, und an zahlreichen Tierblutkontrollen die Artspezifität erprobt. Diese letzteren wurden aus getrocknetem, meist schon aus älteren Jahrgängen stammendem Blut bereitet, derart, daß das Blut mit destilliertem Wasser gelöst wurde, die Lösung mit 1,8-proz. Kochsalzlösung, zu gleichen Teilen zugesetzt, auf physiologischen Gehalt gebracht und klar filtriert wurde. Die verschiedenen Verdünnungsgrade wurden dann weiterhin mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Als Spermatestlösung diente das den Samenblasen menschlicher Leichen entnommene Sekret, mit gleichen Teilen 0,9-proz. Kochsalzlösung versetzt und klar filtriert. Sputum wurde ungemischt filtriert

1) Sowie in meiner kürzlich im Verlage von Jul. Springer, Berlin, erschienenen „forensischen Blutuntersuchung“.

benutzt. Endlich wurde auch getrocknetes Menschenblut aus den verschiedensten Jahrgängen, sowie an forensischen Objekten ausgetrocknetes Blut zur Untersuchung herangezogen. Die Konzentration dieser Blutextrakte mußte kolorimetrisch dosiert werden.

Ueber die Erythropräzipitinreaktion ist zu sagen, daß die Trübung etwas anders verläuft als bei der Serumpräzipitinreaktion. Sie erscheint zunächst als ein schwacher, allmählich an Stärke zunehmender Ring an der Berührungszone des unterschichteten Serums mit dem Extrakt. Sie verbreitet sich dann aber nur wenig nach oben, nach dem Extrakt hin, geht vielmehr nach der Kuppe zu und füllt diese allmählich ganz aus. Sie bleibt also am Erythropräzipitin haften, auf dieses im wesentlichen beschränkt. Die Erklärung dafür gibt die Erwägung, daß das Präzipitin vorzugsweise die fällbaren Eiweißkörper enthält, während der Extrakt eiweißarm ist.

Die Erythropräzipitinsera agglutinieren stürmisch. Um diese Agglutinationswirkung auf etwa trotz des sorgfältigen Zentrifugierens noch zurückgebliebene Stromata im Extrakt auszuschließen, habe ich den auf Eis stehenden sterilen Extrakt trotzdem noch mehrmals durch Berkefeld-Filter unter geringem Druck filtriert und mich oft in hängenden Tropfen von der Abwesenheit von Stromata überzeugt.

Bringt man einen Tropfen solchen klaren Erythrocytenextraktes in die Höhlung des Objektträgers und fügt, nachdem man sich von der Stromatafreiheit überzeugt hat, einen Tropfen des Erythropräzipitinsersums hinzu, so sieht man in der vorher klaren Mischung ein körniges Präzipitat sich langsam entwickeln und vermehren.

Die Ergebnisse der Tierbehandlung waren folgende:

Kaninchen d

erhielt vom 3. Febr. bis 6. Juli 1909 neun Injektionen zu je 15—20 ccm Erythrocytenextrakt intraperitoneal, im ganzen 180 ccm. Anfangsgewicht 1700 g, Endgewicht 2075 g.

Prüfung nach der 4. Injektion:
mit Ery-Extr. 0,9 + Ery-Pr. 0,1
20 Min.

$\frac{1}{5}$ = ±
 $\frac{1}{10}$ = +
 $\frac{1}{20}$ = +
 $\frac{1}{40}$ = —

mit Menschenserum

$\frac{1}{10}$ = —
 $\frac{1}{100}$ = —
 $\frac{1}{1000}$ = —

Prüfung nach der 8. Injektion:
mit Ery-Extr.

	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$	= —	—	+	+	geringes Sediment
$\frac{1}{5}$	= —	—	+	+	dgl.
$\frac{1}{10}$	= —	±	+	+	"
$\frac{1}{20}$	= —	±	+	+	"
$\frac{1}{50}$	= —	—	+	+	"
$\frac{1}{100}$	= —	—	±	+	"
$\frac{1}{1000}$	= —	—	—	—	—
mit Menschenserum					
$\frac{1}{10}$	= —	—	—	—	—
$\frac{1}{100}$	= —	—	±	±	—
$\frac{1}{1000}$	= —	—	—	—	—

mit Rinderblut

20 Min. 18 Stunden
 $\frac{1}{5}$ = — —
 $\frac{1}{10}$ = — —
 $\frac{1}{100}$ = — —

desgleichen mit Ziegen-, Hammel-, Pferde-, Kalbblut negativ.

Kaninchen e

erhielt vom 5. Febr. bis 6. Juli 1909 neun Injektionen zu je 15—20 ccm intraperitoneal im ganzen 170 ccm Extrakt. Anfangsgewicht 1700 g, Endgewicht 2350 g.

Prüfung nach der 4. Injektion:

mit Ery-Extr.

20 Min. 18 Stunden

$\frac{1}{2}$	=	—	geringes Sediment
$\frac{1}{5}$	=	±	dgl.
$\frac{1}{10}$	=	±	"
$\frac{1}{20}$	=	+	"
$\frac{1}{50}$	=	±	"

mit Menschenserum

$\frac{1}{10}$	=	—	—
$\frac{1}{100}$	=	—	—
$\frac{1}{1000}$	=	—	—

Prüfung nach der 8. Injektion:

mit Ery-Extr.

3 Min. 5 Min. 20 Min. 60 Min. 18 Stunden

$\frac{1}{2}$	=	—	—	±	+	Sediment
$\frac{1}{5}$	=	—	±	+	+	"
$\frac{1}{10}$	=	—	+	++	++	"
$\frac{1}{20}$	=	—	+	++	++	"
$\frac{1}{50}$	=	—	±	++	++	"
$\frac{1}{100}$	=	—	±	++	++	"
$\frac{1}{1000}$	=	—	—	—	—	—

mit Menschenserum

5 Min. 20 Min. 60 Min. 18 Stunden

$\frac{1}{10}$	=	—	—	±	geringes Sediment
$\frac{1}{100}$	=	—	±	±	dgl.
$\frac{1}{1000}$	=	—	—	—	—

mit Rinderblut

$\frac{1}{10}$	=	—	—	—	—
$\frac{1}{100}$	=	—	—	—	—

desgleichen Pferd, Kalb, Hammel, Ziege negativ

Kaninchen f

erhielt vom 23. Febr. bis 10. April 1909 fünfmal je 2 ccm Extrakt intravenös, vom 10. April — 6. Juli 1909 noch dreimal je 20 ccm intraperitoneal, im ganzen 71 ccm. Anfangsgewicht 1750 g, Endgewicht 1950 g.

Prüfung nach der 5. intravenösen Injektion:

mit Ery-Extr.

1 Min. 3 Min. 5 Min. 10 Min. 20 Min. 60 Min. 18 Stunden

$\frac{1}{2}$	=	+	++	++	+++	+++	++++	18 Stunden Sediment
$\frac{1}{5}$	=	+	++	++	+++	+++	++++	dgl.
$\frac{1}{10}$	=	+	+	++	+++	+++	++++	"
$\frac{1}{20}$	=	±	+	+	++	++	+++	geringes Sediment
$\frac{1}{50}$	=	—	—	±	±	+	+	dgl.
$\frac{1}{100}$	=	—	—	—	—	—	±	sehr ger. Sediment
$\frac{1}{500}$	=	—	—	—	—	—	—	—

mit Menschenserum

5 Min. 20 Min. 60 Min. 18 Stunden

$\frac{1}{10}$	=	—	—	—	—
$\frac{1}{50}$	=	—	±	±	—
$\frac{1}{100}$	=	—	—	—	—
$\frac{1}{1000}$	=	—	—	—	—

mit Menschenblut (1906): $\frac{1}{10}$ in 20 Min. negativ, nach 18 Stunden kein Sediment.

Mit 3 Monate altem Menschenblut:

$\frac{1}{10}$ in 1 Min. deutlich, in 20 Min. stark, in 18 Std. Sediment

$\frac{1}{100}$ in 10 Min. schwach deutlich;

mit Tierblut (Pferd, Hammel, Ziege, Schwein, Kalb, Rind) negativ;

mit Sperma negativ; mit Sputum negativ.

Prüfung nach der 8. (3. intraperitonealen) Injektion:

mit Ery-Extr.

3 Min. 5 Min. 10 Min. 20 Min. 60 Min. 18 Stunden

$\frac{1}{2}$	=	—	—	—	—	—
$\frac{1}{10}$	=	—	—	—	—	—
$\frac{1}{20}$	=	—	—	—	±	± sehr ger. Sediment
$\frac{1}{50}$	=	—	—	—	±	dgl.
$\frac{1}{100}$	=	—	—	—	±	"
$\frac{1}{500}$	=	—	—	—	—	—

	mit Menschenserum			
	5 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$	= —	—	—	—
$\frac{1}{100}$	= —	±	±	—
$\frac{1}{1000}$	= —	—	—	—

mit Tierblut (Pferd, Rind, Ziege, Schwein) negativ,
mit Sperma negativ.

Kaninchen g

erhielt vom 12. März bis 6. Juli 1909 fünfmal 20 ccm intraperitoneal; Anfangsgewicht 2000 g. Die Behandlung mußte dann längere Zeit ausgesetzt werden wegen beträchtlicher Gewichtsabnahme. Endgewicht 1700 g. 7 Tage nach der 5. Injektion entblutet, ca. 30 ccm Erythropräzipitinserum gewonnen.

Prüfung nach der 4. Injektion:

	mit Ery-Extr.					
	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$	= —	—	—	—	—	—
$\frac{1}{10}$	= ±	±	±	±	+	geringes Sediment
$\frac{1}{20}$	= ±	±	+	+	+	dgl.
$\frac{1}{50}$	= ±	±	+	++	++	Sediment
$\frac{1}{100}$	= ±	±	++	++	++	"
$\frac{1}{1000}$	= —	±	+	+	+	"
$\frac{1}{5000}$	= —	—	—	—	—	—

mit Menschenserum negativ, nach 18 Stunden kein Niederschlag.

Prüfung nach der 5. Injektion:

	mit Ery-Extr.					
	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$	= —	—	+	+	+	geringes Sediment
$\frac{1}{5}$	= —	—	+	+	+	dgl.
$\frac{1}{10}$	= —	±	+	++	++	Sediment
$\frac{1}{50}$	= —	±	+	++	+++	"
$\frac{1}{100}$	= —	+	++	++	+++	starkes Sediment
$\frac{1}{1000}$	= —	+	++	++	++	dgl.
$\frac{1}{5000}$	= —	—	—	+	+	Sediment
					+	geringes Sediment

mit Menschenserum

	5 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$	= —	—	—	—
$\frac{1}{100}$	= —	—	—	—
$\frac{1}{1000}$	= —	—	—	—

mit Sperma negativ;

mit Sputum negativ;

mit Tierblut (Pferd, Ziege, Gans, Schwein, Rind, Hund, Hammel) in $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{100}$ Verdünnungen negativ. Nach 18 Stunden fand sich allerdings in einigen Röhrrchen ein geringes Sediment, indes waren die Extrakte aus den alten Blutarten nicht völlig klar zu filtrieren gewesen, so daß Unreinheiten des Antigens hierbei mitspielen können.

Mit Menschenblut (1906) $\frac{1}{500}$ in 5 Min. +, in 10 Min. ++, in 18 Std. starkes Sediment;

mit Menschenblut (1903) $\frac{1}{10}$ in 15 Min. ++, in 18 Std. starkes Sediment;

mit Menschenblut (1898) $\frac{1}{10}$ in 15 Min. +, in 18 Std. starkes Sediment;

mit Menschenblut (1890) negativ.

Kaninchen h

erhielt vom 12. März bis 15. Mai 1909 dreimal 20 ccm Extrakt intraperitoneal; Anfangsgewicht 2125 g, Endgewicht 2000 g. Entblutet wegen vereiternder Bißwunden, ca. 40 ccm Antiserum gewonnen.

Prüfung nach der 3. Injektion:

	mit Ery-Extr.					
	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$	= —	—	±	+	+	geringes Sediment
$\frac{1}{5}$	= —	—	±	+	+	dgl.
$\frac{1}{10}$	= ±	±	+	++	++	Sediment
$\frac{1}{50}$	= —	±	++	++	++	"
$\frac{1}{100}$	= —	±	+	++	++	"
$\frac{1}{500}$	= —	—	+	++	++	"
$\frac{1}{1000}$	= —	—	—	—	±	geringes Sediment

mit Menschenserum negativ;

mit Pferdeserum, Kalbserum, Hammelserum, Rinderserum negativ;

mit Sperma und Sputum negativ;

mit Menschenblut (1908):

	5 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$ =	—	+	+	Sediment
$\frac{1}{50}$ =	—	+	++	„
$\frac{1}{100}$ =	—	—	+	„
$\frac{1}{500}$ =	—	—	±	geringes Sediment

mit Rinder-, Ziegen-, Hunde-, Gänse-, Schweine-, Hammel- und Pferdeblut negativ;
 mit Menschenblut (1898) $\frac{1}{100}$ in 5 Min. ±, in 10 Min. +, in 20 Min. ++, in 18 Std. starkes Sediment;
 mit Menschenblut (1904) aus Flanell $\frac{1}{100}$ in 5 Min. +, in 18 Std. Sediment;
 mit Menschenblut (1906) aus Leinen $\frac{1}{100}$ in 5 Min. +, in 18 Std. Sediment;
 mit Menschenblut (1900) aus Leinen $\frac{1}{100}$ in 10 Min. schwach, in 18 Std. ganz geringes Sediment;
 mit Menschenblut (1886) von Messer $\frac{1}{100}$ und $\frac{1}{10}$ negativ;
 mit Menschenblut (1876) von Messer negativ.

Kaninchen i

erhielt vom 6.—17. Juli 1909 dreimal 2 ccm intraperitoneal von ein und demselben Extrakt. Anfangsgewicht 2050 g, Endgewicht 2100 g.

Prüfung nach der 3. Injektion:
 mit Ery-Extr.

	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$ =	—	—	—	—	—
$\frac{1}{5}$ =	—	—	—	±	—
$\frac{1}{10}$ =	—	±	±	+	geringes Sediment
$\frac{1}{100}$ =	—	±	+	++	Sediment
$\frac{1}{500}$ =	—	—	+	++	„
$\frac{1}{1000}$ =	—	—	—	—	—

mit Menschenserum

	20 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$ =	—	—
$\frac{1}{100}$ =	—	—
$\frac{1}{1000}$ =	—	—

mit Pferde-, Hammel-, Kalbserum negativ; desgleichen mit Hammel-, Ziegen-, Rinder-, Pferdeblut; mit Sperma und Sputum negativ.

Kaninchen k

erhielt vom 6.—17. Juli 1909 dreimal 2 ccm intravenös von demselben Extrakt. Anfangsgewicht 2000 g, Endgewicht 2105 g.

Prüfung nach der 3. Injektion:
 mit Ery-Extr.

	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$ =	—	—	±	+	—
$\frac{1}{5}$ =	—	—	±	+	—
$\frac{1}{10}$ =	—	±	+	++	—
$\frac{1}{100}$ =	—	+	++	+++	Sediment
$\frac{1}{500}$ =	—	+	++	+++	„
$\frac{1}{1000}$ =	—	±	++	++	„
$\frac{1}{3000}$ =	—	—	—	—	—

mit Menschenserum

	20 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$ =	—	—
$\frac{1}{100}$ =	—	—
$\frac{1}{1000}$ =	—	—

mit Sperma und Sputum negativ; mit Pferde-, Hammel-, Kalbserum negativ;
 mit Rinder-, Schweine-, Hunde-, Gänseblut negativ (mit Schweineblut trat allerdings ein geringes Sediment auf, welches aber wohl, wie oben erwähnt, zu beurteilen ist);
 mit Menschenblut (1898) negativ.

Kaninchen l

erhielt vom 6.—17. Juli 1909 dreimal 2 ccm intravenös von demselben Extrakt. Anfangsgewicht 1950 g, Endgewicht 1950 g.

Prüfung nach der 3. Injektion:
 mit Ery-Extr.

	5 Min.	10 Min.	20 Min.	60 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{2}$ =	—	—	—	—	—
$\frac{1}{15}$ =	—	—	±	±	—
$\frac{1}{10}$ =	—	—	+	+	—
$\frac{1}{100}$ =	—	—	+	++	Sediment
$\frac{1}{500}$ =	—	—	+	++	dgl.
$\frac{1}{1000}$ =	—	—	—	—	—

	mit Menschenserum	
	20 Min.	18 Stunden
$\frac{1}{10}$	=	—
$\frac{1}{100}$	=	—
$\frac{1}{1000}$	=	—

mit Sperma und Sputum negativ;
mit Pferde- und Hammelserum negativ;
mit Ziegen-, Hammel- und Schweineblut negativ.

Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht des Resultates der Tierbehandlungen:

Tier	Reaktion im Erythr.-Extr. nach 20 Min.	in M ⁿ /5 nach 20 Min.	in Sperma	in Speichel	in Rind 1903	in Hammel 1903	in Ziege 1907	in Pferd 1903	in Kalb 1903	in Schwein 1903	in Gans 1901	in Hund 1902
d e f g h i k l	$\frac{1}{50}$ deutlich	$\frac{1}{100}$ schwach	.	.	0	0	0	0	0	.	.	.
	$\frac{1}{100}$ stark	$\frac{1}{100}$ schwach	.	.	0	0	0	0	0	.	.	.
	$\frac{1}{100}$ deutlich	$\frac{1}{50}$ schwach	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.
	$\frac{1}{3000}$ deutlich	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\frac{1}{500}$ stark	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\frac{1}{500}$ deutlich	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\frac{1}{500}$ stark	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	$\frac{1}{500}$ deutlich	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Von diesen 8 Erythropräzipitinseren können 3 (g, h, k) durchaus forensische Brauchbarkeit beanspruchen. Sie sind genügend hochwertig. Unter Berücksichtigung der Verdünnung des Extraktes bei seiner Herstellung (4-facher Verdünnung mit destilliertem Wasser) gibt innerhalb 20 Minuten g noch in einer Blutlösung von $\frac{1}{15000}$ eine deutliche Fällung, h in $\frac{1}{2500}$ starke und k in $\frac{1}{5000}$ Extrakt starke Reaktion.

Ihr Wert erhöht sich durch die absolute Organ- und Artspezifität.

Die Antiseren i und l sind zwar geringerwertig, aber immerhin in der limitierten Zeit auch noch wirksam und art- und organspezifisch.

Als forensisch unbrauchbar wären nur die drei geringwertigen und nicht genügend organspezifischen Antiseren d, e und f zu bezeichnen.

A. Klein hatte die Freundlichkeit, Erythropräzipitin h nachzuprüfen und konnte seine Wertigkeit, Art- und Organspezifität bestätigen.

Erythropräzipitin g ist von mir in mehreren Fällen forensischer Untersuchungen zur Erhärtung der Serumpräzipitinprobe benutzt worden, es konnte stets ein gleicher korrespondierender Ausfall konstatiert werden.

Die Anwendung der Erythropräzipitine in der forensischen Praxis ist vorläufig gewiß noch eine beschränkte. Voraussetzung ist vor allem, daß das Blut nicht zu alt und in destilliertem Wasser der Farbstoff noch gut extrahierbar ist. Bei älteren Blutflecken, aus denen sich nicht mehr genügend Blutfarbstoff ausziehen läßt, bleiben wir auf die Serumpräzipitinmethode angewiesen, für die sich noch längere Zeit erfahrungsgemäß ein brauchbarer Extrakt erhalten läßt. Aber das Alter der Blutspuren hindert weniger die Anwendung der Erythropräzipitine als die Geringfügigkeit derselben. Selten sind mir Blutspuren zur Untersuchung gekommen, die älter als einige Wochen waren; dagegen sind sie sehr oft so gering, daß eine für die Erythropräzipitinmethode genügend konzentrierte Blutfarbstofflösung nicht zu erhalten ist, auch nicht bei der Verwendung der Kapillarmethode. Diese hat sich im übrigen auch hier sehr brauchbar erwiesen, in stärkeren Blutlösungen hebt sich bekanntlich die Trübung wegen der Rötung wenig ab, so daß schwache Trübungen nur schwer zu erkennen sind. In der dünnen Schicht bei der Kapillarmethode stört die Rötung der Lösung nicht, und schwache Trübungen heben sich hier deutlich ab.

Die Geringfügigkeit der Blutspuren schränkt also die Verwendung der Erythropräzipitinprobe hauptsächlich ein, aber dies gilt ja auch, wenn auch vielleicht in geringerem Grade, für die Serumpräzipitine, auch hier ist zuweilen eine genügend konzentrierte Eiweißlösung nicht zu erreichen.

Um beide Reaktionen mit demselben Extrakt anzustellen, ist das Blut in destilliertem Wasser zu lösen, um möglichst viel Blutfarbstoff in die Lösung zu bringen und diese dann mit 1,8-proz. Kochsalzlösung isotonisch zu machen.

Besonders empfiehlt sich die Heranziehung der Erythropräzipitine für die Untersuchung von Artgemischen, da Organspezifität, die bei den Serumpräzipitinen schwer zu erreichen ist, bei den Erythropräzipitinen sich bisher stets gefunden hat. Den Mangel derselben bei den drei ersten Serien d, e und f führe ich auf die nicht völlige Entfernung des Blutserums, also auf die nicht genügende Waschung der Blutkörperchen, zurück.

Inwieweit die Erythropräzipitine in dieser Beziehung den Serumpräzipitinen überlegen sind, zeigt die folgende Reihe von Parallelversuchen.

Es wurden Blutlösungen hergestellt von getrocknetem Menschen-, Ziegen- und Rinderblut, die spektroskopisch gerade noch Oxy- bzw. Met-Hbspektrum ergaben, also eine Konzentration von etwa 1 : 4000 hatten; ferner Sperma und Sputum benutzt, alle Lösungen klar filtriert, so daß auch nach 18 Stunden kein Sediment zu sehen war.

Zunächst wurden die einfachen Lösungen mit Menschenpräzipitinserum und mit Menschenerythropräzipitinserum geprüft.

	mit Serumpräzipitin		mit Erythropräzipitin	
	20 Min.	18 Std.	20 Min.	18 Std.
in Menschenblut	= deutlich	Sediment	stark	starkes Sediment
„ Ziegenblut	= —	—	—	—
„ Rinderblut	= —	—	—	—
„ Sperma	= deutlich	Sediment	—	—
„ Sputum	= deutlich	Sediment	—	—
„ Eryextrakt 1 : 100	= —	—	in M-S 1 : 100	—

Sodann wurden verschiedene Mischungen aus diesen Lösungen hergestellt und auch diese mit dem Serumpräzipitin und mit dem Erythropräzipitin geprüft.

	mit Serumpräzipitin	
	20 Min.	18 Std.
in Sperma + Rind	= deutlich	starkes Sediment
„ Sperma + Ziege	= deutlich	starkes Sediment
„ Sputum + Rind	= deutlich	Sediment
„ Sputum + Ziege	= deutlich	Sediment
„ Sperma + Menschenblut	= deutlich	starkes Sediment
„ Sputum + Menschenblut	= deutlich	starkes Sediment

	mit Erythropräzipitin	
	20 Min.	18 Std.
in Sperma + Rind	= —	—
„ Sperma + Ziege	= —	—
„ Sputum + Rind	= —	—
„ Sputum + Ziege	= —	—
„ Sperma + Menschenblut	= stark	starkes Sediment
„ Sputum + Menschenblut	= stark	starkes Sediment

Das spezifischere Erythropräzipitin gibt überall exaktere Auskunft. Unsere Bemühungen sollen jetzt weiterhin darauf gerichtet sein, die Wertigkeit möglichst hoch zu treiben, damit auch geringe Blutspuren der Untersuchung zugänglich werden.

Ein gewisser Vorteil liegt ja bei der Erythropräzipitinmethode darin, daß das ganze Material der Spur, der ganze Extrakt derselben zur Probe

benutzt werden kann, während wir bei der Serumpräzipitinmethode einen Teil desselben zum Nachweis des Blutfarbstoffes verwenden müssen.

Das beste Erythropräzipitin gab bisher ein Tier (g), welches mit 5 Injektionen zu je 20 ccm intraperitoneal vorbehandelt war. Indes zeigt die Erfahrung mit den letzten Tieren, daß auch hier, wie bei der Serumpräzipitinbereitung die seltenere intravenöse Behandlung mit geringeren Extraktmengen in bezug auf Schnelligkeit der Antikörperbildung der intraperitonealen überlegen ist. Bei den weiteren Versuchen soll daher diese Art der Einverleibung, die Extrakt spart, und, falls derselbe steril ist, das Tier ebensowenig angreift wie die intraperitoneale Injektion, bevorzugt werden.

Literatur.

- Ascoli, München. med. Wochenschr. Jahrg. 34. 1902.
 Batelli, Fol. haematol. Vol. 2. 1905.
 Biondi, Viertelj. f. gerichtl. Med. Bd. 32. 1902.
 Bordet, Ann. Institut. Pasteur. 1899, 1900.
 Centanni, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
 Dehne, München. med. Wochenschr. 1907. No. 8; Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 29.
 v. Dungern, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903; München. med. Wochenschr. 1899. No. 13; Die Antikörper. 1903.
 Eisenberg, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902.
 Eisenberg und Volk, Wien. klin. Wochenschr. 1901; Zeitschr. f. Hyg. 1902.
 Ford and Halsey, Fol. haematol. 1904.
 Forssner, München. med. Wochenschr. 1905. No. 19.
 Friedemann, Arch. f. Hyg. Bd. 69. 1909.
 Grund, München. med. Wochenschr. 1906; Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1906.
 Halban und Landsteiner, München. med. Wochenschr. 1902. No. 12; Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.
 Hamburger, Dtsch. med. Wochenschr. 1905. No. 6; Fol. haematol. 1905; Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 49; Biochem. Centralbl. Bd. 4.
 Ide, Bull. de l'Acad. de Belg. 1903.
 Kister und Weichardt, Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1902.
 Kister und Wolff, Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1902; Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 41. 1902.
 Klein, A., Wien. klin. Rundsch. 1904. No. 24; Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905; Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 41.
 Leblanc, La Cellule. T. 18. 1901.
 Leers, O., Methoden und Technik der Gewinnung, Prüfung und Konservierung forensischen Antiserums, Berlin (R. Schoetz) 1908, sowie: Die forensische Blutuntersuchung, Berlin (Jul. Springer) 1910.
 Levene, Fol. haematol. Vol. 2. 1905.
 Liepmann, Dtsch. med. Wochenschr. 1902. No. 51, 1903. No. 5.
 Maragliano, Berlin. klin. Wochenschr. 1904. No. 27.
 Michaelis, L., Hofmeisters Beitr. Bd. 5. 1903; Biochem. Centralbl. Bd. 3. 1905; Dtsch. med. Wochenschr. 1902. No. 41; Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 56. 1905.
 Moll, Hofmeisters Beitr. Bd. 5. 1903.
 Nagelschmidt, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
 Nolf, Ann. Institut. Pasteur. T. 14. 1900.
 Nuttall, Brit. med. Journ. 1901, 1902; Journ. of Hyg. Vol. 4. 1904; Blood Immunity etc. Cambridge 1904.
 Pfeiffer, H., Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 24.
 Pick, Hofmeisters Beitr. Bd. 1.
 Rickmann, Arb. a. d. Inst. f. experim. Therap. 3. Frankfurt a. M. 1907.
 Rostoski, München. med. Wochenschr. 1902.
 Sachs und Bauer, Arb. a. d. Inst. f. experim. Therap. Frankfurt a. M. 1907.
 Schütze, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36, 38. 1901.
 Schur, Handb. von Kollie u. Wassermann. 1904.
 Stewart, Amer. Journ. of Physiol. Vol. 11. p. 250.
 Uhlenhut, Verhandl. d. 77. Naturf.-Vers. Meran 1905.
 Uhlenhut und Beumer, Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1903.
 Wassermann und Schütze, Dtsch. med. Wochenschr. 1900. No. 30; 1903. No. 11.
 Weichardt, Hyg. Rundsch. 1903. No. 15; Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 1905.
 Ziemke, Dtsch. med. Wochenschr. 1901. No. 42.

Nachdruck verboten.

Zur Färbung von Feuchtpräparaten und Schnitten mit der Azureosinmethode.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg
(Leiter: Medizinalrat Prof. Dr. Nocht).]

Von G. Giemsa.

Mit 2 Tafeln.

Vor einiger Zeit konnte ich an anderer Stelle (Dtsch. med. Wochenschr. 1909. No. 40 u. 1910. No. 12) berichten, daß es mir gelungen ist, meine Azureosinmethode, die bislang nur für die Färbung von Trocken- ausstrichen bestimmt war, durch geeignete Modifikationen auch der Herstellung von Feuchtpräparaten und Schnitten nutzbar zu machen.

Die Vorteile, welche diese Feuchtpräparate gegenüber den trockenen bieten, liegen hauptsächlich darin, daß bei jenen die im Leben vorhandene Form der Protozoen und sonstiger kernhaltiger Zellen besser erhalten bleibt, und daß uns infolge einer ausgeprägteren Differenzierung verschiedener Zellbestandteile ein tieferer Einblick in den inneren Aufbau der betreffenden Mikroorganismen ermöglicht wird. Die Kenntnis dieser feineren Strukturverhältnisse ist aber nicht allein von Bedeutung für das Studium gewisser, für die Biologie der Einzelligen wichtigen Vorgänge innerhalb der Zelle, sondern bildet bisweilen auch das einzige Mittel, um bestimmte pathogene Arten der betreffenden Mikroorganismen (z. B. bei den Amöben) mit Sicherheit von solchen harmloser Natur unterscheiden zu können.

Zweck meiner kurzen Mitteilung ist, die Unterschiede, welche so hergestellte Trocken- bzw. Feuchtpräparate bei einem Material gleicher Herkunft aufweisen, an der Hand einiger Bilder zu veranschaulichen.

Bei den Feuchtpräparaten fallen besonders die feineren Details im Kern auf, deren Darstellung mit Hilfe des Trockenverfahrens bekanntlich nicht gelingt. Sowohl bei den Trypanosomen wie Halteridien imponiert im Hauptkern ein deutlich blaugefärbtes, größtenteils aus Plastinsubstanz bestehendes, bei Fig. 8 (Taf. I) in Mitose befindliches Karyosom, welches in eine mit roten Chromatinkörpern durchsetzte Kernmembran eingebettet und von dieser durch eine mehr oder weniger breite, von radiär gestellten Linienwaben (Taf. I, Fig. 3 u. 4) durchsetzte Kernsaftzone getrennt ist. Beim Amöben-Trockenpräparat (Fig. 9, Taf. I) ist das Karyosom im Zentrum des plattgedrückten rotgefärbten Hauptkernes nur hauchartig angedeutet, während es bei den Feuchtpräparaten (Fig. 10—12) sehr scharf als ein zweiter dunkelblauer Kern hervortritt. Auch die chromatischen Bestandteile der Kernsaftzone kommen hier deutlich zum Vorschein. Hervorzuheben ist auch in den feucht fixierten Präparaten die scharfe Trennung zwischen Ento- und Ektoplasma bei kriechenden Amöben. Diese präsentiert sich in Form einer violett gefärbten, nicht persistenten Niederschlagsmembran, die bei jeder neuen Pseudopodienbildung durch die zentrifugale Körnchenströmung durchbrochen wird. Instrukтив sind auch manche Strukturen im Blepharoplastenkern, so z. B. bei den Halteridienflagellaten (Taf. I, Fig. 3 u. 4). Dort kann man trotz der nur mäßigen Vergrößerung deutlich eine Differenzierung in eine Art Kernplatte und eine trichterförmige Verbindung mit der verdickten Geißelwurzel (Basalkorn) unterscheiden, Einzelheiten, die natürlich bei stärkerer Vergrößerung noch deutlicher zum Vorschein kommen.

Ich möchte nicht unterlassen, die Aufmerksamkeit auch auf die in Fig. 12 (Taf. I) enthaltenen Bakterien zu lenken, die gleichfalls eine sehr beachtenswerte Differenzierung zeigen. Insbesondere bemerkt man bei manchen Bakterien terminal von der fertigen Spore befindliche Chromatinsubstanzen, die man vielleicht als somatische, bei der Sporenbildung ausgestoßene Kernbestandteile deuten könnte. Zweifelsohne weisen diese Resultate auf die Brauchbarkeit der Feuchtmethode für morphologische Studien bei Bakterien hin.

Die beiden der Tafel beigegebenen Bilder von Schnitten (ein Trypanosomen- und ein Trachomschnitt) legen schließlich Zeugnis davon ab, daß die Färbung mit ihrer panoptischen Wirkung auch nach dieser Richtung hin Vorteilhaftes leistet. Im Trachomschnitt (Taf. II, Fig. 1) färben sich die von Lindner beschriebenen Initialkörperchen rot bzw. blaurot, die kleinsten Elementarkörnchen (Prowazek-Halberstaedter) rot. In dem auf diesem Bilde mit *a* bezeichneten Einschluß findet man in dem großen Haufen von Elementarkörnchen größere rote Gebilde, die vielleicht genetisch mit den ersteren im Zusammenhang stehen.

Zum Schlusse möchte ich noch darauf hinweisen, daß ich diese neuen Methoden auch bei den verschiedensten anderen Protozoen, wie Ciliaten, Coccidien, Spirochäten (*Recurrentis*, *Sp. Balbianii*) mit bestem Erfolg angewendet habe.

Figurenerklärung.

Tafel I.

Fig. 1—4. Ausstriche von Eulenthaleridienkulturen, gezüchtet auf Novy-Agar. (Fig. 1 u. 2 Trocken-, Fig. 3 u. 4 Feuchtpräparate.)

Fig. 5—8. Lewisitrypanosomen. Blutausstriche aus Ratte. (Fig. 5 u. 6 Trocken-, Fig. 7 u. 8 Feuchtpräparate.)

Fig. 9—12. Ausstriche einer auf Fucus gezüchteten Wasseramöbe (*Limaxart*). (Fig. 9 Trocken-, Fig. 10—12 Feuchtpräparate.)

Tafel II.

Fig. 1. Trachomschnitt durch ein Follikel. Einschlüsse in Epithelzellen, freie Elementarkörnchen; bei *a* im Einschluß größere rote Gebilde. Schnitt ist um $\frac{1}{2}$ verkleinert.

Fig. 2. Schnitt durch Lunge einer Nagana-Trypanosomen-Maus. Der Schnitt ist um die Hälfte verkleinert.

Anm. Die Feuchtpräparate und Schnitte wurden mit Sublimatalkohol nach Schaudinn, die Trockenausstriche mit Alcohol abs. fixiert.

Sämtliche Figuren sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat hergestellt unter Benutzung eines Zeiss-Mikroskopes, homog. Immers. 2 mm, Kompens.-Okular 8, gezeichnet in Objektischhöhe.

Nachdruck verboten.

Ueber die Isolierung des Cholera-vibrio¹⁾.

[Aus dem mikrographischen und bakteriologischen Laboratorium des öffentlichen Gesundheitsamtes (Vorstand: Prof. B. Gosio).]

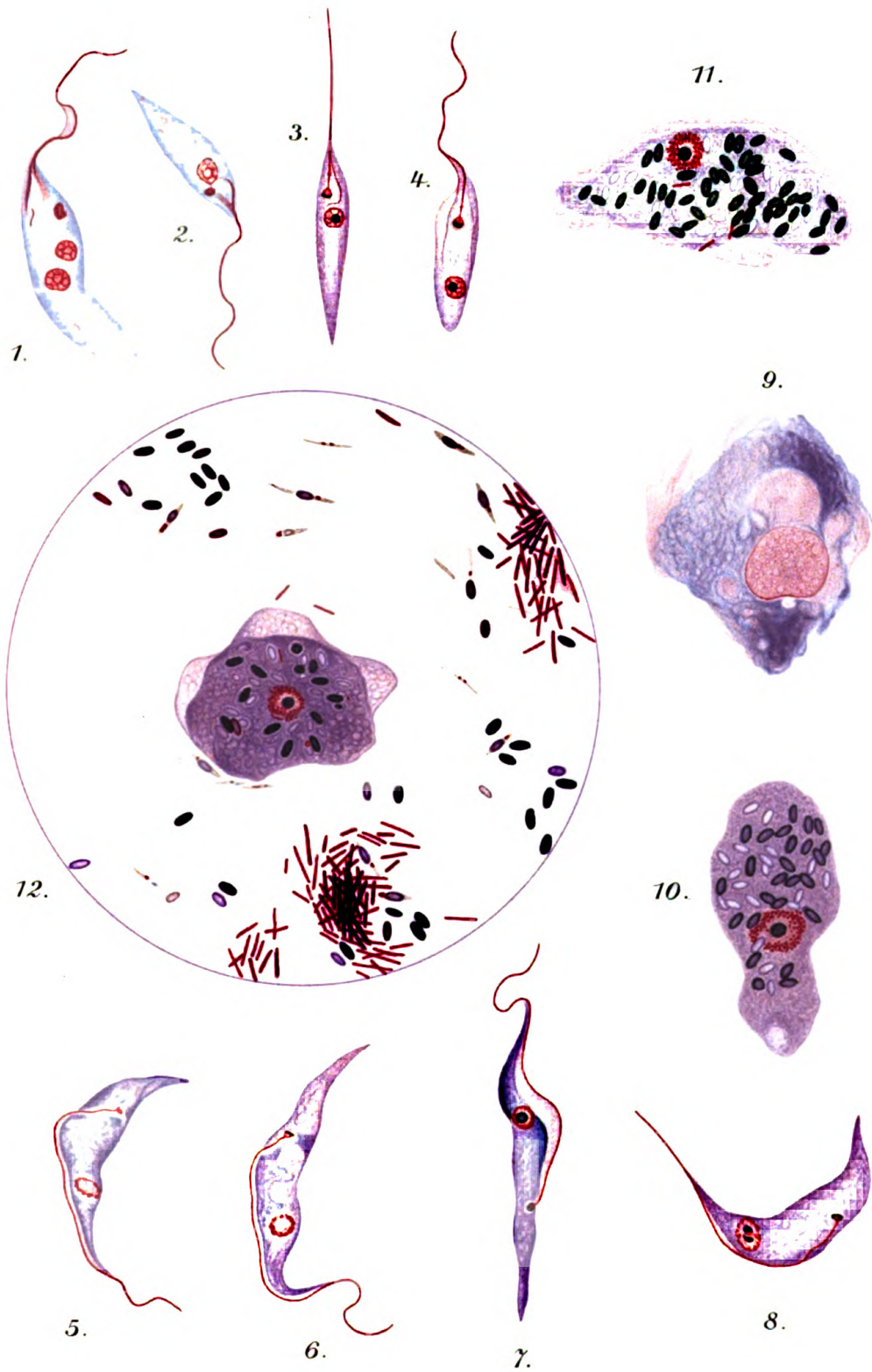
Von Dr. M. Pergola, Assistenten.

Dieudonné²⁾ hat kürzlich für die Isolierung der Cholera-vibrien aus den Faeces folgenden Nährboden vorgeschlagen:

Man bereitet eine alkalische Blutlösung dadurch, daß man defibriertes Ochsenblut mit normaler Aetzkalilösung zu gleichen Teilen mischt

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl-Turin.

2) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 50.

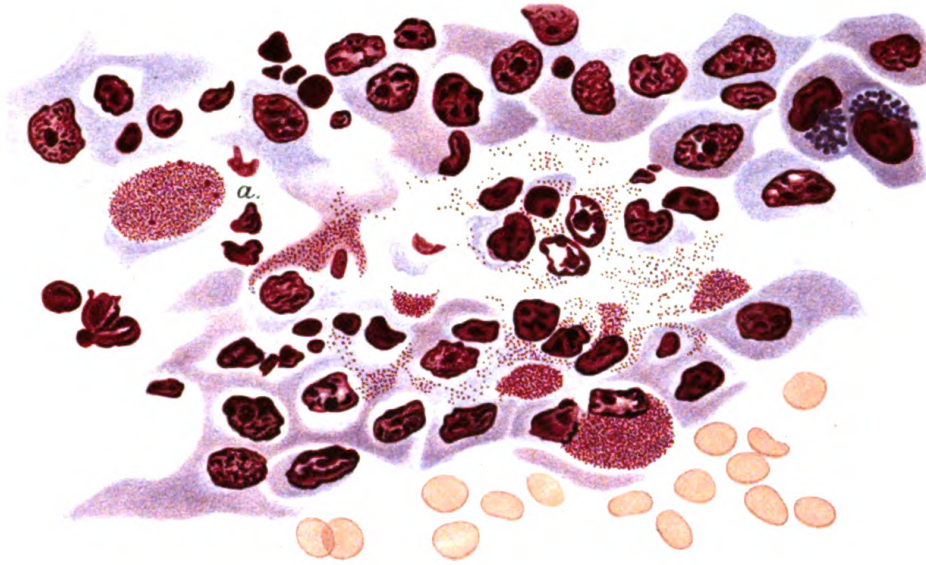


H. Sikora pinx.

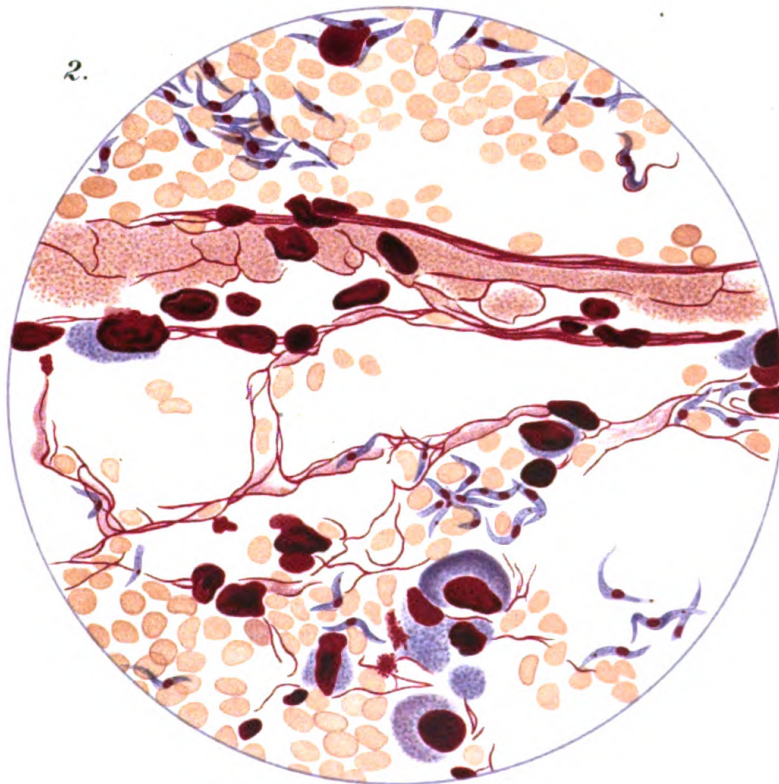
Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. E. A. F. inke, Leipzig.

1.



2.



H. Sikora p. 100.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Leipzig, A. 1906, No. 10

und dieses Gemisch im Kochschen Topf sterilisiert. Zu gleicher Zeit bereitet man in der üblichen Weise Agar, der aber auf Lackmus neutral reagieren muß. Wenn man 70 Teile dieses Agars mit 30 Teilen der oben angegebenen Blutlösung mischt, so erhält man einen Nährboden, in welchem die Cholera-vibrionen sich ausgezeichnet entwickeln, während der Colibacillus sich gar nicht oder nur schwach entwickelt.

Huntemüller¹⁾ hat die Zweckmäßigkeit dieses Agarbodens bestätigt und erklärt, daß er einen bedeutenden Fortschritt auf dem Gebiete der bakteriologischen Diagnostik der Cholera darstellt.

Aus den Berichten von Dieudonné und von Huntemüller läßt sich mit Sicherheit schließen, daß der vorgeschlagene Nährboden gewisse Vorteile gegenüber den bisher angewendeten darbietet. Da aber die Resultate der Versuche einen um so größeren Wert gewinnen, je mehr sie bestätigt werden, so erschien es mir nicht überflüssig, mich auch mit diesem Gegenstand zu beschäftigen und die Untersuchungen über denselben auszudehnen und im folgenden meine Resultate zu veröffentlichen:

Der Hauptbestandteil des Dieudonnéschen Nährbodens besteht in der alkalischen Blutlösung, welche ich nach den Angaben dieses Autors und Huntemüllers folgendermaßen herstelle und anwende: In einem sterilen Gefäß mit Glasperlen sammle ich unter der strengsten Asepsis Ochsenblut und defibriere es. Dem defibrierten Blut setze ich die gleiche Menge normaler Aetzkali-Lösung zu, mische das Ganze gründlich und sterilisiere es $\frac{1}{2}$ Stunde im Kochschen Kochtopf. Die auf diesem Wege hergestellte dunkelbraune, klare Flüssigkeit kann sowohl bei niedriger wie bei Zimmertemperatur, auch im Sommer, lange aufbewahrt werden. Im Augenblick der Anlegung der Platten mische ich 3 ccm dieser Blutlösung mit 7 ccm geschmolzenen, in der üblichen Weise bereiteten, aber gegen Lackmus neutral reagierenden Agars. Wenn der Agar erstarrt ist, lasse ich die Platten $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60—65° C. So sind sie bereit, um etwa 24 Stunden nach ihrer Herstellung beimpft zu werden.

Da ich nicht über Faeces von Cholera-kranken für meine Versuche verfügen konnte, habe ich nicht-cholera Stühle künstlich mit Cholera infiziert. Zu diesem Zweck habe ich diarrhoische, breiige und geformte Faeces genommen, die von verschiedenartigen Kranken herstammten und bei jedem Versuch eine andere Herkunft hatten. Zu 50—60 g dieses Materials wurden eine kleine Menge einer 24 Stunden alten Cholera-bouillonkultur zugesetzt; danach wurde das Ganze vermittelst eines am unteren Ende rechtwinklig gebogenen Glasstäbchens gründlich durchgerührt, um eine gleichmäßige Verteilung der Keime zu bewirken. Eine kleine Menge dieses Materials wurde entweder unverändert, wenn die Stühle flüssig oder breiig waren, oder zuweilen — um eine bessere Verteilung auf dem Nährboden zu erzielen — etwas verdünnt, wenn man es mit geformtem Kot zu tun hatte, auf die Oberfläche der Agarplatte gebracht. Zu gleicher Zeit habe ich Kontrollplatten mit gewöhnlichem Agar angelegt.

Nach 15—20-stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° C zeigen die einfachen Agarplatten einen kontinuierlichen Bakterienbelag, während die Blutalkaliagarplatten isolierte Kolonien zeigen, die größtenteils auf Cholera-vibrionen zurückzuführen sind. Diese Kolonien sind ziemlich groß, rund und schon makroskopisch deutlich sichtbar; unter besonders günstigen Beleuchtungsverhältnissen erscheinen sie glänzend und treten mit ihrer graulichen Farbe auf dem dunklen Substrat deutlich hervor;

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 50.

dieses zeigt sowohl an den Stellen, wo sich die Kolonien befinden, als auch in deren Umgebung keine Veränderungen. Wenn der Agar in einer nicht übermäßig dicken Schicht ausgebreitet ist, kann man auch die Platte mikroskopisch untersuchen und beobachten, wie auf dem mehr oder minder dunklen ockergelben Grunde die Charaktere der Kolonien, die zum größten Teil von Choleravibrionen gebildet sind, deutlich hervortreten. Diese haben ein zartes Aussehen, eine hellgelblich-graue Farbe — der gelbe Ton ist auf das Substrat zurückzuführen — und eine runde Form; im Zentrum sind sie nur wenig dicker und mehr gefärbt als an der Peripherie; ihre Ränder sind ziemlich regelmäßig und scharf; sie sind feinkörnig und erinnern an das bekannte Aussehen eines Häufchens zerstoßenen Glases. In ihrer Gesamtheit haben sie also ein charakteristisches Aussehen, so daß es genügt, sie einmal gesehen zu haben, um sie von eventuell auf derselben Platte entwickelten Kolonien anderer Keime leicht unterscheiden zu können.

Wenn man die Keime reinzüchten will, genügt es oft schon, daß man die Kolonien, aus denen die Isolierung geschehen soll, auf Grund ihrer makroskopischen Charaktere auswählt, um einen hohen Prozentsatz positiver Resultate zu erzielen. Mit anderen Worten: Wenn man mit dem Material aus einer und derselben Platte eine gewisse Anzahl von Röhrcn mit Bouillon, Peptonwasser usw. beimpft, so entwickelt sich in der Mehrzahl derselben der Choleravibrio.

Aus meinen Versuchen hat sich ergeben, daß es, um zu vermeiden, daß das Nährsubstrat, wenn man die Faeces darüber streicht, zerreißt und somit eine gleichmäßige Verteilung des Materials dadurch vereitelt wird, zweckmäßig ist, statt des 1—2-proz. Agars, wie man es gewöhnlich anwendet, 3- und auch 4-proz. zu brauchen.

Anstatt die Alkaliblutlösung und den geschmolzenen Agar getrennt in die Petrischalen zu gießen, kann man bei der Herstellung des Substrates ein Verfahren benutzen, bei welchem man die Mischung schon vorher bereitet, so daß man im Augenblick, wo man die Platten braucht, nur bereits vorrätige Gemische zu schmelzen und in die Glasschalen zu gießen hat.

In diesem Falle bereitet man den Agar, neutralisiert ihn auf Lackmus, sterilisiert ihn, setzt die sterile alkalische Blutlösung hinzu und verteilt das Ganze auf sterilisierte Reagensgläschen; oder man kann auch den Agar bereiten, demselben die alkalische Blutlösung — ohne sie vorher zu sterilisieren — zusetzen, das Ganze auf Reagensröhrcn verteilen und diese unter dem Druck von 1 Atmosphäre oder besser bei 100° C sterilisieren.

Bei diesen beiden Verfahren entsteht aber ein Bodensatz, welcher im zweiten Fall reichlicher ist als im ersten. Wenn man denselben mit dem Alkaliblutagar in die Petrischalen gießt, so ergibt sich der Uebelstand, daß nachher die mikroskopische Untersuchung der Kolonien erschwert ist. Diesen Uebelstand kann man aber dadurch vermeiden, daß man bei der Verteilung des Nährsubstrates auf die Reagensgläschen diese so weit füllt, daß man nachher bei der Herstellung der Platten, um den Boden der Schalen zu bedecken, nicht den letzten unteren, den amorphen Detritus enthaltenden Teil aus den Röhrcn zu gießen braucht, d. h. nur den oberen klaren Teil in die Schalen zu gießen hat.

Man kann den Agar auch noch nach einem weiteren Verfahren herstellen: Man löst in der Bouillon 4 Proz. Agar, neutralisiert die Lösung ohne zu filtrieren, setzt das Blutalkali zu, bringt das Ganze in den Kochschen Topf bei 100° C, filtriert, wenn sich der Bodensatz gebildet hat, durch ein steriles Filter (oder auch durch einen Wattebausch) und

gießt es entweder in die Petrischen Glasschalen oder, wenn man es aufbewahren will, in sterile Glasröhrchen. Es ist zweckmäßig, ein steriles Filter anzuwenden, um nicht von neuem sterilisieren zu müssen, da hierdurch das Nährsubstrat etwas weicher werden würde, ohne jedoch seine Anwendbarkeit einzubüßen.

Im praktischen Fall kann man auch, da die Platten, wenn sie einmal hergestellt sind, sich ganz gut mehrere Tage halten, falls man außerhalb des Laboratoriums einen choleraverdächtigen Fall zu diagnostizieren hat, die vorbereiteten Platten steril verpackt mitnehmen oder schicken und dann ohne weiteres zur Anlegung von Kulturen verwenden.

Außer mit Faeces habe ich auch Versuche angestellt mit Reinkulturen der Keime, welche man, besonders unter pathologischen Verhältnissen, in den Faeces am häufigsten vorfindet und somit zusammen mit Cholera-vibrionen auch Typhusbacillen, Colibacillen, Paratyphusbacillen des Typus B, Gärtnersche Enteritidisbacillen und Proteus dem Versuch unterworfen. Während nun der Cholera-vibrio schon innerhalb 15 Stunden sehr gut entwickelte Kolonien liefert, welche die gewöhnlichen typischen Charaktere aufweisen, entwickeln sich die übrigen Keime, mit Ausnahme des Proteus, schwieriger und langsamer, und ihre Kolonien sind von denjenigen der Cholera verschieden. Der Proteus vulgaris hat die Neigung, sich wie der Cholera-vibrio zu verhalten, und es ist nicht ausgeschlossen, daß auch andere Keime ähnliche Resultate geben.

Von den nicht choleraerregenden Vibrionen habe ich den Vibrio von Finkler und Prior, den Vibrio von Massaua, den Vibrio von Metschnikoff, den Vibrio danubicus und einen anderen choleraähnlichen Vibrio untersucht. Diese Keime bilden, mit Ausnahme des Vibrio danubicus, der sich sehr langsam entwickelt, Kolonien, die denjenigen der Cholera-vibrionen makroskopisch sehr ähnlich sind und sich mit derselben Geschwindigkeit entwickeln wie diese.

Man kann also, ohne dem in Frage stehenden Nährsubstrat den ihm zukommenden Wert absprechen zu wollen, behaupten, daß es nicht spezifisch für den Kochschen Vibrio ist.

Nachdem ich diese Beobachtungen gemacht hatte, habe ich untersuchen wollen, ob dieselbe Blutalkalilösung auch als Zusatz zur Gelatine günstig wirkt.

Wenn wir die gegen Lackmus neutrale Gelatine in der üblichen Konzentration von 15 Proz. herstellen und sie dann mit dem Blutalkali verdünnen, wird sie zu weich. Diesem Uebelstand kann man aber leicht dadurch vorbeugen, daß man eine größere Menge Gelatine anwendet und in je 70 ccm Bouillon 15—20—30 g Gelatine löst. Wenn man dann die Blutalkalilösung im Verhältnis 30:70 zusetzt, so erhält man einen genügend festen Nährboden, welcher es erlaubt, die Kulturen bei 20 bis 22° C zu halten.

Die Platten stellt man in der Weise her, daß man die Blutalkalilösung und die bei 40—50° C geschmolzene Gelatine getrennt in die Petrischalen gießt; die Platten zeigen dann eine trockene Oberfläche und sind 24 Stunden nach ihrer Herstellung gebrauchsfertig.

Meine Versuche haben nun ergeben, daß der Zusatz von Blutalkali auch auf die Gelatine günstig wirkt, da sich diese gegen die Bakterien in derselben Weise verhält wie der Agar, d. h. eine ziemlich rasche Entwicklung der Cholera-vibrionen gestattet, dagegen die Entwicklung anderer Keime hemmt. Wenn man in der gewöhnlichen Weise mit einem Glasstäbchen eine kleine Menge cholerafreier Faeces auf den Platten ausbreitet und diese bei 18—20° C hält, beobachtet man während der

ersten 48 Stunden nach der Aussaat keine Bakterienentwicklung oder nur ganz vereinzelt Kolonien; wenn dagegen die Faeces künstlich mit Choleravibrionen infiziert worden sind, zeigen die besäten Platten nach 30 oder höchstens 48 Stunden an einigen Stellen ein siebartiges Aussehen, welches in den meisten Fällen dadurch hervorgerufen ist, daß durch die Verflüssigung der Gelatine von seiten der Cholerakolonien kleine Grübchen entstanden sind.

Es hat in diesem Augenblick keinen Zweck, eine mikroskopische Untersuchung vorzunehmen, da das makroskopisch wahrnehmbare Zeichen der Verflüssigung schon genügend darauf hinweist, aus welchen Kolonien man die Isolierung vornehmen muß. Wenn man dagegen die Platten nach 16—18 Stunden untersucht, erscheinen die Cholerakolonien auf dem Wege der Entwicklung und weisen hierbei dieselben Charaktere auf wie in gewöhnlichen Gelatinekulturen.

Die choleraähnlichen Vibrionen verhalten sich, mit Ausnahme des *Vibrio danubicus*, der sich viel langsamer entwickelt wie der Choleravibrio. Die Blutalkaligelatine stellt also, ebenso wie das entsprechende Agar, keinen für die Choleravibrionen spezifischen Nährboden dar, hat aber vor dem Agar den Vorteil, daß es ein makroskopisch leicht wahrnehmbares Zeichen, nämlich die Verflüssigung, darbietet, durch welches man ohne weiteres die Cholerakolonien von denjenigen zahlreicher anderer Keime unterscheiden kann, welche sich eventuell neben den Choleravibrionen entwickeln können, aber die Gelatine nicht verflüssigen.

Die Gelatineplatten kann man, wenn sie einmal hergestellt sind, mehrere Tage aufbewahren; man kann sie deshalb, ebensogut wie die Agarplatten, gebrauchsfertig bei sich führen oder schicken, wenn sie außerhalb des Laboratoriums gebraucht werden sollen.

Auch die Gelatine kann man so herstellen, daß man sie im Augenblick, wo man die Platten nötig hat, nur zu schmelzen und in die Gläser zu gießen hat. In diesem Fall geht man folgendermaßen vor: Man stellt die neutrale Gelatine her und, statt sie zu sterilisieren, nachdem man sie auf die Glasröhren verteilt hat, sterilisiert man sie in Erlenmeyerschen Kolben. Nach der letzten Sterilisierung läßt man die Gelatine bis auf 40° C abkühlen und fügt dann auf je 70 ccm Gelatine 30 ccm der bereits steril gemachten Blutalkalilösung hinzu; man verrührt das Ganze gründlich und verteilt es auf sterile Röhren.

Bei jedem anderen Verfahren erstarrt die Gelatine schwer und erfordert, um fest zu bleiben, eine viel niedrigere Temperatur, als sie zweckmäßig ist, um eine genügend rasche Entwicklung der Keime zu gestatten; ja es kann sogar vorkommen, daß sie, wenn sie nach dem Zusatz von Blutalkalilösung noch sterilisiert werden muß, schon bei 18—20° C dauernd flüssig bleibt.

Die bis jetzt angeführten Untersuchungen beziehen sich auf die Isolierung des Choleravibrio aus den Faeces. Um eine weitere Prüfung der in Frage stehenden Nährsubstrate auszuführen, habe ich auch die Isolierung aus dem Trink- resp. Leitungswasser in den Bereich meiner Versuche gezogen.

In erster Linie habe ich beobachtet, daß, wenn man auf Blutalkalagar oder Blutalkaligelatine Kulturen mit Wasser anlegt, welches die gewöhnlichen verflüssigenden und nicht verflüssigenden Wasserkeime auch in reichlichem Maße enthält, die Platten mehrere Tage hindurch steril blieben (= keine Entwicklung von Kolonien zeigten [K. R.]). Es lag demzufolge die Annahme nahe, daß, falls das Wasser Cholera-

vibrionen enthielt, diese mit einer gewissen Leichtigkeit durch das in Prüfung stehende Kulturverfahren nachzuweisen seien. Und der Versuch hat diese Annahme bestätigt: Wenn man das Wasser mit einer spärlichen Menge von Cholera-vibrionen und großen Mengen von Typhus-bacillen, Coli-bacillen, Paratyphus B-Bacillen und Gärtner'schen Enteritidis-bacillen infiziert und es dann durch Zusatz der notwendigen Lösungen in eine 1-proz. Pepton-Kochsalzlösung umwandelt, kann man nach einer passenden Entwicklungszeit Strichkulturen auf Blutalkaliagar- und Blutalkaligelatineplatten anlegen und den Cholera-vibrio leicht isolieren. Es ist unnütz, wenn nicht geradezu schädlich, dem zu untersuchenden Wasser von der Blutalkalilösung beizumengen.

Ich habe auch versucht, den Cholera-vibrio direkt aus dem Wasser zu isolieren und zu dem Zweck ein Fällungsverfahren angewendet, welches bei der Isolierung des Typhus-bacillus ausgezeichnete Dienste leistet, ich meine das Fickersche von Müller¹⁾ modifizierte Verfahren, bei welchem Soda und Eisensulfat benutzt wird. Aus dem auf gewöhnlichem Filtrierpapier gesammelten Niederschlag legt man Strichkulturen auf Blutalkaliagar und Blutalkaligelatine an, aus welchen man den Cholera-vibrio dann leicht isolieren kann. Sollte man eine begründete Vermutung haben, daß der Keim im Wasser in sehr geringer Menge enthalten ist, dann wäre es zweckmäßig, aus dem Präzipitat Anreicherungskulturen in Bouillon oder Peptonwasser oder noch besser in flüssiger Blutalkaligelatine, wie ich später angeben werde, anzulegen und von hier aus auf Blutalkaliagar- oder Blutalkaligelatineplatten abzuimpfen.

Ich habe das Blutalkali auch mit Nährbouillon und mit gegen Lackmus-neutralem Peptonwasser geprüft, aber beobachtet, daß diese flüssigen Nährsubstrate, wie Dieudonné bereits angegeben hat, keine besonders guten Dienste leisten. Der Cholera-vibrio bildet nur in einzelnen Fällen das charakteristische Häutchen an der Oberfläche, während die anderen Keime, wenn auch einige etwas langsam, sich auch entwickeln.

Ich wollte diese flüssigen Nährböden zur Anlegung von Anreicherungskulturen benutzen, falls das cholera-verdächtige Material, z. B. die Faeces, so wenige Vibrionen enthalten hätte, daß eine Untersuchung durch direkte Abimpfung auf Platten negativ ausgefallen wäre.

Da nun diese Nährsubstrate meiner Erwartung nicht entsprachen, habe ich mich bemüht, die Frage auf anderem Wege zu lösen.

Bezüglich der Gelatine habe ich beobachtet, daß dieselbe, wenn ihr die Blutalkalilösung vor der Sterilisation zugesetzt wird, infolge der Erwärmung auf 100° C oft nicht mehr erstarrt. Ich habe aber auch beobachtet, daß die Kulturen in auf diese Weise hergestellter und schon an und für sich flüssiger Gelatine oder in für sich fester, aber dann geschmolzener und mit Blutalkali versetzter Gelatine bei 15—20-stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° C — bei welcher Temperatur die Gelatine flüssig bleibt — als Anreicherungskulturen sehr gute Dienste leisten: während dieser Zeit entwickelt sich der Typhus-bacillus, der Coli-bacillus, der Paratyphus-bacillus und der Gärtner'sche Enteritidis-bacillus entweder gar nicht oder nur in sehr beschränktem Maße, während der Cholera-vibrio sich ziemlich üppig entwickelt. Wenn man nun aus diesen Kulturen Blutalkaliagar- und Blutalkaligelatineplatten anlegt, so erzielt man die Isolierung des Koch'schen Vibrio sicher. Dieses Verfahren erscheint somit empfehlenswert, da es gestattet, den Cholera-vibrio, auch wenn er in sehr geringer Zahl vertreten ist, mit großer Wahrscheinlichkeit und Leichtigkeit im verdächtigen Material nachzuweisen.

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 51. 1905.

Welches aber auch das Verfahren ist, das man anwendet, so darf man selbstverständlich auch die anderen Maßnahmen nicht versäumen, welche den Erfolg bei den Untersuchungen erleichtern können, so z. B. im Falle der Faeces eine eventuelle Korrektur der zu alkalischen oder zu sauren Reaktion.

* * *

Die von mir untersuchten Nährsubstrate bieten, da sie erlauben, die Kulturen mit einer viel größeren Menge des verdächtigen Materials anzulegen, als bei anderen Nährmedien, und die Entwicklung des Cholera-vibrio befördern, während sie diejenigen der anderen Keime, die sich dem Cholera-vibrio am häufigsten beigesellen, hemmen, so deutlich hervortretende Vorteile, daß eine besondere Hervorhebung derselben überflüssig erscheint.

Ich habe keine Gelegenheit gehabt, mit Faeces Cholera-kranker Untersuchungen anzustellen; da aber diese Substrate so gute Resultate bei künstlich infiziertem Material geben, wüßte ich keinen Grund dafür zu finden, daß sie sich nicht auch bei natürlichem Material bewähren sollten, um so mehr als bei diesem die Menge der Vibrionen oft so groß ist, daß sich die Untersuchungsverhältnisse dadurch noch günstiger gestalten.

Deshalb kann man meines Erachtens aus den bis heute vorliegenden Untersuchungen schließen, daß es in allen Fällen, wo es sich um die Isolierung des Kochschen Vibrio handelt, empfehlenswert ist, an Stelle der gewöhnlichen Gelatine und des gewöhnlichen Agars dieselben mit Zusatz der Blutalkalilösung anzuwenden und nebenbei auch Anreicherungskulturen in derselben Gelatine bei 37° C anzulegen.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertigestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- | | |
|--|---|
| <p>Ahlfeld, F. und Bonhoff, Welche Bakterien kommen bei der Abnabelung und Nabelversorgung in Betracht? p. 423.</p> <p>Arst, L., Zur Kenntnis des Streptococcus mucosus und der von ihm verursachten Krankheitsformen, p. 394.</p> <p>Bertarelli, E. und Bocchia, J., Neue Untersuchungen über die Tuberkulose der Kaltblüter, p. 385.</p> <p>Dampf, Alfons, Ueber ein Cysticeroid aus einem Floh der Springmaus (<i>Alac-taga jaculus</i>), p. 452.</p> <p>Gaertner, A., Erwiderung auf vorstehenden Artikel des Herrn Skrzynski, p. 451.</p> <p>Giemsa, G., Zur Färbung von Feuchtpräparaten und Schnitten mit der Azur-eosinmethode, p. 489.</p> <p>Jessen, F. und Rabinowitsch, Lydia, Zur Frage der Löslichkeit von Tuberkelbacillen, p. 454.</p> | <p>Leers, Otto, Studien über die Spezifität der Serumpräzipitine und der Erythropräzipitine, p. 462.</p> <p>Pano, N., Ueber die bakteriziden, von einigen Milzbrandbacillen-Antagonisten-Mikroben ausziehbaren Substanzen, p. 457.</p> <p>Panichi, Luigi, Ueber den Gesamtstickstoff in der Kultur des Fränkelschen Pneumococcus, p. 412.</p> <p>Pergola, M., Untersuchungen über einen aus Wurstwaren isolierten, tierpathogenen Keim, p. 418.</p> <p>—, Ueber die Isolierung des Cholera-vibrio, p. 490.</p> <p>Schellhorn, Albin, Ueber Fütterungsversuche an Mäusen mit gesundem Fleisch, p. 428.</p> <p>Skrzynski, Z., Réponse au travail de Mr. Gaertner „Eine neue Katzensuche“, p. 451.</p> |
|--|---|

Erklärung.

Im April 1910.

Die unterzeichneten Verleger medizinischer Zeitschriften nehmen zu den von Herrn Professor Dr. Abderhalden veröffentlichten Plänen folgendermaßen Stellung:

- 1) Sie erkennen eine Vereinheitlichung und Vereinfachung des Referatenwesens als durchaus wünschenswert an.
- 2) Sie halten die Schaffung einer vollständigen Bibliographie der Medizin für verdienstvoll, indessen nur dann, wenn die Höhe der Kosten in keinem zu starken Mißverhältnis zu dem begrenzten Interessentenkreis steht, der sie benutzen würde.
- 3) Sie setzen zur Prüfung dieser Fragen, deren befriedigende Lösung gleichmäßig im Interesse der Wissenschaft wie des Verlagsbuchhandels liegt, in Gemeinschaft mit den Redakteuren ihrer medizinischen Zeitschriften eine Kommission ein, die zu erwägen hat, ob und in welcher Weise das erstrebte Ziel durch Verständigung zwischen den bestehenden Zeitschriften zu erreichen ist.
- 4) Sie halten eine Angliederung der geplanten Bibliographie der Medizin an die bestehende und bewährte Uhlwormsche internationale Bibliographie der Naturwissenschaften und der Medizin, die eventuell weiter auszugestalten sein würde, für erwünschter und schon aus finanziellen Gründen für praktisch aussichtsreicher, als eine Neugründung und werden sich deshalb mit dem Reichsamt des Innern in Verbindung setzen.
- 5) Sie halten die bisherigen Versuche zur Durchführung der Pläne für ungeeignet, da sie dazu angetan waren, Beunruhigung in die beteiligten Kreise zu tragen.

Johann Ambrosius Barth in Leipzig
W. Braumüller in Wien
Oscar Coblenz in Berlin
Fr. Cohen in Bonn
F. Deuticke in Wien
Wilhelm Engelmann in Leipzig
Ferd. Enke in Stuttgart
Gustav Fischer in Jena
Martin Hager in Bonn
August Hirschwald in Berlin
Kurt Kabitzsch in Würzburg
S. Karger in Berlin
Dr. W. Klinkhardt in Leipzig
B. Konegen in Leipzig

H. Lauppsche Buchhandlung in Tübingen
J. F. Lehmanns Verlag in München
Louis Marcus in Berlin
Carl Marhold in Halle a. S.
Georg Reimer in Berlin
Julius Springer in Berlin
Georg Thieme in Leipzig
Karl J. Trübner in Straßburg i. E.
Urban & Schwarzenberg in Berlin und Wien
Veit & Comp. in Leipzig
F. C. W. Vogel in Leipzig
Leopold Voß in Hamburg
Zitters Zeitungsverlag in Wien

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 54. Heft 6.

Nachdruck verboten.

Recherches sur les germes de l'air à la montagne. [Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Depuis le jour où Spallanzani, démontrait que sans poussières atmosphériques, il n'y a point de putréfaction, et depuis celui où Ehrenberg trouvait dans l'air des spores de cryptogames, les germes de l'air ont formé l'objet d'un grand nombre de travaux. Mais cette importante question, mérite toujours de nouvelles recherches, car c'est seulement de l'ensemble d'un grand nombre d'observations, qu'on pourra tirer des conclusions utiles pour l'hygiène. Les résultats de ces recherches, sont en effet extrêmement variables, suivant la technique employée, suivant les localités, les saisons, les conditions météorologiques, la présence ou l'absence de l'homme et des animaux. Toutes ces causes, nous permettent d'expliquer les contradictions apparentes, qu'on remarque en comparant entre eux plusieurs des travaux parus sur la question, et c'est seulement de leur ensemble, que nous pouvons nous rendre compte de la distribution des germes dans l'atmosphère.

Or cette étude acquiert toujours plus d'importance pour l'hygiène de l'homme et des animaux, pour l'agriculture et pour l'industrie, car à côté des germes sûrement pathogènes, qu'on rencontre surtout dans l'air des chambres, il y a des germes qui peuvent le devenir sous l'influence de différentes circonstances (p. ex. *B. subtilis*), des germes qui, comme *Act. chromogenes*, peuvent altérer profondément les plaques et les papiers photographiques¹⁾, d'autres qui comme certaines *Sarcines*, peuvent provoquer des maladies des bières ou comme les *Penicilliums*, altérer les substances alimentaires etc.

Au courant des années 1907—1908—1909, j'ai profité de mes courses de montagne, pour faire une série de recherches sur les germes de l'air. Mais pour avoir des points de comparaison, j'ai fait des recherches analogues, en employant la même technique, dans des chambres, des wagons, des villes et dans leur voisinage. La comparaison de ces 2 groupes d'observations, permettra beaucoup mieux de se rendre compte de la distribution des germes de l'air à la montagne.

La technique que j'ai suivie, est celle proposée par Koch en 1881²⁾, c'est-à-dire l'exposition à l'air pour un temps déterminé, d'une plaque de Petri contenant un milieu de culture solide. Cette technique a été ensuite employée, seule ou associée avec d'autres méthodes, par bien d'autres observateurs tels que Fischer³⁾, Petri⁴⁾, Ullmann⁵⁾, Welz⁶⁾, Condorelli⁷⁾, Concornotti⁸⁾, Minervini⁹⁾, Ekelöf¹⁰⁾ etc.

1) Galli-Valerio, B. et Reiss, F. A., Revue Suisse de photographie. 1903. Juillet.

2) Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 1. 1881.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 421.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1888. p. 1.

5) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 55.

6) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 121.

7) Cité par Welz.

8) Centralbl. f. Bakteriolog. Bd. 26. 1899. p. 492.

9) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 165.

10) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 344.

Si j'ai choisi cette technique, c'est qu'elle se prêtait le mieux, pour l'exécution des recherches dans des courses de montagne, où le transport d'appareils ad hoc, excepté dans les cas dans lesquels on va à la montagne exclusivement dans le but de faire des prises d'air, est impossible.

Pour les mêmes raisons de praticité, au lieu de la gélatine, j'ai employé l'agar 2%, qui me permettait de préparer les plaques avant le départ, plaques qu'on n'avait qu'à ouvrir et exposer à l'air, une fois arrivé sur les sommets. Je m'empresse de noter que ce procédé ne m'a jamais donné l'infection des plaques, au moment d'y verser l'agar. Des plaques ainsi préparées et non exposées à l'air sont, dans chaque cas dans lequel j'en ai fait l'expérience, restées absolument stériles. Pour tous ceux qui voudront faire des recherches analogues à la montagne, je conseillerai de préparer les plaques le soir avant le départ, en versant l'agar dans des plaques préalablement chauffées à la flamme. L'agar se fixe ainsi très bien au fond de la plaque, de la sorte que celle-ci peut être, le lendemain portée dans une position quelconque, sans que l'agar se détache ou se plisse. Si on prépare la plaque le matin, peu de temps avant le départ, on risque de voir l'agar se détacher et couler ou bien se plisser.

Toutes mes plaques, étaient stérilisées à l'étuve à sec, déjà enveloppées dans du papier, papier qui enveloppait aussi la plaque après qu'on y avait coulé l'agar et qui servait à recevoir le couvercle, pendant le temps d'exposition à l'air.

Les plaques de Petri employées, avaient toutes un diamètre intérieur de 7 cent. A la campagne ou à la montagne, elles étaient placées, pour être exposées à l'air, sur une planchette carrée de 9 cent. de côté, planchette portant un trou au milieu pour la fixer sur un piquet d'environ 50 cent. de haut. Aux 4 angles de la planchette, était planté un clou de 6 mill. de haut pour éviter qu'un coup de vent jette la plaque par terre. La plaque découverte, était alors exposée à l'air 1 heure. L'incubation se faisait pendant 10 jours à la température de la chambre. C'est au 10^{me} jour que le numérotage des colonies était pratiqué. Les plaques restées stériles, ont toujours été observées pendant un laps de temps de 20—22 jours. Les plaques étaient gardées à la température ordinaire, parce que c'est à cette température que j'ai obtenu le meilleur développement des germes de l'air. Ainsi, pour citer un exemple, de 2 plaques exposées dans une chambre à la même place et pendant le même laps de temps, celle laissée pendant 10 jours à la température ordinaire a donné 7 colonies de bactéries et 1 d'hyphomycètes, et celle placée à 36—37° n'a donné que 4 colonies de bactéries. Le procédé de Koch, ne nous permet naturellement pas de nous rendre compte de la quantité absolue des germes, contenue dans un volume d'air donné, mais quand on fait de nombreuses recherches, en employant toujours des plaques de dimensions identiques, exposées pendant la même laps de temps et gardées à la température de la chambre pendant le même nombre de jours, la comparaison des résultats obtenus, ne cesse de nous fournir des résultats fort intéressants. J'estime même que ce procédé, qui n'exerce aucune aspiration et par conséquent aucun déplacement artificiel de l'air et des germes qui y sont contenus, nous rend mieux compte de la distribution des germes dans l'air d'un endroit donné. Il faut du reste se rappeler, que par les différents procédés d'aspiration, suivant la technique employée, on a des résultats extrêmement différents, de la sorte qu'il est presque impossible de comparer entre eux les

résultats des différents observateurs qui ont employé ces procédés de recherche des germes de l'air. Qu'il me suffise de citer les résultats très différents obtenus par Ficker¹⁾ en aspirant dans un même endroit, sur des filtres différents, 15 lt. d'air :

Filtre de Hesse (gélatine)	=	97 colonies
Filtre ou sulfate de soude	=	106 "
Filtre à sable	=	140 "
Filtre à verre pilé	=	338 "

Mais pour ceux qui voudraient, des résultats donnés par les plaques, déduire la quantité absolue de germes contenue dans une quantité donnée d'air, il me suffira de rappeler les recherches de Petri²⁾ suivant lesquelles sur une surface de 100 c² de gélatine, se fixent en 3—5 min. autant de colonies bactériennes qu'on en trouve dans 10 lt. d'air, les hyphomycètes s'y fixant, en général, moins nombreux et plus irrégulièrement que dans les procédés par aspiration.

J'exposerai les résultats de mes recherches dans deux séries de tableaux: la 1^{ère} comprenant les recherches faites dans les chambres, les wagons, les villes ou leur voisinage; la 2^{ème} celles faites à la montagne et plus précisément dans le Jura, les alpes Vaudoises (Vd.) et Valaisannes (Vl.) et les alpes Grisonnes (Gr.) et de la Valteline (Vt.).

Dans toutes ces observations, sauf indication contraire, il est entendu que dans le voisinage de la plaque, il n'y avait que la ou les personnes qui pratiquaient les recherches et qui se plaçaient, chaque fois qu'il était possible, à distance de la plaque et sous le vent.

Toutes les recherches ont été faites surtout au point de vue quantitatif, séparant seulement bactéries, hyphomycètes et blastomycètes. Les recherches qualitatives ont été pratiquées d'une façon sommaire, et dans plusieurs cas elles n'ont pas pu être pratiquées.

Dans ce travail j'ai été aidé, pour plusieurs observations, par MM^{rs} les Dr. Vourloud et Bornand et surtout par M^{me} J. Rochaz de Jongh, et je leurs adresse ici mes plus vifs remerciements (vide tableaux p. 500—516).

Si nous jetons un coup d'œil sur les tableaux qui précèdent, nous constatons les faits suivants:

1^o Dans la 1^{ère} série d'observations: la quantité en général plus grande des colonies se développant sur les plaques exposées dans les villes, dans les chambres, sur les fenêtres ou sur les toits, avec prédominance, surtout s'il y a des personnes, des bactéries sur les hyphomycètes et les blastomycètes, que dans les espaces libres (jardins, prés) où, au contraire, les hyphomycètes prédominent. Ainsi nous constatons, que les plaques exposées dans les chambres et les wagons, ont fixé de 8 à 579 colonies, avec une moyenne de 132,69 colonies par plaque. Les bactéries ont prédominé sur les hyphomycètes et sur les blastomycètes (1936 Bc., 187 H., 2 Bl.), c'est-à-dire une moyenne par plaque de 149,61 Bc., 14,39 H., 0,15 Bl. Les plaques exposées sur les fenêtres, les clochers et les toits ont fixé de 10 à 200 colonies, avec une moyenne de 80,17 colonies par plaque. Les bactéries ont prédominé sur les hyphomycètes et les blastomycètes (1488 Bc., 849 H., 33 Bl.), c'est-à-dire une moyenne par plaque de 51,03 Bc., 29,27 H., 1,13 Bl. Les plaques exposées dans les jardins près des maisons, ont fixé de 5 à 271 colonies,

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 22. 1896. p. 33.

2) Travail cité.

I^{re} Série: Observations faites dans les chambres, wagons, villes et leur voisinage.

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
1	Chambre à plancher en carrons (Sondrio. Vt. 310 m)	14. 7. 07 9 ¹⁰ —10 ¹⁰ m.	+ 20° C	127	98 M. candidans, Sarc. lutea, S. aurantiaca	27 Mucor, Pen. glaucum, 1 Asp. glaucus	2 1 Sac. glutinis, 1 Sac. blanc	Une personne dans la chambre. Fenêtre ouverte
2	Chambre à parquet (idem)	23. 8. 09 6—7 s.	+ 23° C	39	20 M. candidans, Sarc. lutea, S. rosea	19 Mucor, Pen. glaucum	0	Deux personnes dans la chambre. Fenêtre ouverte
3	Chambre à tapis (Orbe. Vd. 491 m)	8. 12. 07 1 ³⁵ —2 ³⁵ s.	+ 11° C	145	141 Sarc. lutea, S. aurantiaca, M. candidans, 5 Bacillus (type subtilis)	4 Pen. glaucum	0	Trois personnes dans la chambre. Fenêtres fermées
4	Idem, mais sans tapis. Plancher en bois	25. 9. 08 9 ¹⁰ —10 ¹⁰ m.	+ 10° C	11	0	11 4 Pen. glaucum, 6 Aspergillus, 1 Mucor	0	Personne dans la chambre depuis 12 h.
5	Idem, avec tapis	2. 1. 10 10 ^{1/2} —11 ^{1/2} m.	+ 15° C	68	66 Sarc. alba, 1 M. candidans, 1 M. pyog. aureus, 3 Ascocoques jaunes	2 Pen. glaucum	0	Deux personnes dans la chambre
6	Chambre à linoléum (idem)	25. 12. 07 10 ¹⁰ —11 ¹⁰ m.	+ 7° C	52	45 Sarc. lutea, M. candidans, M. pyog. aur., 1 Ascocoque jaune, 2 Bacteriums	7 Pen. glaucum	0	Deux personnes dans la chambre, qui sert comme chambre de consultation
7	Auditoire de l'Inst. d'Hyg. Plancher en mosaïque (Lausanne 530 m)	18. 6. 08 2—3 s.	+ 25° C	303	282 Sarc. lutea, M. candidans, M. roseus	21 Mucor	0	50 personnes dans l'auditoire
8	Idem	12. 5. 09 2—3 s.	+ 20° C	174	170 Sarc. lutea, 4 S. aurantiaca, 2 Ascocoques jaunes 5 Bacteriums	4 Mucor	0	Idem
9	Idem	17. 6. 09 2—3 s.	+ 20° C	225	200 Sarc. lutea, 2 S. rosea, 1 M. pyogenes alb., 1 M. candidans, 4 Bact. blancs, 4 Bact. jaunes	25 Mucor, Pen. glaucum	0	Idem

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphe-mycètes	Blasto-mycètes	
10	Laboratoire des maladies infectieuses. Plancher en mosaïque (idem)	12. 12. 08 2 ¹ / ₄ —3 ¹ / ₄ s.	+ 20° C	123	120 Sarc. lutea, 10 S. rosea, 3 S. alba, 6 M. candidans	3 Pen. glaucum	0	Une personne dans le laboratoire
11	Idem	14. 6. 09 10—11 m.	+ 18° C	8	7 6 Sarc. lutea, 1 M. candidans	1 Pen. glaucum	0	Personne dans le laboratoire
12	Wagon de 3 ^e classe, non fumeurs (Train en marche Lausanne-Villeneuve)	2. 2. 08 8 ³⁰ —9 ³⁰ m.	+ 18° C + 19° C	579	529 Sarc. lutea, M. candidans, 2 M. roseus	50 Pen. glaucum	0	Plaque à environ 1,80 m au-dessus du plancher. Fenêtres fermées. En moyenne 13 personnes
13	Idem (Lausanne-Yverdon)	8. 2. 08 4 ³⁰ —5 ³⁰	+ 15° C	271	258 Sarc. lutea, M. candidans, 3 M. roseus, 1 Bacterium	13	0	Idem. Fenêtres ouvertes de temps en temps. 20 personnes, puis 8
14	Fenêtre à 10 m au-dessus d'une cour (Sondrio, Vt. 310 m)	3. 9. 07 7 ¹ / ₂ —8 ¹ / ₂ m.	+ 18° C Pluie, calme	63	43 Microcoques et sarcines	19 Pen. glaucum	1 S. glutinis	
15	Fenêtre de l'Inst. d'Hyg. à 18 m au-dessus de la rue non pavée (Lausanne)	17. 1. 08 3 ³⁰ —4 ³⁰ s.	+ 5° C Brouillard, léger vent du nord	41	30 Sarc. lutea, 2 M. candidans, 1 Bacterium	10 Mucor, 2 Aspergillus	1 S. glutinis	
16	Idem	8. 4. 08 1 ¹ / ₂ —2 ¹ / ₂ s.	+ 12° C Couvert, léger vent d'ouest	64	49 B. aërophilus, 2 B. prodigiosum, 1 M. candidans, 1 M. luteus, 1 Act. chromogenes	14 Mucor, Pen. glaucum	1 S. blanc	
17	Toit du palais de la polyclinique (Inst. d'Hyg.) 25 m au-dessus de la rue non pavée. Toit couvert de zinc (Lausanne)	17. 12. 07 3 ³⁵ —4 ³⁵ s.	+ 1° C Très beau, calme	81	62 Sarc. lutea, M. luteus, M. candidans	17 Pen. glaucum	2 S. glutinis	Du côté opposé à la route (N) à 20 m environ de distance, il y a une colline boisée, qui dépasse la hauteur de la polyclinique et sur laquelle se trouve l'Hôpital cantonal

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
18	Toit du palais de la polyclinique (Inst. d'Hyg.) 25 m au-dessus de la rue non pavée. Toit couvert de zinc (Lausanne)	17. 1. 08 3 ²² —4 ²² s.	+ 4° C Brouillard, léger vent du nord	45	30 Sarc. lutea, 8 Bac. type subtilis, 1 Bacterium, 1 Act. chromogenes	13 12 Pen. glaucum, 1 Mucor	2 1 S. glutinis, 1 S. blanc	
19	Idem	18. 1. 08 9—10 m.	+ 8° C Couvert, vent d'O. assez fort. Il a neigé le 16 et plu le 17	36	25 M. candidans, Sarc. lutea,	11 Mucor	0	
20	Idem	16. 3. 08 10 ^{1/4} —11 ^{1/4} m.	+ 7° C Couvert, léger vent d'O. Beau le 15, neigé la semaine précédente	93	17 Sarc. lutea, M. roseus, M. luteus	74 Pen. glaucum, Aspergillus	2 S. blancs	
21	Idem	17. 4. 08 10—11 m.	+ 16° C Très beau, léger vent du nord	25	2 B. type subtilis	10 Pen. glaucum, 1 Aspergillus	13 S. blancs	
22	Idem	21. 5. 08 11—12 m.	+ 34° C (soleil) Très beau, léger vent du nord	65	48 Sarc. lutea, 3 M. roseus, 1 M. luteus, 1 B. type subtilis, 1 B. aérophilus	15 Pen. glaucum	2 S. blancs	
23	Idem	13. 6. 08 10 ²⁰ —11 ²⁰ m.	+ 29° C (soleil) Très beau, léger vent du nord	69	27 Sarc. rosea, M. roseus, M. candidans	41 Pen. glaucum, Mucor	1 S. blanc	
24	Idem	16. 7. 08 10—11 m.	+ 15° C Assez beau, vent d'O., assez fort	174	144 B. type subtilis, S. rosea	30 Pen. glaucum, Mucor	0	
25	Idem	25. 8. 08 10—11 m.	+ 19° C Couvert, calme. Il a plu le 22	105	79	26	0	A cause d'un accident le contrôle des espèces n'a pas pu être fait

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
26	Toit du palais de la polyclinique (Inst. d'Hyg.) 25 m au-dessus de la rue non pavée. Toit couvert de zinc (Lausanne)	15. 9. 08 10—11 m.	+ 14° C Très beau, calme. Il a plu le 13	111	92 Sarc. lutea, 1 S. alba, 16 B. prodigiosum, 4 B. type subtilis	19 Pen. glaucum, Mucor	0	
27	Idem	15. 10. 08 9 ¹⁵ —10 ¹⁵ m.	+ 11° C Très beau, calme	39	20 Sarc. lutea, 2 S. aurantiaca, 3 M. candidans, 3 B. aërophilus	19 17 Pen. glaucum, 2 Mucor	0	
28	Idem	10. 11. 08 9 ¹⁰ —10 ¹⁰ m.	+ 4° C Couvert, calme. Il a neigé le 2. Toit sans neige	117	86 Sarc. lutea, 6 S. rosea, 1 M. luteus, M. candidans, 4 Act. chromogenes	31 Pen. glaucum, Mucor	0	
29	Idem	16. 12. 08 10—11 m.	+ 7° C Couvert, vent léger d'O. Il a beaucoup plu les jours précédents	82	66 Sarc. lutea, 2 S. rosea, 2 M. candidans, B. aërophilus	16 Mucor, 4 Aspergillus	0	
30	Idem	29. 1. 09 10 ¹⁵ —11 ¹⁵ m.	+ 0° C Couvert, léger vent d'ouest	19	6	11 3 Pen. glaucum, 1 Asp. glaucus Asp. albus	2 S. blancs	
31	Idem	15. 2. 09 9 ¹⁵ —10 ¹⁵ m.	- 3° C Beau, calme	84	13 M. candidans, 2 S. rosea, 1 S. lutea, 1 Act. chromogenes	71 Pen. glaucum, 5 Asp. albus	0	
32	Idem	9. 3. 09 9 ²⁰ —10 ²⁰ m.	+ 3° C Très beau, léger vent du nord. Il a neigé les jours avant. Point de neige sur le toit	22	4 M. candidans	17 2 Asp. flavus, 2 Asp. glaucus, Pen. glaucum	1 S. blanc	

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
33	Toit du palais de la polyclinique (Inst. d'Hyg.) 25 m au-dessus de la rue non pavée. Toit couvert de zinc (Lausanne)	14. 4. 09 10 ^{1/2} —11 ^{1/2} m.	+ 12° C Très beau, vent du nord, assez fort. Il a plu le 13 et le nuit du 13 au 14	29	2 1 M. candidans, 1 Act. chromogenes	27 Mucor mucedo, 4 Asp. albus, 2 Pen. glaucum	0	
34	Idem	22. 5. 09 10 ¹⁰ —11 ¹⁰ m.	+ 15° C Très beau, calme	10	4 M. candidans	6 4 Pen. glaucum, 2 Mucor	0	
35	Idem	19. 6. 09 9 ²⁰ —10 ²⁰ m.	+ 20° C (soleil) Beau, vent du nord, assez fort. Il a plu toute la semaine et jusqu'à 8 h.	79	18 Sarc. lutea, 4 M. roseus, 1 Act. chromogenes	60 Mucor	1 S. blanc	
36	Idem	3. 7. 09 8 ²⁵ —9 ²⁵ m.	+ 21° C (soleil) Très beau, vent du nord, très fort	200	51 M. roseus, 2 S. lutea, 4 M. candidans, 1 B. aërophil.	149 Mucor, 4 Pen. glaucum	0	
37	Idem	17. 8. 09 2 ^{3/4} —3 ^{3/4} m.	+ 25° C Très beau, calme. Il a plu la nuit précédente	62	37	25 Aspergillus	0	L'examen des bactéries n'a pas été pratiqué
38	Idem	15. 9. 09 2 ²⁰ —3 ²⁰ m.	+ 19° C Beau, calme	104	67 Sarc. lutea, 13 S. aurant., 2 B. aërophil.	36 Aspergillus	1 S. blanc	
39	Idem	9. 10. 09 10 ^{1/2} —11 ^{1/2} m.	+ 15° C Couvert, léger vent du sud. Il a plu presque toute la semaine et jusqu'à 9 h.	17	5 M. candidans, 2 S. aurantiaca	12 Mucor, 1 Pen. glaucum, 1 Asp. glaucus	0	
40	Idem	4. 11. 09 10 ¹⁰ —11 ¹⁰ m.	+ 11° C Un peu couvert, léger vent du nord	197	177 Sarc. lutea, 14 M. candid., 8 M. roseus, 20 B. type subtilis	20 Mucor, 4 Asp. albus, 1 Pen. glaucum	0	

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
41	Toit du palais de la polyclinique (Inst. d'Hyg.) 25 m au-dessus de la rue non pavée. Toit couvert de zinc (Lausanne)	10. 12. 09 9 ¹ / ₂ —10 ¹ / ₂ m.	+ 0° C Très beau, léger vent du nord. Il a neigé la nuit du 8 au 9. Encore un peu de neige sur le toit	118	105 M. candidans, 11 S. rosea, 3 S. lutea, 2 Ascocoques jaunes, 4 B. aérophilus	12 Mucor, 2 Pen. glaucum	1 S. blanc	
42	Clocher de l'Eglise de Sondrio (Vt. 310 m) à 46 m au-dessus de niveau du sol	26. 8. 07 2 ²⁵ —3 ²⁵ s.	+ 27° C Très beau, vent d'ouest, très fort	67	19 Sarc. lutea, S. rosea, S. alba, 1 B. subtilis, 1 Act. chromogenes	48 Mucor	0	
43	Jardin d'une maison à Orbe (Vd. 491 m)	24. 11. 07 11 ²⁰ —12 ²⁰ m.	+ 3° C Couvert, légère pluie, calme	85	64 Sarc. lutea, M. candidans, 1 B. type subtilis	21 Mucor, Pen. glaucum	0	Sous un toit contre la maison
44	Idem	25. 9. 08 9 ¹⁵ —10 ¹⁵ m.	+ 20° C Beau, calme	32	1 M. candidans	31 Aspergillus, 4 Pen. glaucum	0	À l'extrémité du jardin opposée à la maison
45	Idem	20. 12. 08 10—11 m.	+ 2° C Couvert, fort vent du nord. Il a plu les jours précédents	271	28 S. alba, S. lutea, 2 S. rosea, 5 M. candidans, 6 B. aérophil., 7 B. subtilis	243 Pen. glaucum	0	Idem
46	Idem	1. 1. 09 2 ⁵ —3 ⁵ s.	- 7° C Brouillard, léger vent du nord. Sol couvert de neige	11	8 5 M. candidans, 3 S. alba	3 Pen. glaucum	0	Idem
47	Jardin d'une maison à Villeneuve (Vd. 300 m.)	12. 2. 09 4 ¹⁵ —5 ¹⁵ s.	+ 1° C Couvert, calme	5	1 M. luteus	4 Pen. glaucum	0	Sol humide
48	Pré de Visciastro à 80 m de la route nationale (Sondrio. Vt. 310 m)	25. 7. 07 8 ¹⁰ —9 ¹⁰ m.	+ 24° C Beau, calme	67	19 S. lutea, S. rosea, S. alba, 1 B. type subtilis, 2 Act. chromogenes	48 Mucor	0	Beaucoup de passage sur la route, et beaucoup de poussière

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hypohomycètes	Blastomycètes	
49	Bords de l'Adda (idem)	24. 8. 08 8 ¹⁰ —9 ¹⁰ m.	+ 20° C Beau, calme	77	27 M. candidans	50 Mucor	0	Près des bois
50	Isola di Busteggia (idem)	26. 3. 09 9 ^{1/2} —10 ^{1/2} m.	+ 9° C Couvert, léger vent d'O. Il a plu le 25	10	0	10 8 Pen. glaucum, 2 Mucor	0	Ile de l'Adda, éloignée des routes, des habitations et non cultivée
51	Plaine de l'Orbe (444 m) près du canal de Bavois	27. 9. 08 2 ¹⁰ —3 ¹⁰	+ 17° C Couvert, vent d'O. faible	21	0	21 Pen. glaucum	0	Sol marécageux. Point de maisons dans le voisinage

II^e Série: Observations faites à la montagne.

a) Chaîne du Jura.

52	Gouille à l'ours (Vd. 973 m)	3. 8. 07 12—1 s.	+ 23° C Très beau, léger vent du nord	27	1 Sarc. lutea,	26 Aspergillus et Mucor	0	Plaque placée sous un sapin près du marécage
53	Idem	12. 7. 08 1 ^s —2 ^s s.	+ 30° C Vent du nord, assez fort	73	14 Sarc. lutea, B. aërophilus	59 Mucor	0	Idem
54	100 m au-dessus de la route du col des Roches (N. 1106)	30. 5. 09 3 ^{ss} —4 ^{ss} s.	+ 15° C Un peu couvert, calme	28	9 8 M. flavus, 1 B. aërophilus	12 Mucor	7 S. blancs	Clairière d'un bois de sapins
55	Mathoulaz (Vd. 1140 m)	22. 12. 07 12—1 s.	0° C Très beau, calme	10	1 Sarc. lutea	9 Pen. glaucum	0	A 5 m au-dessus du chalet non habité
56	Refuge du Petit chalet (1190 m)	20. 7. 07 8 ³⁰ —9 ²⁰ s.	+ 11° C Très beau, faible vent du nord	8	2 A. chromogenes	6 Aspergillus	0	A 37 pas du refuge où il y a 3 personnes. Le refuge est entouré de bois de sapin
57	Idem	2. 1. 08 11 ³⁰ —12 ³⁰ m.	— 5° C Brouillard, calme	13	5 M. candidans, 1 S. lutea, 1 B. subtilis	8 Mucor, 1 Aspergillus	0	Idem. 2 personnes
58	Idem	12. 1. 08 12 ^{1/2} —1 ^{1/2} s.	— 4° C Très beau, calme, sol couvert par 60 cent. de neige	8	7 6 B. subtilis, 1 S. lutea	1 Aspergillus	0	Idem. 1 personne
59	Idem	12. 1. 08 12 ^{ss} —1 ^{ss} s.	0° C	67	52 M. candidans, 13 S. lutea, 2 M. roseus	15 10 Pen. glaucum, 4 Aspergillus, 1 Mucor	0	Dans le refuge 1 personne

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hypohomycètes	Blastomycètes	
30	Refuge du Petit chalet (1190 m)	28. 6. 08 10 ²⁰ —11 ²⁰ m.	+ 26° C (soleil) Très beau, léger vent du nord	75	16 S. alba	59 Mucor	0	A 37 pas du refuge. 2 personnes
31	Idem	28. 6. 08 10 ²⁵ —11 ²⁵ m.	Idem	83	16 M. candidans	67 Mucor	0	Sous les sapins
32	Idem	15. 11. 08 11 ¹⁰ —12 ¹⁰ m.	+ 5° C Nuages, fort vent du NO. Terrain humide (il a plu la nuit). Il a neigé 8 j. avant et il y a encore des taches de neige	7	4 2 Act. chromogenes, 1 B. aërophilus, 1 M. flavus	3 Mucor	0	A 37 pas du refuge où il y a 2 personnes
33	Idem	10. 1. 09 11 ³⁵ —12 ³⁵ m.	— 6° C (ombre) + 5° C (soleil) Beau, fort vent du nord. Sol couvert par 1 m de neige	1	1 Sarc. lutea	0	0	Idem. 1 personne
34	Idem	31. 1. 09 11 ⁵ —12 ⁵ m.	— 1° C	37	22 M. candidans, 3 M. flavus, 3 B. aërophil.	15 Pen. glaucum	0	Dans le refuge 1 personne
35	Idem	21. 2. 09 12 ⁴⁰ —1 ⁴⁰ m.	— 1° C Très beau, vent du N. assez fort. Sol couvert par 50 cent. de neige	3	0	3 Mucor	0	A 37 pas du refuge où il y a 2 personnes
36	Idem	7. 11. 09 11—12 m.	+ 4° C Très beau, léger vent du nord. Sol gelé	28	21 B. aërophilus	7 Mucor	0	Idem
37	Idem	12. 12. 09 2 ¹⁰ —3 ¹⁰ s.	— 2° C Très beau, calme. Il a neigé la semaine. 50 cent. de neige sur le sol	0	0	0	0	Idem

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphe-mycètes	Blasto-mycètes	
68	Refuge du Petit chalet (1190 m)	30. 12. 09 12—1 m.	— 2° C Très beau, vent du N. assez fort. Sol couvert de neige	7	5 B. prodigiosum	2 Mucor	0	A 37 pas du refuge où il y a 2 personnes
69	Entre Prayel et Mt. de Baulmes dessous (Vd. 1192 m)	19. 1. 08 12 ^{1/2} —1 ^{1/2} s.	+ 5° C Très beau, vent du N. assez fort. Sol en partie couvert de neige	21	0	17 Mucor	4 S. blancs	Sous des sapins
70	Mt. de Baulmes dessous (1205 m)	10. 5. 08 11 ¹⁰ —12 ¹⁰ m.	+ 24° C (soleil) Quelques nuages, vent du N. assez fort	39	3 Bacillus	36 Pen. glaucum, Mucor	0	Dans un pré à 30 m du chalet non habité
71	Idem	28. 2. 09 12 ¹⁰ —1 ¹⁰ s.	— 2° C Très beau, vent du N. assez fort. Sol couvert par 50 cent. de neige	1	0	1 Asp. glaucus	0	Idem, à 50 m du chalet
72	Rez (Vd. 1233 m)	22. 12. 07 1 ^{1/2} —2 ^{1/2} s.	0° C Très beau, léger vent du N. Sol couvert de neige, excepté sous le bois	7	0	7 Aspergillus	0	Sous des sapins
73	Idem	26. 1. 08 12 ¹⁰ —1 ¹⁰ s.	+ 5° C Beau, léger vent du N. Sol comme dans l'obs. 72	9	0	6 Mucor	3 1 S. glutinis, 1 S. blanc, 1 S. jaune	A 10 m du bois
74	Grange devant (Vd. 1264 m)	26. 1. 08 2 ^{1/4} —3 ^{1/4} s.	0° C Couvert, très fort vent du N. Sol couv. de neige	3	0	2 Aspergillus	1 S. glutinis	A 20 m du chalet non habité
75	Idem	3. 1. 09 12 ¹⁰ —1 ¹⁰ s.	+ 1° C En partie couvert, vent très fort du sud. Sol couvert de neige	229	203 M. candidans, 20 S. rosea, 4 B. aérophilus	26 Mucor	0	Plaque placée à côté du chalet

NO. U. U. U. U. U. U. U.	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hypomycètes	Blastomycètes	
6	Crébillon (1278 m)	5. 1. 08 12 ^{1/2} —1 ^{1/2} s.	— 6° C Beau, vent du nord assez fort. Terrain couvert de neige	6	0	6 Aspergillus	0	Plaque à 10 m d'un groupe de sapins sous lesquels le terrain est découvert
7	Idem	15. 3. 08 11 ^{1/2} —12 ^{1/2} m.	— 3° C Couvert, calme. Il a neigé toute la semaine. Sol couvert par 2,50 à 3 m de neige	2	0	1 Pen. glaucum	1 S. blanc	
8	Idem	14. 6. 08 11 ⁵ —12 ⁵ m.	+ 30° C (soleil) Très beau, très fort vent du nord	85	61 B. aérophilus, 1 Streptococque	24 Mucor	0	Plaque près d'une cisternne où il y a des vaches. On voit sur la plaque des grains de terre portés par le vent
9	Idem	27. 12. 08 12 ^{1/2} —1 ^{1/2} s.	+ 3° C Très beau, léger vent du nord. Sol couvert de neige excepté par places	1	0	1 Aspergillus	0	
10	Aiguilles de Baulmes: Arête (1289 m)	10. 11. 07 12 ⁷ —1 ⁷ s.	+ 12° C Beau, vent du nord assez fort	9	2 1 B. subtilis, 1 Bacterium	7 Mucor	0	
11	Idem. Roche ronde (1289 m)	20. 9. 09 11 ³⁰ —12 ³⁰ m.	+ 20° C (soleil) Beau, léger vent du nord	12	1 B. aérophilus	11 Mucor	0	Pâturage à quelques mètres
12	Pré Brunets (1291 m)	17. 5. 08 11 ⁵ —12 ⁵ m.	+ 20° C (soleil) Très beau, vent du N. assez fort	23	3 2 Micrococques, 1 Bacterium	20 Mucor	0	Milieu d'un pâturage. Ni chalet, ni animaux
13	Route de la Limace (1300 m)	2. 1. 09 12 ^{1/2} —1 ^{1/2} s.	+ 18° C (soleil) Très beau, fort vent du nord. Sous bois, sol en partie sans neige	4	2 B. aérophilus	0	2 S. blancs	

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphe-mycètes	Blasto-mycètes	
84	Poyettaz (1325 m)	31. 10. 08 10 ^h —11 ^h m.	+ 16° C (soleil) Très beau, faible vent d'ouest	2	0	2 Mucor	0	A 300 m du chalet non habité
85	Idem	11. 4. 09 9 ^h —10 ^h m.	+ 10° C (soleil) Très beau, fort vent du nord. Beaucoup de neige sur le sol	2	0	2 1 <i>Aspergillus glaucus</i> , 1 <i>Pen. glaucum</i>	0	A 50 m du chalet non habité
86	Refuge de Belcostar (1325 m)	13. 10. 07 1 ^h —2 ^h s.	+ 12° C Couvert, calme	7	3 1 <i>S. lutea</i> , 1 <i>S. rosea</i> , 1 <i>Bacillus</i>	4 Mucor	0	
87	Citerne de Pralioux dessus (1336 m)	20. 5. 09 10 ^h —11 ^h m.	+ 18° C (soleil) Beau, faible vent du nord	4	0	4 Mucor	0	Dans un pré
88	Sommet près de Grange neuve (1453 m)	21. 7. 07 9 ^h —10 ^h m.	+ 16° C Très beau, vent du N. assez fort	35	19 Act. chromo- genes, <i>S. lutea</i> , <i>M. roseus</i>	16 Mucor	0	Gazon. Quelques sapins
89	Arête du Suchet (1520 m)	12. 8. 09 10 ^h —11 ^h m.	+ 19° C (ombre) + 26° C (soleil) Très beau, faible vent du nord	17	0	17 Mucor	0	Pâturage parsemé de blocs de pierre
90	A 50 m au dessus du chalet du Suchet (1543 m)	9. 5. 09 12 ^h —1 ^h s.	+ 10° C Beau, vent d'O. assez fort	13	2 <i>B. subtilis</i>	11 Mucor	0	Près couverts d'herbe sèche
91	Aiguilles de Baulmes: à 20 m du sommet de l'aiguillon (1543 m)	21. 7. 07 12—1 s.	+ 19° C Quelques nuages, faible vent du nord	28	15 <i>S. lutea</i>	13 <i>Pen. glaucum</i> , <i>Aspergillus</i>	0	Sous un petit sapin
92	Arête de l'aiguillon (1560 m)	10. 11. 07 2 ^h —3 ^h s.	+ 5° C Beau, calme	5	0	5 Mucor	0	
93	Aiguillon (1563 m)	14. 6. 08 1 ^h —2 ^h s.	+ 30° C (soleil) Très beau, fort vent du nord	85	61 Bacilles un streptocoque	24 Mucor	0	A 2 h. 10, 7 personnes sont arrivées sur le sommet et sont restées près de la plaque

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphe-mycètes	Blasto-mycètes	
94	Sommet du Suchet (1596 m)	8. 11. 07 12 ¹⁵ —1 ¹⁵ s.	+ 9° C Beau, fort vent du N.	6	1 Microcoque	4 Mucor	1 S. blanc	
95	Idem	4. 8. 07 4 ⁴⁰ —5 ⁴⁰	+ 18° C Temps orageux. Vent du nord et d'ouest moyens	51	10 S. lutea	32 Mucor	9 S. blancs	Il y a eu beaucoup de monde sur le sommet dans la journée
96	Idem	13. 11. 08 11 ^{3/4} —12 ^{3/4} m.	+ 5° C Beau, vent d'ouest moyen. Il a neigé la nuit. Il y a encore des plaques du neige	0	0	0	0	
97	Idem	6. 12. 08 11—12 m.	+ 0° C Soleil puis brouillard vent du N. très fort sol couvert d'une mince couche de neige	0	0	0	0	
98	Idem	26. 12. 08 12 ¹⁰ —1 ¹⁰ s.	+ 0° C Beau, fort vent du N.	0	0	0	0	Terrain gelé avec taches de neige
99	Idem	3. 5. 08 12 ^{1/4} —1 ^{1/4} s.	+ 15° C Un peu couvert, fort vent d'ouest	13	0	13 Mucor	0	
100	Idem	Idem	Idem	22	13 B. subtilis	9 Mucor	0	La plaque au lieu d'être à 50 cent. au-dessus du sol comme dans l'exp. 99 est par terre entre 2 pierres
101	Idem	20. 6. 09 11 ¹⁰ —12 ¹⁰ m.	+ 16° C Couvert, léger vent du nord	27	4 3 B. aérophilus, 1 M. candid.	21 Mucor	2 S. blancs	Une 30 ^e de personnes sur le sommet, mais loin de la plaque
102	Idem	24. 1. 09 12 ²⁰ —1 ²⁰ s.	+ 5° C (soleil) Très beau, fort vent du N. Sol sans neige mais gelé	1	0	1 Mucor	0	

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
103	Sommet du Suchet (1596 m)	2. 9. 09 11 ^h —12 ^h m.	+ 7° C (soleil) Un peu couvert, fort vent du nord	2	0	2 Mucor	0	
104	Idem	26. 9. 09 11 ^h —12 ^h m.	+ 11° C Beau, vent du nord et d'ouest moyens	18	0	18 Mucor	0	
105	Idem	9. 1. 10 1 ^h / ₄ —2 ^h / ₄ s.	+ 6° C (soleil) Très beau, fort vent d'O. Sol sans neige mais gelé au sommet. Tout autour taches de neige	0	0	0	0	
b) Alpes vandoises et valaisannes.								
106	Follaterres (VI. 593 m)	5. 4. 08 12 ^h / ₄ —1 ^h / ₄ s.	+ 15° C Très beau, très fort vent du nord	125	49 S. lutea, A. chromogenes	76 Pen. glaucum	0	On voit des grains de terre portés par le vent sur la plaque. Plusieurs personnes une 20 ^m de m. en dessous vers nord
107	Au-dessus de Sierre (VI. 1041 m)	10. 10. 07 11 ^h —12 ^h m.	+ 22° C Quelques nuages, calme. Il a beaucoup plu le matin	22	0	22 21 Mucor, 1 Pen. glaucum	0	Dans un pré
108	Village de Chesières (Vd. 1200 m)	9. 11. 09 6—7 s.	+ 6° C Brouillard, calme	85	82 S. alba, 14 S. aurant., 13 B. aërophilus, 4 M. candid.	3 Pen. glaucum	0	
109	Idem	12. 12. 09 6—7 s.	+ 2° C Très beau, calme. Sol couvert de neige	297	278 M. candidans, 50 S. alba, 6 S. aurant., 4 S. lutea	19 Mucor, 4 Pen. glaucum	0	
110	Au-dessus du Village de Chesières (VI. 1265 m)	6. 11. 09 3—4 s.	+ 18° C Beau, fort vent du nord	8	0	4 Mucor	4 S. blancs	Pâturage à la lisière d'une forêt

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
111	Montana s/Sierre (Vl. 1550 m)	10. 10. 07 2 ¹ / ₂ —3 ¹ / ₂ s.	+ 12° C Couvert, léger vent d'ouest	16	0	14 Mucor	2 S. glutinis	Pâturage aux bords du lac
112	St. Joseph (Saas Fée) (Vl. 1798 m)	11. 10. 07 12 ²⁵ —1 ²⁵ s.	+ 15° C Très beau, vent du N. assez fort	9	2 M. candicans	6 Mucor	1 S. blanc	A 50 m des chalets
113	Flancs du Chamossaire (Vd. 1800 m)	12. 12. 09 1—2 s.	+ 5° C (soleil) Très beau, fort vent du N. Sol couvert de neige	4	0	3 Mucor	1 S. blanc	
114	Pâturage de Salanfe (Vd. 1950 m)	21. 6. 09 4 ³⁵ —5 ³⁵ s.	+ 12° C Quelques nuages. Vent du sud faible	17	0	17 Mucor	0	
115	Arolla (Vl. 2003 m)	21. 7. 08 10—11 m.	+ 11° C (ombre) Beau, calme	37	1 B. type subtilis	35 Mucor	1 S. blanc	Dans une clairière du bois à 100 m du Kurhaus
116	Col d'Emaney (Vl. 2427 m)	11. 10. 08 11—12 m.	+ 4° C Beau, vent du SO. moyen	1	0	1 Mucor	0	Pierrier fin avec quelques touffes d'herbe
117	Col de la Forchetta (Vl. 2886 m)	19. 8. 09 11—12 m.	+ 12° C (soleil) Très beau, vent du N. moyen	4	0	4 Mucor, 1 Pen. glaucum	0	Terre et roches. Traces de neige
118	Sommet de la Bella Tola (Vl. 3090 m)	17. 8. 09 4—5 s.	+ 12° C (ombre) + 20° C (soleil) Temps couvert, calme	9	1 S. alba	8 Mucor	0	Roches et pâturage. Taches de neige
119	Schwarzhorn (Vl. 3207 m)	21. 8. 09 7 ¹ / ₂ —8 ¹ / ₂ s.	+ 4° C Brouillard, faible vent du sud	3	0	3 Mucor	0	Sommet de pierrier
c) Alpes grisonnes et de la Valteline.								
120	Samaden (Gr. 1728 m)	31. 1. 09 6 ¹⁰ —7 ¹⁰ s.	— 12° C (ombre) Beau, calme. Sol couvert à ³ / ₄ de neige	6	3 2 M. candicans, 1 S. alba	3 Pen. glaucum	0	A 3 m de l'Hôtel Bellevue

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hypohomycètes	Blastomycètes	
121	Cristolais s/Samadén (1806 m)	18. 1. 09 10 ^h —11 ^h m.	+ 9° C (soleil) — 7° C (ombre) Très beau, calme. Il a neigé la veille. Sol couvert de neige	0	0	0	0	Forêts de mélèzes à 100 m
122	Idem	31. 1. 09 2 ¹ / ₂ —3 ¹ / ₂ s.	— 9° C Couvert, faible vent d'ouest	1	0	1 Pen. glaucum	0	De temps en temps un flocon de neige
123	Lac de Venina (Vt. 1853 m)	21. 7. 07 10—11 m.	+ 21° C Très beau, vent de sud-est assez fort	11	0	11 Mucor	0	Pré à 10 m au-dessus du lac
124	Alpede Rodés (Vt. 2000 m)	26. 9. 09 12—1 s.	+ 9° C Couv., fort vent du sud-ouest	24	2 M. candidans	22 Pen. glaucum, 3 Mucor	0	Sol de terre et pierres
125	Col de la Portorella (Vt. 2000 m)	18. 7. 09 1—2 s.	+ 26° C (soleil) Très beau, léger vent du nord	20	0	20 19 Mucor, 1 Asp. glaucus	0	Sol à terre et pierres. Petits mélèzes
126	Restaurant du Roseg. (Gr. 2000 m)	26. 1. 09 11 ^h —12 ^h m.	— 6° C (soleil) Très beau, calme. Sol couvert de neige	0	0	0	0	A 30 m du restaurant fermé
127	Au-dessus de Boirolo (Vt. 2000 m)	26. 3. 09 9 ¹ / ₂ —10 ¹ / ₂ m.	+ 9° C Temps couvert, vent d'ouest assez fort	10	0	10 8 Pen. glaucum, 2 Mucor	0	Terre et neige. A côté d'une maison non habitée
128	Arrête du Pizzo Grione (Vt. 2000 m)	27. 9. 08 12—1 s.	+ 17° C Très beau, calme	17	0	17 Mucor	0	Sol couvert de rhododendrons mirtilles et genièvres
129	Près des lacs du Publino (Vt. 2100 m)	12. 9. 09 11 ^h —12 ^h m.	+ 14° C (soleil) Très beau, calme	4	0	4 Mucor	0	Terre sans herbe. A 15 m de 2 personnes et 2 chiens
130	Lac du Publino (Vt. 2110 m)	23. 7. 09 11 ¹ / ₂ —12 ¹ / ₂ m.	+ 17° C Quelques nuages, fort vent d'est	49	7 5 M. candidans, 2 S. lutea	42 Mucor, 4 Aspergillus	0	Terre et pierres

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
131	M. Rolla (Vt. 2280 m)	25. 8. 08 9 ¹⁰ —10 ¹⁰ m.	+ 17° C (soleil) Quelques nuages, léger vent du nord	19	0	19 Mucor	0	Herbe et terre
132	Bocchetta di Geröi (Vt. 2400 m)	25. 9. 09 2 ⁵ —3 ⁵ s.	+ 9° C Couvert, fort vent du sud	24	2 M. candidans	22 Pen. glaucum, 3 Mucor	0	Terre et roches
133	Sommet à Est du Passo del Salto (Vt. 2500 m)	1. 8. 09 11 ^{1/2} —12 ^{1/2} m.	+ 20° C Très beau, léger vent du nord	5	1 M. candidans	4 Mucor	0	Rochers
134	Bocchetta di Rogneda (Vt. 2500 m)	28. 8. 08 11—12 m.	+ 15° C Couvert, brouillard, fort vent du sud	14	0	13 Mucor	1 S. blanc	Terre et pierres
135	M. Canale (Vt. 2522 m)	25. 8. 08 11 ²⁰ —12 ²⁰ m.	+ 18° C (soleil) Un peu couvert, fort vent du nord	11	0	11 Mucor	0	Herbe et terre
136	Bocchetta di Caldenno (Vt. 2550 m)	31. 7. 08 10 ¹⁰ —11 ¹⁰ m.	+ 15° C (ombre) Beau, vent du sud assez fort	130	125 B. coli, 8 S. lutea, 1 M. candidans	5 Mucor	0	Terre et roches. De nombreuses mouches (M. stabulans?) se sont posées sur la plaque
137	Passo di Sacco (Vt. 2600 m)	8. 8. 08 10 ⁴⁰ —11 ⁴⁰ m.	+ 7° C Couvert, vent du nord très fort	26	3 1 Bacterium jaune, 1 Bacterium blanc, 1 S. lutea	17 Mucor, 6 Pen. glaucum	6 S. blancs	Plaque contre un rocher humide
138	Punta del Lago Painale (Vt. 2600 m)	9. 9. 08 12 ¹⁰ —1 ¹⁰ s.	+ 22° C (soleil) Très beau, vent du nord plutôt fort	13	1 B. type subtilis	11 Mucor, 3 Pen. glaucum	1 S. blanc	Herbe et terre
139	Cabane Marinelli (Vt. 2812 m)	11. 8. 07 6 ^{1/4} —7 ^{1/4} s.	+ 10° C Quelques nuages, calme	6	0	6 Mucor, 1 Asp. niger	0	Terre et roches à 20 m de la cabane
140	Idem	12. 8. 07 3 ^{1/2} —4 ^{1/2} s.	+ 17° C Beau, vent d'ouest assez fort	7	0	6 Mucor	1 S. blanc	A 20 m au-dessus de la cabane sur les rochers

No. d'ordre	Localité et altitude	Date et heure	Observations météorologiques	Nombre des colonies				Observations
				Total	Bactéries	Hyphomycètes	Blastomycètes	
141	Sommet or. de la Soliva (Vt. 2700 m)	26. 7. 08 1 ²⁰ —2 ²⁰ s.	+ 19° C (soleil) Quelques nuages, vent léger du nord	8	1 S. lutea	6 3 Pen. glaucum, 3 Mucor	0	Roche. Le sommet étant très étroit, j'étais à côté de la plaque
142	Pizzo degli uomini (Vt. 2897 m)	28. 7. 07 1—2 s.	+ 11° C Un peu couvert, vent du N. faible	10	5 2 S. lutea, 3 B. aërophilus	5 Mucor	0	Rochers et terre. En dessous un névé
143	Primo campanile di Ron (Vt. 2900 m)	25. 7. 09 3—4 s.	+ 12° C Beau, léger vent du nord	9	8 6 M. candid., 1 Ascocoque blanc, 1 B. subtilis	1 Mucor	0	Rochers. Sommet très étroit. 2 personnes près de la plaque
144	Corna Brutana (Vt. 2908 m)	25. 8. 08 1 ^{1/4} —2 ^{1/4} s.	+ 12° C Quelques nuages, calme	3	0	1 Pen. glaucum	2 S. blancs	Rochers
145	Rovinadone (Vt. 2938 m)	8. 8. 09 10 ²⁰ —11 ²⁰ m.	+ 17° C Beau, léger vent du nord	27	0	27 Mucor, Pen. glaucum	0	Rochers et terre
146	Pizzo Calino (Vt. 3030 m)	15. 8. 09 2 ^{1/2} —3 ^{1/2} s.	+ 13° C Très beau, calme. Sol couvert de neige au centre du sommet	4	3 B. subtilis, S. alba, M. candidans	1 Mucor	0	Plaque placée au milieu du névé
147	Pizzo del Teo (Gr. 3050 m)	9. 8. 08 11 ¹⁰ —12 ¹⁰ m.	+ 19° C (soleil) Très beau, vent du N. assez fort	12	1 B. aërophilus	6 Mucor	5 4 S. blancs, 1 S. glutinis	Rochers
148	Vetta Sperella (Gr. 3078 m)	11. 8. 08 2 ¹⁰ —3 ¹⁰ s.	+ 15° C Beau, fort vent du nord	2	0	2 Asp. niger	0	Rochers
149	Vetta di Ron (Vt. 3153 m)	4. 8. 07 3 ¹⁰ —4 ¹⁰ s.	+ 15° C Très beau, léger vent du nord	8	1 S. lutea	6 Mucor	1 S. blanc	Rochers et terre
150	Corno di Campo (Gr. 3302 m)	10. 8. 08 1 ^{1/2} —2 ^{1/2} s.	+ 20° C (soleil) Très beau, léger vent du nord	4	0	3 Pen. glaucum	1 S. blanc	Rochers et terre
151	Tremoggia (Vt. 3452 m)	13. 8. 07 1 ^{1/4} —2 ^{1/4} s.	+ 10° C Beau, fort vent du nord	1	0	1 Mucor	0	Rochers sans neige. Sommet entouré de glaciers surtout au nord

avec une moyenne de 80,80 colonies par plaque, avec prédominance des hyphomycètes (292 H., 102 Bc., 0 Bl.), c'est-à-dire une moyenne par plaque de 54,4 H., 20,4 Bc., 0 Bl.

Les plaques exposées dans les prés de la même zone des villes, ont fixé de 10 à 77 colonies, avec une moyenne de 43,75 colonies par plaque et prédominance des hyphomycètes (129 H., 46 Bc., 0 Bl.), c'est-à-dire une moyenne par plaque de 32,25 H., 11,5 Bc., 0 Bl.

Ces constatations coïncident avec celles faites par les observateurs qui m'ont précédé dans ce genre de rechercher. Ainsi Miquel¹⁾ a constaté à Paris que l'air du parc de Montsouris, contient 28 fois moins de colonies que celui du centre de la ville et surtout des courettes et des maisons. Hesse²⁾ a trouvé à Berlin 448 colonies par m.³ à l'air libre et jusqu'à 9000 colonies par m.³ dans les classes d'école. Welz³⁾ à Fribourg i/B. a trouvé aussi beaucoup plus de germes dans les espaces renfermés que dans les espaces libres. Valenti et Ferrari-Lelli⁴⁾ trouvent à Modène que les colonies diminuent en s'élevant dans la ville à 42—80 mètres au-dessus du niveau du sol et qu'en ville l'air contient plus de germes qu'au dehors.

2^o Dans la 2^{ème} série d'observations, nous pouvons en premier lieu constater des faits analogues à ceux observés dans la 1^{ère} série.

Ainsi, par exemple, au Refuge du petit chalet (Jura) on fait une fois 2 prises d'air, l'une à 37 pas du refuge, l'autre dans le refuge lui-même: La première fixe 8 colonies dont 7 Bc., 1 H. et 0 Bl. (obs. 58), la 2^{ème} 67 colonies dont 52 Bc., 15 H. et 0 Bl. (obs. 59). Dans une autre prise faite dans le refuge (obs. 64), la plaque fixe 37 colonies dont 22 Bc., 15 H. et 0 Bl. Quelques plaques exposées en dehors dans ce même endroit, ont parfois donné un nombre plus grand de colonies de celles exposées, dans les 2 obs. indiquées, dans le refuge, mais dans ces cas il s'agissait d'un fort développement d'Hyphomycètes (obs. 60 et obs. 61). Dans un autre cas une plaque exposée à côté d'un chalet, bien que non habitée et en hiver, a fixé 229 colonies dont 203 de Bc. et 26 d'H. (obs. 75). Dans un 3^e cas, une plaque est faite sur un pâturage où il y a des vaches et elle fixe 85 colonies dont 61 de Bc. et 24 d'H. (obs. 78). Enfin dans un dernier cas une plaque exposée sur un sommet à 1563 m, fixe aussi 85 colonies dont 61 de Bc. et 24 d'H. (obs. 93), mais 7 personnes sont restées à côté de la plaque. Si l'on fait abstraction de ces cas, on constate que dans le Jura, les colonies développées sur les plaques, ont varié d'un minimum de 0 à un maximum de 83, avec une moyenne de 21,49 colonies par plaque, où les hyphomycètes prédominent sur les bactéries et les blastomycètes (537 H., 179 Bc., 30 Bl.), c'est-à-dire une moyenne de fixation de 17,32 colonies d'H., 5,77 de Bc., 0,96 de Bl. par plaque.

Par rapport aux alpes Vaudoises et Valaisannes, nous trouvons que deux plaques exposées à 1200 m mais dans un village (obs. 108 et 109) présentent respectivement 85 et 297 colonies, avec une moyenne de 191 colonies par plaque. Les bactéries prédominent sur les hyphomycètes et les blastomycètes (360 Bc., 22 H., 0 Bl.), c'est-à-dire une moyenne de fixation par plaque de 180 colonies de Bc., 11 d'H., 0 de

1) Les organismes vivants de l'atmosphère. Paris 1883. Miquel et Cambier, Traité de bactériologie. Paris 1902. p. 899.

2) Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1884.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 121.

4) Cités dans Riv. d'ig. e sanità pubbl. 1900. p. 709.

Bl. Dans une plaque exposée avec un fort vent, là où il y a plusieurs personnes à 593 m (obs. 106), on trouve 125 colonies dont 49 de Bc. et 76 d'H.

Abstraction faite de ces cas, les plaques exposées dans les alpes Vaudoises et Valaisannes ont fixé de 1 à 37 colonies, avec une moyenne de 11,81 colonies par plaque. Les hyphomycètes prédominent sur blastomycètes et bactéries (107 H., 9 Bl., 4 Bc.), c'est-à-dire une moyenne de fixation par plaque de 9,72 colonies d'H., 0,81 de Bl. et 0,36 de Bc.

Par rapport aux alpes des Grisons et de la Valteline, il faut faire abstraction d'une plaque exposée à 2550 m (obs. 136) sur laquelle des mouches s'étant posées, on a eu développement de 130 colonies, dont 125 de Bc. (surtout *B. coli*) et 5 d'Hyphomycètes. Sur toutes les autres, le nombre des colonies fixées a varié entre 0 et 49, avec une moyenne de 11,19 par plaque. Les hyphomycètes ont prédominé (246 H., 104 Bc., 18 Bl.), c'est-à-dire une moyenne par plaque de 7,93 colonies d'H., 3,35 de Bc. et 0,58 de Bl.

Ces constatations, qui démontrent la rareté des germes, surtout des bactéries, dans l'air des montagnes à condition que les plaques soient placées dans des endroits libres et éloignées de l'homme et des animaux, coïncident aussi avec les constatations de tous les observateurs qui ont fait des recherches analogues soit à la montagne, soit en ballon, soit dans les régions polaires, soit sur mer.

Ainsi Pasteur¹⁾ exposant 20 ballons à l'air à la pleine, à 850 m (Jura) et à 2000 m (Mer de glace) en infectait respectivement 8, 5 et 1. De Freudenberg²⁾ trouve 700 à 800 colonies par m.³ d'air à Berne et il n'en trouve plus que 16 par 10 m.³ d'air à 2000—3000 m sur la montagne, 3 entre 3000 et 4000, et 0 au-delà de 4000 m. Dans des recherches faites en ballon, tandis que Cristiani³⁾ a trouvé l'air pur en germes à 1000 m au-dessus de Genève, Harz⁴⁾ en a trouvé encore à 2300 m, Flemming⁵⁾ jusqu'à 4100 m (3 pour 10 lt. d'air) et Hahn⁶⁾ à Munich a trouvé que l'air est pur en germes entre 1600 et 1800 m en hiver, tandis qu'il ne l'est qu'au-delà de 3000 m en été. Par rapport aux régions polaires Levin⁷⁾ aspirant 21 600 lt. d'air à Beeren-Eiland, Spitzberg et terre du roi Charles, a constaté sa grande pureté, chose confirmée par Ekelöf⁸⁾ à Snow Hill dans l'antarctique, où les plaques de Petri ont fixé en moyenne par heure 0,28 colonies en mars, 0,25 en avril, 0,88 en mai, 1,62 en juillet, 0,14 en août, 0,17 en octobre et 0 en novembre. Sur mer, les recherches de Miquel et Moreau⁹⁾, de Fischer¹⁰⁾, de Minervini¹¹⁾, de Flemming¹²⁾ et de Segale¹³⁾, démontrent la grande pureté de l'air à mesure qu'on s'éloigne des côtes.

1) Compt. rend. de l'acad. des scienc. T. 41. 1861. p. 141.

2) Cité par Miquel et Cambier ouvrage cité p. 915 et par Bodin, Les bactéries de l'air, de l'eau et du sol. Paris 1905.

3) Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 7. 1893. p. 665.

4) Cité par Flemming.

5) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. p. 345.

6) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 97.

7) Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 13. 1899. p. 558.

8) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 344.

9) Travaux cités.

10) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 421.

11) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 165.

12) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 58. 1908. p. 345.

13) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Ref. Bd. 44. 1909. p. 627.

3° De l'ensemble des observations exposées, il résulte que la quantité de colonies fixées sur les plaques a été influencée, outre que par le fait de l'exposition dans un espace renfermé, à la ville ou à la campagne ou bien à la montagne, aussi par les facteurs suivants :

a) La présence de l'homme ou des animaux, qui ont augmenté le nombre des germes, surtout des bactéries développées sur les plaques, non seulement dans des chambres mais même dans des espaces libres à la montagne. Homme et animaux, augmentent les germes dans l'air, par le fait des poussières qu'ils peuvent soulever, des bactéries qu'ils lancent dans l'air avec les gouttelettes de salive et la desquamation de la peau, des bactéries qui proviennent des vêtements, des excréments que les animaux déposent sur les pâturages et qui, pulvérisés, peuvent être soulevés dans l'air. Par tous ces moyens, et pas exclusivement par les poussières soulevées, comme le voudrait Bonin¹⁾, hommes et animaux peuvent souiller l'air. Quand on affirme donc que l'air de la montagne est pur ou relativement pur en germes, il faut immédiatement ajouter : À condition qu'un certain nombre d'hommes ou d'animaux ne s'y accumulent pas dans des espaces renfermés ou même libres. Levin²⁾, que comme nous avons vu, avait constaté la grande pureté de l'air dans les régions arctiques, avait fait remarquer aussi le fait que dans ces régions le contenu intestinal de plusieurs animaux examinés, était stérile.

b) Les vents. Les germes de l'air, outre que de l'homme et des animaux, proviennent surtout du sol. Or les vents, soulevant les poussières du sol, augmentent le nombre des germes sur les plaques. On peut le constater en parcourant les tableaux donnés dans ce travail. Qu'il me suffise de citer les obs. 76 et 106 dans lesquelles on constate des grains de terre à la surface des plaques et qui donnent respectivement 85 et 125 colonies, en bonne partie (Act. chromogenes, Hyphomycètes) provenant certainement du sol; et les obs. 99 et 100 où de 2 plaques placées l'une à 50 cent. et l'autre au ras du sol, la première donne 13 et la 2^e 22 colonies dont 13 de *B. subtilis*. Cette influence des vents sur les germes de l'atmosphère, ne se vérifie naturellement qu'à une seule condition : Que le sol soit sec et qu'il puisse par conséquent être soulevé en poussière. C'est pour ça que même avec de forts vents, des plaques exposées au-dessus de sols humides, gelés et surtout couverts de neige, ont donné très peu de colonies ou sont restées tout à fait stériles. Cette influence des vents pour soulever les germes dans l'atmosphère, a été signalée par presque tous les observateurs. Hahn³⁾ leur attribue le transport des germes même dans les hautes couches de l'atmosphère, et Cristiani et de Michelis⁴⁾ ont constaté à Genève que l'air puisé au-dessus des routes non pétrolées ou non goudronnées, contient plus de germes que celui puisé sur ces dernières. Il suffit du reste de penser à la quantité innombrable de germes contenus dans les poussières pour comprendre la chose : Ainsi Manfredi⁵⁾ a trouvé dans un gramme de balayures des rues de Naples jusqu'à 6 888 000 000 de colonies; Pellegrini⁶⁾ dans les poussières des rues de Padoue jusqu'à

1) Travail cité p. 40.

2) Travail cité.

3) Travail cité.

4) Revue méd. de la Suisse romande. 1904. No. 1.

5) Cité par Pellegrini.

6) Contributo sperimentale allo studio del contenuto batterico della polvere stradale. Verona 1908.

122 973 410 colonies par gramme; Haertel¹⁾ dans les poussières des wagons des chemins de fer Suisses, jusqu'à 45 830 000 colonies par gramme et Cacace²⁾ dans les poussières des classes des écoles de Capoue jusqu'à 103 000 000 de colonies par gramme.

c) Les saisons. Elles n'ont pas joué un rôle bien net dans les expériences que j'ai pratiqué. Il y a bien en général une certaine tendance à l'augmentation des germes sur les plaques pendant les mois d'été dans les recherches faites sur le toit de la polyclinique (I^{ère} série), mais par rapport à la montagne, si les plaques fixent très peu ou pas de germes dans certaines expériences d'hiver, je ne l'attribue pas à la saison en elle-même, mais au fait que le sol est gelé ou couvert de neige, et par conséquent, même avec de forts vents, les germes ne peuvent pas être soulevés dans l'atmosphère.

4^o Par rapport à la qualité des germes isolés, nous constatons d'emblé, que tandis que les bactéries prédominent dans les espaces renfermés et là où il y a l'homme ou les animaux, les hyphomycètes et les blastomycètes prédominent au contraire dans les espaces libres et à la montagne, là où il n'y a ni hommes ni animaux. Ainsi par exemple dans des plaques exposées à 3302 et 3452 m (obs. 150 et 151) dans les alpes, je n'ai trouvé respectivement que 3 et 1 colonies d'Hyphomycètes. Ça confirme les observations de Flemming³⁾ qui, en ballon, a constaté comme déjà au-dessus de 500 m le nombre des hyphomycètes et des blastomycètes dans l'air, dépasse de beaucoup celui des bactéries.

Parmi les espèces bactériennes isolées, je signalerai comme en général partout où j'ai pratiqué mes expériences, les Coccacées ont prédominé sur les Bactériacées. Surtout fréquentes, ont été les sarcines et en particulier *S. lutea*. Fréquent aussi *M. candicans*. Assez fréquent *B. aërophilus*. Dans plusieurs cas, s'est développé sur les plaques *Act. chromogenes*. Parmi les bactéries pathogènes, si nous faisons abstraction de l'obs. 136, où une plaque exposée à 2550 m s'est infectée de *B. coli* non par le fait de l'air mais de mouches qui s'y sont posées dessus; je n'ai trouvé que 2 fois dans 2 chambres (obs. 5 et 6) *M. pyogenes aureus*, et une fois à l'auditoire (obs. 9) *M. pyogenes albus*, microorganismes qui ont été isolés aussi par Ullmann⁴⁾ de l'air des chambres d'hôpital, des écuries etc., par Concornotti⁵⁾ de l'air des classes d'école, des wagons, des chambres etc., par De Blasi⁶⁾ de l'air des manufactures de tabac en Italie. Quant au Streptocoque, isolé aussi de l'air de salles d'hôpital par Ruini et par Emmerich⁷⁾, je ne puis dire autre chose que sur 2 plaques exposées à 1278 m et à 1563 m (obs. 78 et 93) l'une près de vaches au pâturage et l'autre près de 7 personnes j'ai eu un développement d'un Streptocoque dont je n'ai pas fait l'identification.

Parmi les hyphomycètes ont prédominé surtout les formes du type *Mucor*, et à côté de ça surtout *Pen. glaucum* et *Asp. glaucus*. Parmi les blastomycètes j'ai isolé plusieurs fois *S. glutinis* (Rosahefe).

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1909. p. 19.

2) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. p. 653.

3) Travail cité.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 55.

5) Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 26. 1899. p. 492.

6) Ricerche igieniche in alcune manifatture di Tabacchi. Roma 1908.

7) Cités par Concornotti.

Conclusions.

Les recherches que je viens d'exposer, confirment le fait de la diminution des germes en allant des chambres aux espaces libres, éloignées de villes et à la montagne. Elles démontrent en même temps que la présence de l'homme et des animaux, augmente le nombre des germes de l'air même à la montagne; que ce nombre est aussi augmenté par les vents si le sol n'est pas humide, gelé ou couvert de neige. Au point de vu des espèces, les recherches démontrent que les bactéries diminuent en allant des chambres aux espaces libres et à la montagne où, au contraire, on rencontre surtout des hyphomycètes et parfois des blastomycètes. Les seules espèces pathogènes, isolées dans des chambres, ont été *M. pyogenes aureus* et *M. pyogenes albus*.

Lausanne, 30 janvier 1910.

Nachdruck verboten.

Note sur les diptères buveurs de sang de Roumanie.

Par le Docteur N. Leon, professeur à l'université de Jassy.

Avec 1 figure.

Le but de la présente notice est de signaler la présence du „*Phlebotomus papatasi*“ en Roumanie.

Cette petite mouche longue de 2 millimètres, de couleur jaune clair, je l'ai attrapée dans ma chambre à coucher même, au moment où elle me piquait au visage et où je venais d'éteindre la lampe. Sa piqûre est beaucoup plus douloureuse que celle des cousins. Sa tête est petite, ses yeux réniformes, les ocelles manquent. Le cou manque aussi de sorte que la tête est directement fixée au thorax qui est gibbeux. Les antennes sont formées de 16 articles. La trompe est courte et les palpes sont formées de 4 articles couvertes de poils. Le corps et les ailes sont de même couverts de poils, mais sur notre exemplaire il n'en est resté que très peu parce qu'il s'est beaucoup débattu dans l'éprouvette jusqu'au lendemain matin quand je l'ai noyé dans l'alcool. Ses jambés sont relativement fort longues comme on peut le voir par la microphotographie ci-jointe (fig. 1), recouvertes de poils et terminées par deux ongles. L'abdomen est composé de 8 articulations.

Peu de temps après j'en ai encore pris un exemplaire femelle et toujours dans ma chambre à coucher. Cela eut lieu en Septembre. L'un de ces insectes se disposait même à pondre. On peut voir ces œufs, au nombre de 5 ou 6, dans la microphotographie, au moment où ils sont déposés.

Ce diptère, de la famille des Psychodides, se trouve fréquemment en Dalmatie, en Herzégovine, en Italie, et en Sicile.

Il y produit par ses piqûres la maladie connue sous le nom de „Hundskrankheit“, mal de chien qui a été constatée pour la première fois par Taussig¹⁾.

1) Doerr, R., Franz, K. und Taussig, S., Das Pappataciefieber. Ein endemisches Drei-Tage-Fieber im Adriatischen Küstengebiet Oesterreich - Ungarns. Leipzig u. Wien (Fr. Deuticke) 1909.

Cette maladie consiste en une fièvre qui dure de trois à quatre jours et est accompagnée de différents accidents comme frissons, diarrhée, inappétence, conjonctivite, bradicardie suivis d'une longue convalescence pendant laquelle le malade est débile et apathique.

Doerr leur a trouvé un virus invisible. Il est probable que cet insecte se trouve aussi chez nous en grand nombre et s'il n'a pas été observé jusqu'à présent ce doit être à cause de sa petitesse.

Je profite de cette occasion pour exposer quelques expériences sur des larves d'anophèles et de Culex.

Comme j'ai passé les dernières grandes vacances dans une région du pays (Monastère de Niamtz) où l'on cultive et rouit beaucoup de



Fig. 1. *Phlebotomus papatasi*.

chanvre, j'ai cherché des larves d'anophèles dans les étangs qui servent à cet usage, mais je n'en ai pas trouvé quoique l'*Anopheles maculipennis* soit très répandu dans cette partie du pays.

J'ai essayé alors les expériences de M. Galli-Valerio¹⁾. J'ai placé des larves d'*Anopheles maculipennis* dans un vase avec de fortes macérations de chanvre. Les résultats ont été autres que ceux obtenus par M. Galli-Valerio: jamais les larves n'ont réussi à se changer en nymphes.

J'ai fait cette expérience avec des larves de *Culex* et j'ai toujours réussi à les développer jusqu'à la phase adulte (dans une macération concentrée de chanvre).

J'ai versé ensuite de cette solution dans deux vases différents, dans l'un avec des larves de *A. maculipennis* et dans l'autre avec des

1) Galli-Valerio, Bruno, Études relatives à la Malaria. (Bull. Soc. Vaudoise d. Scienc. Nat. Lausanne. No. 142.)

larves de *Culex*. Les premières périssaient après 36 heures, les secondes arrivaient toujours à un complet développement.

J'ai essayé ensuite de cultiver des Culicides en laissant des femelles de *A. maculipennis* déposer leurs œufs dans un vase contenant de l'eau de pluie passée à travers une toile serrée et dont l'orifice avait été fermé par une toile greque. Les femelles déposèrent leurs œufs, des œufs il sortit des larves mais je n'ai jamais obtenu la transformation de ces larves en nymphes. Quelques-unes de ces larves vécutent dégénérées pendant trois mois sans se transformer en nymphes, mais la plupart périrent au bout d'un mois.

J'ai répété cette expérience avec des femelles de *Culex* et leurs œufs sont toujours arrivés à un complet développement et dans les vases où l'eau de pluie n'avait pas été filtrée à travers de la toile les larves sont arrivés à un complet développement sans que j'aie eu à m'occuper de leur nourriture.

Nachdruck verboten.

Beiträge zum Befund gramnegativer Diplokokken auf der menschlichen Bindehaut.

[Aus der Universitäts-Augenklinik in Freiburg i. Br. (Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. Th. Axenfeld).]

Von Dr. Ph. Verderame, z. Z. in Freiburg i. Br.

Mit 1 Tafel.

Bekanntlich kommen im Conjunctivalsack des Menschen neben dem *Gonococcus* Neisser noch andere, nach der Gramschen Methode sich entfärbende Doppelkokken vor, die sich im Ausstrichpräparat nicht immer sofort und sicher von jenen unterscheiden lassen. Wenn man auch zugeben muß, daß die ausgesprochene semmelförmige Gestalt sowie die vorwiegend intracelluläre Lagerung in Form von Fischzügen sehr stark für den *Gonococcus* sprechen, weiß man doch aus neueren Untersuchungen, daß diese Merkmale nicht ausschließlich bei ihm vorkommen, sondern vielfach auch beim *Meningococcus* Weichselbaum und beim *Micrococcus catarrhalis* Pfeiffer beobachtet worden sind. Nimmt man noch hinzu, daß der Erreger der Gonorrhöe für die menschliche Conjunctiva im allgemeinen eine bedeutend höhere Pathogenität besitzt als die beiden anderen Keime, so ergibt sich daraus die Notwendigkeit, die Stellung derselben zueinander zu präzisieren und für sie charakteristische Merkmale zu finden, und zwar dies um so mehr, als das klinische Bild der Augenaffektion nicht stets mit Sicherheit auf die Natur der Infektion schließen läßt.

Die ersten Angaben über andere gramnegative Diplokokken stammen von Bumm (8). Später brachten Gifford (14) und Marthen (28) weitere Angaben hierüber, die jedoch kein klares Urteil zulassen. Hauptsächlich waren es die darauf gerichteten Untersuchungen von Axenfeld (3) und seiner Schüler Krukenberg (20) und Brons (5, 6), welche zur Klärung dieser Frage beigetragen und besonders die von Schanz verfochtene Identität aller gramnegativen Diplokokken widerlegt haben. Bestätigt wurden ihre Befunde durch die Veröffentlichungen von Abelsdorff-Neumann (1) sowie von

Urbahn (35) und von Wildholz (37). Seitdem hat man in der Freiburger Klinik dieser nicht uninteressanten Frage stetige Aufmerksamkeit gewidmet, wozu die Arbeiten von Brons (5, 6) sowie diejenige von Ruata (33) weitere Beiträge bilden. Im Vorliegenden sei es mir gestattet, die Ergebnisse an drei aus dem menschlichen Bindehautsack gewonnenen Stämmen gramnegativer Diplokokken mitzuteilen.

Fall I. 20. Juli 1909. Pol.-J. No. 2443. Koch, Katharine, 30 Jahre alt. Blepharconjunctivitis R + L; Hornhautgeschwür L. Entzündung seit 8 Tagen bestehend. Lidränder beiderseits etwas gerötet, Conj. palpebr. leicht geschwellt und gerötet. Tränenpunkte evertiert. Am linken äußeren Augenwinkel Exkorrierung der Haut und Borkenbildung. Linkes Auge pericorneal injiziert. Auf der Cornea nasal nach oben in der Nähe des Limbus eine mäßig dichte, am Rand etwas gesättigtere Trübung des Parenchyms mit unebener Oberfläche. Im Sekretpräparat (linkes Auge) massenhaft intracellulär gelegene Xerosebacillen neben spärlichen grampositiven Diplokokken von plumper runder Form (Staphylokokken); hier und da im Sekretpräparat auch gramnegative Stäbchen und extracellulär gelegene gramnegative Diplokokken. Im Sekretpräparat des rechten Auges finden sich neben zahlreichen Xerosebacillen überall verstreut teils vereinzelt, teils in größeren Haufen liegende gramnegative Diplokokken.

Es wurden vom rechten Auge Kulturen auf Blutserum und Ascitesagar angelegt. Nach 24 Stunden zeigen sich auf dem Blutserum massenhaft typische Xerosekolonien sowie vier größere, grauliche Kolonien von rundlicher Form und etwa 1 mm Durchmesser, die sich auf dem Ausstrichpräparat aus gramnegativen Diplokokken zusammengesetzt erweisen. Auf dem Ascitesagar wachsen neben Xerose- und Staphylokokkenkolonien etwa zehn rundliche, etwa $1\frac{1}{2}$ —2 mm im Durchmesser messende Kolonien, leicht prominent und grauweiß (gramnegative Diplokokken).

Vom linken Auge wird auf Peptonagar und auf Blutserum übergeimpft; im ersten Röhrchen wachsen sehr zahlreiche Xerosekolonien, im zweiten Xerose- und Diplobacillen.

Die Ascitesagarkultur aus dem rechten Auge wird zur Reinzüchtung benützt. Beim Versuch, aus der einzelnen Kolonie gramnegativer Kokken abzuimpfen, hebt sie sich in toto vom Substrat ab und läßt sich leicht darauf verschieben.

Morphologie (vgl. Fig. 1): Im Sekretpräparat des rechten Auges finden sich neben zahlreichen Xerosestäbchen überall verstreut teils vereinzelt, teils aber auch in größeren Haufen liegende plumpe gramnegative Diplokokken von typischer Semmelform und meist extracellulär gelegen; nur äußerst selten sind sie in den übrigen spärlich vorhandenen Leukocyten nachweisbar. Die Korngröße der einzelnen Individuen ist keine gleichmäßige, sondern bietet teilweise erhebliche Unterschiede. Eine Lagerung in Diploform bildet die Regel, doch fehlt es da und dort auch nicht an Tetraden.

In Präparaten von Reinkulturen trifft man die typische Semmelform an (vgl. Fig. 3, a). Die Größe der Einzelglieder ist im allgemeinen dieselbe wie im Sekretpräparat, sie ist jedoch in Bouillon- und Ascitesagarkulturen etwas plumper; sie betrug z. B. in der Peptonagarkultur 0,7 μ und in der Ascitesagarkultur 0,8 μ . Was die Lagerung anbetrifft, so bietet sie gegenüber dem Sekretpräparat keinen Unterschied; es ist jedoch bemerkenswert, daß in der Bouillonkultur die Diploform fast ganz vermißt wird und man fast durchweg zu größeren oder kleineren Haufen zusammengeballte Kokken findet (Spontanagglutination). Dieses Verhalten wiederholt sich, wie ich hier gleich bemerken will, auch bei der Untersuchung im hängenden Tropfen. Die Färbbarkeit der Kokken ist in jüngeren, etwa 2—3 Tage alten Kulturen eine gute, von da an aber trifft man immer mehr blaß gefärbte, manchmal auch stärker gefärbte Einzel- und Diploformen, die vielfach die normale Größe bedeutend überschreiten oder überhaupt ganz unregelmäßig sind, also deutliche degenerative Phänomene. Kettenbildung wird nicht beobachtet, ebenso fehlt jede Andeutung einer Kapsel.

Die auch für die beiden anderen Stämme zur Färbung angewandte Gramsche Methode war folgende:

Anilinölwasser-Gentianaviolett 5 Proz. 25 Sekunden.

Abspülen mit Wasser.

Lugolsche Lösung 15 Sekunden.

Alcohol absolutus bis keine Farbwolken mehr abgehen.

Abspülen mit Wasser.

Safranin 5 Proz. (wässrige Lösung) 5 Sekunden.

Die Entfärbung trat immer schnell und sicher ein, auch bei Anwendung der Original-Gram-Methode. Die Kokken ließen sich auch mit Met hyleneblau gut färben

Kulturelles Verhalten auf den verschiedenen Nährböden.

Wachstum auf allen gewöhnlichen Nährböden gut, besonders üppig auf Pepton- und Glycerinagar.

Peptonagar: Nach 16 Stunden üppiges Wachstum von feinsten, nicht ganz Stecknadelkopfgröße erreichenden rundlichen Kolonien, die im durchfallenden Lichte graugelblich erscheinen. Im Kondenswasser zahlreiche feinste Bröckel suspendiert. Nach 36 Stunden Kolonien stecknadelkopf groß und darüber, graulich im auffallenden, graugelblich im durchfallenden Lichte; Zentrum etwas dunkler, Randzone mehr durchscheinend. Beim Versuch abzuimpfen, lassen sich die einzelnen Kolonien auf dem Substrat in toto verschieben und zerfallen beim Drücken auf dieselben in feinste Bröckel. **Kahmhautbildung** auf der Oberfläche des Kondenswassers nach 48 Stunden. Nach weiteren 24 Stunden haben die Kolonien 3 mm im Durchmesser erreicht, sind rund, mit glattem Rand und von trockenem Aussehen. Sie weisen jetzt sehr deutlich eine dunklere zentrale Partie und zwei konzentrische Höfe, von denen der äußere durchscheinender ist als der innere, auf. Im weiteren Verlauf nimmt die einzelne Kolonie einen etwas ins Bräunliche hinüberspielenden Farbenton an und weist einen leicht gezackten Rand auf; letzteres ist übrigens bei mikroskopischer Betrachtung auch an jüngeren Kolonien wahrnehmbar.

Glycerinagar: Wachstum etwas spärlicher, die Kolonien erreichen nach 3 Tagen kaum Stecknadelkopfgröße; im übrigen Verhalten ganz gleich wie beim Peptonagar.

Auf Loefflerschem Blutserum (Rinderserum) Wachstum ziemlich gut, keine Verflüssigung.

Auf Blutplatten gutes Wachstum; keine Hämolyse.

Ascitesagar: Gutes Wachstum, Kolonien graulich durchscheinend, im übrigen vom gleichen Aussehen wie auf Peptonagar; Durchmesser nach 36 Stunden 2—3 mm.

Gelatinestich: Spärliches Wachstum längs dem Stichkanal, der sich als feiner granulierter Stich präsentiert. Um die Stichöffnung Bildung einer etwa 2 mm im Durchmesser messenden graulichen Scheibe. Keine Verflüssigung.

Traubenzucker: Nach 24 Stunden spärliches Wachstum von kleinsten runden graugelblichen, leicht durchscheinenden Kolonien. Nach 3 Tagen Kolonien rund, mit glattem Rand, erreichen 2—2½ mm im Durchmesser, sind im auffallenden Lichte graulich, im durchfallenden trüb gelbgraulich. Einzelne Kolonien zeigen einen heller durchscheinenden Hof, der sich deutlich vom dunkleren, mehr gelbbraunlichen Zentrum abhebt. Auf dem klaren Kondenswasser zahlreiche, eine Art Häutchen bildende Kolonien; mäßiger grauer Bodensatz, der sich beim Schütteln in Form von feinsten grauweißlichen Bröckeln aufwirbeln läßt.

Zuckeragarstich: Spärliches Wachstum längs dem Stichkanal und um die Stichöffnung. Nach 2mal 24 Stunden bildet sich um die Impfstelle eine etwa 4 mm im Durchmesser messende graue Scheibe mit leicht welligem Rand und von körniger Beschaffenheit.

Bouillon: Nach 20 Stunden klar. Auf dem Boden des Röhrchens ein weißlich-grauer Niederschlag, der sich beim Schütteln in Form von feinen weißlichen Bröckeln aufwirbeln läßt, die sich sehr langsam zu Boden senken und keine Trübung der Flüssigkeit hinterlassen. Vielfach hat man die Gelegenheit, im oberen Teil des Röhrchens eine Ringbildung zu beobachten und bei ganz ruhigem Aufbewahren kommt es zur Bildung einer Kahmhaut auf der Oberfläche der Bouillon.

In Ascitesbouillon sowie in Peptonwasser ähnliches Verhalten.

Milch nach 3mal 24 Stunden nicht koaguliert, Wachstum mäßig. Reaktion alkalisch.

Neutralrote Lackmusmolke: Nach 2 Tagen keine Trübung, Wachstum mäßig; in der Folge alkalische Reaktion.

Auf Kartoffel makroskopisch kein Wachstum nachweisbar; auf dem Ausstrichpräparat ist eine leichte Vermehrung der Kokken nicht zu verkennen.

Gasbildung sowie Indolbildung fehlen ebenso wie Schwefelwasserstoffbildung. Von den Zuckerarten wurde keine einzige vergärt. In bezug auf die Agglutinationsprobe wird aufs Folgende verwiesen.

Wachstum am besten aërob, anaërob fand spärliches, aber doch deutliches Wachstum statt.

Wachstumsoptimum bei 37° C, bei Zimmertemperatur (14° C) leidliches Wachstum. Höhere Temperaturen werden ziemlich gut ertragen, so wurden 50° C 1½ Stunden lang ohne Schaden ertragen, bei 60° C zeigen sich die Kokken noch nach ¼ Stunde lebensfähig und ebenso bei 70° C nach 2 Minuten. Eine Temperatur von —10° C wurde 36 Stunden lang ohne Beeinträchtigung der Uebertragbarkeit ertragen.

Die Lebensdauer der Kokken ist sehr groß. Kulturen, die über 3 Monate bei Bruttemperatur und teils auch bei einer mittleren Zimmertemperatur von 17° C auf-

bewahrt worden waren, ließen sich noch sehr gut übertragen. An Deckgläser angetrocknete Kulturen gingen nach 3-tägiger Uebertragung gut auf.

Tierversuche. Die intraperitoneale, intravenöse sowie subkutane Einbringung dieser Kokken beim Kaninchen sowie beim Meerschweinchen (bis zu 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur) verlief resultatlos; ebenso überstanden Mäuse die intraperitoneale Impfung von 1 ccm derselben Kultur ganz gut. Einimpfen einer Oese frischer Kultur in die Hornhaut von Kaninchen führte nur zu mäßigen entzündlichen Erscheinungen und zur Bildung eines Hornhautfleckens; Einbringen in den Glaskörper hatte die Bildung von dicken Glaskörperschwarten ohne heftigere Entzündung zur Folge. —

Fall II. 20. Juli 1909. Pol.-J. No. 2443. Schmidt, Hermann, 26 Jahre alt, ist angeblich myop und wünscht Brille. Es besteht beiderseits ein leichter Follikularkatarrh, in den Lidwinkeln spärliches schleimiges Sekret. Im Sekretpräparat finden sich reichlich Xerosestäbchen, Staphylokokken sowie zahlreiche, soweit ersichtlich, meist extracellulär gelegene gramnegative Diplokokken.

Es wurden Kulturen angelegt auf Peptonagar, Blutserum und Ascitesagar. Während nach 30 Stunden auf dem ersten Röhrrchen kein Wachstum wahrzunehmen ist, zeigen sich auf dem Blutserum etwa 15 Kolonien, die sich teils als Staphylokokken, teils als Xerosebacillen erweisen. Auf dem Ascitesagar wuchsen etwa 20 kleine, weiße, stark gezackte Xerosekolonien und einige schneeweiße Staphylokokkenkolonien, daneben 2—3 rundliche, etwa 1 mm im Durchmesser messende, flach erhabene Kolonien von graugelblicher Farbe und mit glattem Rand, die sich bei der Färbung als gramnegative Diplokokken erweisen.

Zwecks Reinzüchtung werden nun von diesen Kolonien Ueberimpfungen gemacht; Peptonagar sowie Glycerinagar zeigten dabei kaum Wachstum, während die Uebertragung auf Blutserum sowie besonders auf Ascitesagar sehr gut gelang. Die weiteren Züchtungsversuche wurden daher nur auf letzterem Nährboden gemacht, und es gelang so nach einigen Uebertragungen, eine Reinkultur zu bekommen.

Morphologie. Im Sekretpräparat, das leider verloren ging, findet man ziemlich viel feine, etwas rundliche, zu zweien gelagerte Kokken, die sich in den sehr spärlich vorhandenen Leukocyten nicht nachweisen lassen. Korngröße nicht durchweg gleichmäßig.

In Reinkulturen Kokken im ganzen etwas größer als im Sekretpräparat, messen etwa 0,7 μ . In ganz jungen Kolonien trifft man meist gleichmäßig und gut gefärbte Doppelformen, deren Einzelglieder meist gleich groß, rundlich oder leicht quer oval sind; vornehmlich aber sieht man die bei den Gonokokken regelmäßig zu beobachtende Abplattung der gegenüberliegenden Kockenseite. Kettenbildung ist nirgends zu sehen, dagegen trifft man hier und da, besonders in älteren Kulturen, auch Tetraden, deren Einzelglieder größer sind als diejenigen der Diploformen. In etwas älteren, aber auch schon in weniger als 24 Stunden alten Kulturen ist die Korngröße nicht mehr so gleichmäßig; neben den kleineren, normalen Formen sind ganz große, meist blaß gefärbte Diplo- und Monoformen zu sehen; außerdem trifft man ganz unregelmäßige Exemplare und Schatten: also frühzeitige Degenerationsercheinungen (vgl. Fig. 3, b).

Färbbarkeit der Kokken wie bei den vorhergehenden. Kapselbildung fehlt. Im hängenden Tropfen unbewegliche Mono- und Diploformen, vielfach auch zu Häufen beisammenliegende Kokken.

Kulturelles Verhalten.

Die Kokken wachsen, wie bereits erwähnt, zu Anfang nicht auf allen Nährböden gut, sondern bevorzugen die eiweißhaltigen; erst bei der XXII. Generation gelang es, sie an die gewöhnlichen Züchtungsmittel zu gewöhnen, auf denen sie zunächst spärlich, in der Folge aber dann ganz gut fortkamen.

Auf Peptonagar in den ersten Generationen kein oder kaum Wachstum; hier und da erkennt man im untersten Teil des Röhrrchens feinste rundliche Kolonien von glänzendem Aussehen, durchscheinend, mit glattem Rand und mäßig prominent; Farbe graugelblich. Ein Uebertrag von diesen Kolonien auf Peptonagar gelingt nicht. Von der XXII. Generation an reichlicheres Wachstum. Einzelne Kolonie in der 24-stündigen Kultur 1—2 mm im Durchmesser, ist über dem Nährboden deutlich erhaben und hat sowohl im auffallenden wie im durchfallenden Lichte ein klares, gelbliches Aussehen; im auffallenden Lichte allerdings spielt die Farbe mehr ins Grauliche über. In der 2-tägigen Kultur Kolonie 4 mm im Durchmesser, weist ein dunkleres, gelbliches Zentrum auf, von dem sich ein durchscheinender hellerer Hof deutlich abhebt. Auf dem Kondenswasser grauliche Kahmhaut; auf dem Boden des Reagensgläschens ein spärlicher Bodensatz.

Auf Glycerinagar ganz ähnliches Verhalten.

Auf Blutserum Wachstum etwas besser, aber im ganzen auch nicht sehr üppig beschränkt sich besonders zu Anfang meist nur auf den unteren Teil des Röhrrchens

Hier erkennt man zahlreiche, feinste, rundliche Kolonien von graugelblicher durchscheinender Farbe. Daneben sieht man Konglomerate von Kolonien, die mit zackiger Begrenzungslinie ineinander übergehen. In der 3 Tage alten Kultur erreichen die Kolonien $1\frac{1}{2}$ mm Durchmesser und zeigen eine leicht gezähnelte Umrandung.

Am besten gedeihen die Kokken auf Ascitesagar. Schon nach 14 Stunden erkennt man hier distinkte, sehr zarte Kolonien von feuchtem Aussehen, die nach 24 Stunden einen Durchmesser von 1 mm und darüber erreichen und von breiig-schleimiger Konsistenz sind. Sie zeigen dann runde Form und glatten Rand, sind leicht kugelig erhaben und scheinen im durchfallenden Lichte im ganzen graugelblich durch, im Zentrum jedoch etwas gesättigter gelblich. Jüngere Kolonien weisen dagegen eine mehr grauweiße durchscheinende Farbe auf; bei schräg auffallendem Lichte ist die Farbe der konfluierenden Kolonien eine leicht bläulich irisierende. Kondenswasser ziemlich gleichmäßig getrübt, in ihm ein grauweißer Bodensatz. Bei 3—4 Tage alten Kulturen hat die einzelne Kolonie die Größe von 4—5 mm erreicht; an ihr hebt sich eine zentrale gelblich-graue Partie von einem helleren, durchscheinenden graulichen Hofe deutlich ab; Umrandung leicht wellenförmig. Die mikroskopische Untersuchung im Ausstrichpräparat ergibt, daß jene zentrale Partie zum größten Teil aus degenerierten Kokken besteht, während in der peripheren Zone die wohl erhaltenen Formen überwiegen.

Auf Blutplatten nach 2mal 24 Stunden Bildung gelblich-grauer Kolonien, um welche herum der Blutfarbstoff sich etwas retrahiert hat, aber keine deutliche Hämolyse erkennen läßt.

Gelatinestich: Um die Einstichöffnung bildet sich nach 36 Stunden ein schmaler grauweißer, leicht durchscheinender Ring von leicht welliger Kontur. Längs des Stichkanals kein Wachstum. Keine Verflüssigung.

Bouillon nach 24 Stunden gleichmäßig leicht getrübt, spärlicher graulicher Bodensatz. Beim Schütteln steigt vom Boden des Röhrchens eine zähe Wolke auf, die unter stärkerer Trübung der Flüssigkeit langsam wieder zu Boden sinkt. Keine Kahmhautbildung.

In der Ascitesbouillon etwas reichlicherer Bodensatz von grauweißer bis graugelblicher Farbe; sonst Verhalten ähnlich wie in Bouillon.

Milch: Nach 24 Stunden nicht koaguliert, Reaktion alkalisch. Wachstum sehr spärlich. Verhalten nach 3 Tagen gleich.

Auf Kartoffel ziemlich gutes Wachstum in Form eines grauweißen dünnen Rasens von trockenem Aussehen.

Traubenzuckeragar: Nach 24 Stunden ziemlich reichliches Wachstum von kleinen grauweißen bis graugelblichen, zum Teil konfluierenden Kolonien, die im durchscheinenden Lichte mehr gelblich erscheinen. Nach 4 Tagen Kolonien über stecknadelkopfgroß, rund. Kondenswasser gleichmäßig graulich getrübt.

Zuckeragarstich: Nach 2 Tagen spärliches Wachstum längs dem Stichkanal; um die Stichöffnung eine etwa 3 mm im Durchmesser messende grauliche Scheibe mit unregelmäßig gewellter Begrenzung und von leicht körnigem Aussehen.

2-proz. Peptonwasser: Nach 30 Stunden fast ganz klar; sehr spärlicher grauweißer Bodensatz, der beim Schütteln zu einer feinsten gleichmäßigen Trübung der Flüssigkeit führt.

In neutralroter Lackmusmolke sehr spärliches Wachstum.

Keine Gasbildung, ebenso keine Indolbildung.

Von den Zuckerarten wurden in jüngerer Generation nur Dextrose und Maltose vergärt, später konnte bei Wiederholung der Versuche auch eine Vergärung der Lävulose nachgewiesen werden. Ueber die Agglutinationsversuche wird im weiteren berichtet werden.

Wachstum am besten aërob, doch fand auch anaërob (Buchnersche Röhre) Wachstum statt, allerdings recht spärlich. Die Kokken gedeihen am besten bei 37° C, bei Zimmertemperatur (im Mittel 14° C) kein Wachstum. Kulturen, die $\frac{1}{2}$ Stunde bei 50° C gehalten wurden, konnten nicht mehr übertragen werden; ebenso solche, die 10 Minuten bei 60° C und 2 Minuten bei 70° C gehalten wurden; dagegen gelang die Uebertragung von Kulturen, die 36 Stunden lang — 10° C ausgesetzt worden waren. An sterile Deckgläschen angetrocknete und bei Bruttemperatur aufbewahrte Kulturabstriche erwiesen sich nach 36 Stunden als abgestorben.

Die Lebensdauer der Kokken ist sonst im ganzen keine große und erwies sich auch nicht konstant. Zu Anfang war eine 3—4-tägige Ueberimpfung notwendig, in der Folge jedoch konnten damit auch längere Intervalle abgewartet werden. So gelang in jüngeren Generationen die Uebertragung einer 20 Tage alten, bei Zimmertemperatur gehaltenen Peptonagarkultur, dagegen nicht einer solchen, die 35 Tage alt war; später wurde der Uebertragungsintervall immer kürzer, so sank er bei der XLII. Generation wieder auf 2—3 Tage, bis dann plötzlich jede Uebertragung, auch

auf sehr empfindlichen Nährböden, gänzlich mißlang und der Stamm ohne ersichtlichen Grund einging.

Tierversuche. Kaninchen, Meerschweinchen sowie weiße Mäuse erwiesen sich für intraperitoneale, intravenöse und subkutane Impfung unempfindlich. Hornhautimpfungen beim Kaninchen führten nur zur Bildung eines Hornhautinfiltrates, das bald wieder abheilte. Glaskörperimpfungen beim Kaninchen führten zu einer heftigen Entzündung des vorderen Augenabschnittes (Iritis, Exsudatbildung in der Vorderkammer) sowie zu Schwartenbildungen im Glaskörper; zur Phthisis bulbi kam es nicht. —

Fall III. 22. Juni 1909. Pol.-J. No. 2111. Reichenbach, Roman, 20 Jahre alt. Leichte Conjunctivitis catarrhalis beiderseits, Schwellung einzelner Follikel der Conj. palpebr. infer., sonst vollkommen normaler Befund. Im Sekret spärliche Xerosebacillen sowie zum Teil in Leukocyten eingeschlossene grampositive Diplokokken; daneben da und dort in kleineren Häufchen liegende gramnegative Diplokokken, die an einzelnen Stellen auch eine intracelluläre Lage erkennen lassen.

Es wurden Kulturen auf Blutserum und Ascitesagar angelegt. Es wachsen auf beiden, neben zahlreichen Kolonien von weißen Staphylokokken und Xerosebacillen, nach 16 Stunden 3—4 rundliche, grauweiße bis graugelbliche, opake Kolonien mit glattem Rand und flach erhaben; Durchmesser etwa 1 mm. Im Ausstrichpräparat erweisen sich diese Kolonien aus gramnegativen Diplokokken zusammengesetzt. Durch weitere Abimpfungen gelang es bald, dieselben in Reinkultur zu bekommen.

Morphologie. Im Sekretpräparat (vgl. Fig. 2) findet man ziemlich zahlreiche, semmelförmige Diplokokken, die teils vereinzelt, teils zu kleineren Haufen vereinigt liegen. Die Einzelglieder sind zum Teil sehr klein, zum Teil übertreffen sie an Größe die Gonokokken. Die Lagerung der Kokken ist im ganzen eine extracelluläre, an einigen wenigen Stellen dagegen sieht man sie in spärlichen Exemplaren innerhalb der in geringer Anzahl vorhandenen Leukocyten eingeschlossen.

In Präparaten von Reinkulturen ist die Morphologie dieses Keimes eine vielgestaltigere und wechselt sie, wie wir sehen werden, je nach der Beschaffenheit des Nährsubstrates.

In der 24-stündigen Peptonagarkultur findet man auf dem Ausstrich in der Hauptsache gut gefärbte Diplokokkenformen von fast durchweg gleicher Korngröße und etwa 0,6—0,65 μ Durchmesser. Ihre Form ist zum Teil semmelförmig, mit wenig ausgeprägtem Teilungsstrich, zum Teil ist sie mehr rundlich oder oval. Die Kokken liegen meist zu zweien oder auch in kleineren oder größeren Haufen, hier und da auch Andeutungen von Ketten, die jedoch nicht mehr als 4 Glieder aufweisen und bei denen der Teilungsstrich der Diploformen senkrecht zur Kettenachse steht. Neben den Kokkenformen findet man spärliche (in einem Gesichtsfeld etwa 1—2) fadenartige Bildungen, die teils mehr gestreckt, teils mehr gekrümmt und gramnegativ gefärbt sind (vgl. Fig. 3, c). Ihre Breite ist gleich derjenigen der Kokken, die Länge ist verschieden und beträgt 1,5—4—6 μ . Besieht man sich nun ein Präparat vom Kondenswasser derselben Kultur, so ist das Bild ein total verschiedenes. Hier sieht man neben spärlichen, gut gefärbten Kokkenformen viele bacilläre Individuen, die meist zu zweien liegen und vielfach an Diplobacillen erinnern. Ihre Breite ist etwas größer als diejenige der Kokken und ihre Länge erreicht diejenige der Diplobacillen oder bleibt manchmal auch darunter. Die Bacillen sind meist gut gefärbt und lassen abgerundete, selten etwas mehr zugespitzte Enden erkennen, so daß daraus ein mehr an Pneumokokken erinnerndes Bild resultiert. In jüngeren, etwa 10 Stunden alten Kulturen trifft man das gleiche Verhalten an; in älteren Kulturen scheinen die Kokkenformen vorzuherrschen.

In der 24-stündigen Blutserumkultur trifft man sowohl im Kondenswasser als auch auf dem festen Ausstrich ein Ueberwiegen der bacillären Formen; das Alter der Kultur ändert nichts an diesem Befund.

Auch in Bouillon, Milch und Peptonwasser findet man vorwiegend bacilläre Formen neben spärlichen Diplokokken (vgl. Fig. 3, d).

Auf Ascitesagar und Glycerinagar wiederholt sich der gleiche Befund wie auf Peptonagar.

Im Herzblut von weißen Mäusen sieht man spärliche, zum Teil blaß gefärbte Diplokokkenformen neben zahlreichen plumpen, bacillären Individuen. In der Milz derselben Tiere kommen beide Formen in großer Anzahl und untereinander gemischt vor.

In der Ascitesagarkultur aus dem Herzblut einer weißen Maus trifft man auf dem festen Ausstrich ausschließlich die Kokkenform an (das Kondenswasser wurde leider nicht untersucht).

Auf den Zuckernährböden begegnet man nach Eintritt der Vergärung neben Diplokokkenformen sehr spärlichen bacillären Formen und fadenartigen Bildungen.

Auffallend ist das geringe Hervortreten von Degenerationserscheinungen in Präparaten von älteren Kulturen.

Die Färbbarkeit der Kokken mit den üblichen Farbstoffen war normal, nach Gram trat prompte Entfärbung ein. Eine Kapselbildung konnte nicht festgestellt werden. Im hängenden Tropfen zeigten sich an den Kokken keine Eigenbewegung.

Kulturelles Verhalten.

Die Kokken sind in bezug auf Nährböden sehr anspruchslos und wachsen ausnahmslos auf allen Nährböden von vornherein sehr gut und rasch.

Auf Peptonagar sieht man schon nach 10 Stunden fast in der ganzen Ausdehnung des Ausstriches feinste, eben noch sichtbare tautropfenartige Kolonien, die zum Teil miteinander konfluieren und auf dem Agar ein schmales, saftiges, leicht irisierendes Band darstellen. Nach 24 Stunden sehr üppiges Wachstum. Kolonien rund, scharf abgegrenzt, etwa 1—3 mm im Durchmesser, sind leicht erhaben und zeigen im auffallenden Lichte ein graues, im durchfallenden ein trübes, graugelbliches Aussehen; starke Irisierung. Kondenswasser leicht getrübt, auf dem Boden des Reagenzröhrchens ein grauweißlicher Bodensatz. Nach 36 Stunden Trübung des Nährsubstrates. Kolonien 2—4 mm breit, lassen eine zentrale gelblich-graue, trübe Partie erkennen, die von einem schmalen, helleren und durchscheinenden Hofe umgeben ist; bei stärkerer Vergrößerung bemerkt man um diesen Hof eine Art Strahlenkranz, der aus feinen, durchscheinenden, leicht unregelmäßigen Fortsätzen zusammengesetzt wird.

Auf Glycerinagar ähnliches Verhalten wie auf dem vorhergehenden.

Ascitesagar: Sehr üppiges Wachstum; stärkere Trübung des Nährsubstrates, besonders in der Umgebung der Impfstelle; Verhalten der einzelnen Kolonien im übrigen wie bei den vorhergehenden. Auch hier starkes Irisieren im durchfallenden Lichte.

Blutserum: Nach 14 Stunden gutes Wachstum von rundlichen Kolonien vom beschriebenen Typus. Kondenswasser leicht gleichmäßig getrübt. Nach 36 Stunden Nährboden leicht uneben, besonders im untersten Teil des Röhrchens. Kulturstrich auf niveau des Nährsubstrates, ist nur an seiner graulichen Farbe als solcher erkenntlich. Am 3. Tage Blutserum deutlich gelöst; Nährboden ungleichmäßig, ist an der Stelle des Impfstiches und auch sonst da, wo noch Kolonien aufgegangen sind, deutlich eingesunken, uneben. Kondenswasser sehr stark und gleichmäßig weißlich-grau bis gelblich getrübt.

Traubenzuckeragar zeigt schon nach 10 Stunden deutliches Wachstum von feinsten, rundlichen Kolonien vom gleichen Aussehen wie beim Peptonagar. Nach 24 Stunden Kolonien 0,5—1 mm breit, zeigen im durchfallenden Lichte einen mehr gelblichen Farbenton; auch hier starkes Irisieren. Im leicht getrühten Kondenswasser ein feiner graugelblicher Bodensatz, der sich beim Schütteln gleichmäßig verteilt.

Gelatinestich: Nach 12 Stunden hat sich die Gelatine um die Einstichöffnung zu einer ganz seichten Delle eingezogen. Um die Einstichstelle eine graue, etwa 2—3 mm breite rundliche Scheibe mit etwas unregelmäßiger Begrenzung. Das Wachstum erstreckt sich weit in den Stichkanal hinunter, der eine schmale graue Linie darstellt, welche sich im obersten Teil zu einer breiteren, schleierartigen, graulichen Trübung verbreitert. Nach 2 Tagen oberster Teil der Gelatine vollkommen verflüssigt und wolkenartig, grau getrübt. In dieser Trübung sowie längs des Stichkanals einzelne dichtere, punktförmige Trübungen. Zwischen dem 6. und 8. Tage meist vollständige Auflösung und Trübung der Gelatine. In viel älteren Generationen Verflüssigung auffallend langsamer.

Auf Blutplatten gutes Wachstum von grauweißlichen Kolonien; um sie herum breiter, unregelmäßiger Hof, innerhalb dessen der Blutfarbstoff aufgelöst ist.

Bouillon: Nach 24 Stunden feine, gleichmäßige Trübung. Auf dem Boden des Röhrchens ein dichter, grauweißlicher Niederschlag, der sich beim Schütteln in Form einer dichten Wolke aufwirbeln läßt, die sich zu einer gleichmäßigen Trübung verteilt. In den folgenden Tagen Zunahme der Trübung.

Zuckeragarstich: Nach 24 Stunden mäßiges Wachstum um den Stichkanal in Form einer kleinen, rundlichen Scheibe von graulicher Farbe. Längs des Stichkanals leichte Trübung. Am 3. Tage Einstichstelle leicht kesselförmig eingezogen, Wachstum etwas stärker sowohl in deren Umgebung als auch längs des Stichkanals.

2-proz. Peptonwasser nach 24 Stunden gleichmäßig fein getrübt. Auf dem Boden des Röhrchens grauweißlicher Satz, der sich beim Schütteln homogen verteilen läßt. Trübung am 3. Tage ziemlich stark, aber gleichmäßig.

Milch: Gutes Wachstum; nach 24 Stunden Aussehen unverändert. Am 2. Tage Milch dickflüssig, zeigt reichlich Kaseinflocken; saure Reaktion. Am 4. Tage deutliche Koagulation und stark saure Reaktion.

Neutralrote Lackmusmolke: Nach 48 Stunden feine, gleichmäßige Trübung und spärlicher Bodensatz. Reaktion anscheinend unverändert.

Kartoffel: Reichliches Wachstum. Nach 24 Stunden längs dem Kulturstrich Bildung eines grau bis graugrünlichen, dichten Rasens von saftigem Aussehen.

Gasbildung nicht nachweisbar, ebenso fehlen Indol- und Schwefelwasserstoffbildung. In Kulturen Entwicklung eines putriden Geruchs. Von den Zuckerarten wurde keine einzige unvergärt gelassen; darauf sowie auf die Agglutinationsprobe soll später noch zurückgekommen werden.

Wachstum auch anaërob (Buchnersche Röhren) gut. Die Kokken wachsen bei Bruttemperatur (37° C) am besten, doch gedeihen sie auch bei Zimmertemperatur (14° C) ganz gut, wenn auch etwas langsamer.

Gegen höhere Temperaturen verhalten sich die Kulturen folgendermaßen: 50° C wurde 1½ Stunde gut vertragen, 60° C 1 Stunde, 70° C 10 Minuten, bei 80° C starben die Kokken nach 1 Minute. Was niedere Temperaturen anbetrifft, so wurden — 10° C 36 Stunden lang gut vertragen.

Auch gegen Austrocknung sind die Kokken sehr widerstandsfähig; 48 Stunden lang an Deckgläser angetrocknete Kulturen ließen sich nach Anfeuchtung ganz gut übertragen.

Die Lebensdauer der Kulturen ist eine sehr große; es ließen sich Kulturen, die bei Bruttemperatur gehalten wurden und bei denen das Kondenswasser zum Teil ganz eingetrocknet war, noch nach 72 Tagen weiter verimpfen.

Pathogenität. Für weiße Mäuse erwies sich dieser Stamm ziemlich stark virulent; so gingen mit 0,2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur intraperitoneal geimpfte Tiere unter Durchfall innerhalb von weniger als 24 Stunden zugrunde. In der Peritonealhöhle wurde bei der Sektion kein eitriges, sondern nur seröses Exsudat gefunden; die Milz war vergrößert und stark hyperämisch. Sowohl in dem Herzblute als auch in der Milz waren reichlich gramnegative Diplokokken nachweisbar, die bei der Ueberimpfung auf Agar in Reinkultur wuchsen. Auffallend war in den Ausstrichpräparaten der Milz das Vorkommen von mehr bacillären Formen vom gleichen Typus wie in Bouillonkulturen. Mit noch schwächeren Dosen geimpfte Mäuse erkrankten ziemlich schwer an Durchfall und Appetitlosigkeit, gingen jedoch nicht ein.

Bei Meerschweinchen trat nach intraperitonealer Einspritzung von 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur unter Auftreibung des Leibes, Benommenheit und lähmungsartiger Schwäche der Hinterbeine nach 2 Tagen der Exitus ein. Die Sektion ergab in der Bauchhöhle nur seröses Exsudat, außerdem Hyperämie und Vergrößerung der Milz. Aus dem Herzblute wurden Reinkulturen von gramnegativen Diplokokken erzielt; die Kokken fanden sich auch reichlich in der Milz. Schwächere Dosen erwiesen sich nicht pathogen.

Kaninchen waren für subkutane, intraperitoneale und intravenöse Impfung unempfindlich (2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur).

Durch Tierpassage scheint jedoch eine Steigerung der Virulenz einzutreten: Ein mit 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur, die aus dem Herzblute eines Meerschweinchens gewonnen wurde, in die Ohrvene gespritztes Kaninchen ging nach kaum 24 Stunden unter lähmungsartigen Erscheinungen zugrunde. Im Herzblute waren keine Kokken nachweisbar, dagegen in Milz und Nieren. Weitere Versuche in dieser Richtung wurden aus äußeren Gründen nicht vorgenommen.

Einspritzungen von Bouillonkultur in die Hornhaut sowie in die Vorderkammer des Kaninchens führten zu Hornhautinfiltraten sowie zu Iritis, aber ohne Hypopyon. Subconjunctivale Einspritzung von 0,1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur erzeugte bloß eine Schwellung und Rötung der Bulbusconjunctiva, die in der Folge bald ganz zurückging. Einbringung von 0,2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in den Glaskörper des Kaninchens rief Exsudatbildung in der Vorderkammer und Iritis hervor, außerdem Bildung von Exsudatmassen im Glaskörper, die in der Folge ohne heftigere Erscheinungen fast ganz zurückgingen oder zur Bildung von Glaskörperschwarten führten. Wiederholungen der Versuche ergaben ähnliche Resultate. Auch in höheren Generationen hat der Stamm seine Virulenz fast unverändert beibehalten: Eine mit 0,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur (LVI. Generation) gespritzte Maus ging nach 24 Stunden ein.

Impfversuche mit einer Oese einer 24-stündigen Bouillonkultur auf meiner eigenen Conjunctiva wurden reizlos vertragen.

Bevor wir an eine nähere Klassifizierung der drei beschriebenen Stämme herangehen, sei mir der besseren Uebersicht wegen gestattet, nachstehend die Befunde noch einmal in der Hauptsache zusammenzustellen (s. Tabelle I).

Differentialdiagnostisch kommen, wie bereits eingangs erwähnt wurde, hauptsächlich der *Gonococcus*, der *Meningococcus* und der *Micrococcus catarrhalis* in Betracht; des weiteren soll dann noch anderer gramnegativer Diplokokken gedacht werden.

Tabelle I.

Stamm	Kapselbildung	Wachstum	Wachstum bei Zimmertemperatur	Wachstum auf Loefflers Blutserum	Wachstum auf Blutplatten	Verflüssigung der Gelatine	Bouillon	Milch	Sporenbildung	Farbstoffbildung auf der Agarstrichkultur	Indolreaktion	Gasentwicklung
Koch	—	fakultativ aërob	+	ohne Verflüssigung	keine Hämolyse	—	flockige Trübung, Häutchenbildung	alkalisch, nicht koaguliert	—	graugelblich	—	—
Schmidt	—	fakultativ aërob	—	ohne Verflüssigung	keine Hämolyse	—	schwache Trübung	alkalisch, nicht koaguliert	—	gelblich bis grauweißlich	—	—
Reichenbach	—	fakultativ aërob	+	unter Verflüssigung	Hämolyse	+	starke Trübung	sauer, koaguliert	—	graugelblich, stark irisierend	—	—

Verhalten gegenüber dem Gonococcus.

Zieht man zunächst die morphologischen Merkmale in Betracht, so findet man im Sekretpräparat bei allen drei beschriebenen Stämmen gonokokkenähnliche, meist zu zweien liegende Keime, die in wechselnder Anzahl anzutreffen sind. Es fällt jedoch in allen Präparaten das spärliche Vorkommen von Eiterzellen auf, besonders von solchen, die, wie bei der Gonorrhöe, mit gramnegativen Diplokokken vollgepfropft sind; und trifft man auch in einzelnen Gesichtsfeldern sehr zahlreiche solcher Keime, so liegen sie vornehmlich außerhalb der Zellen; schon hierin hat man, wie Brons (l. c. p. 12) bereits bemerkt, an eine parasitäre Erscheinung zu denken. Wir müssen daher in solchen Fällen eine Gonokokkeninfektion von vornherein für sehr unwahrscheinlich halten.

Nicht so leicht gelingt dahingegen die Unterscheidung an Präparaten von Reinkulturen. Sowohl beim Gonococcus als auch bei unseren Stämmen trifft man in dieser Beziehung die bekannten Semmelformen, die teils in Diplo-, teils in Tetraform zusammenliegen und vielfach, namentlich in älteren Kulturen, Degenerationserscheinungen erkennen lassen. Immerhin muß man sagen, daß die Korngröße bei unseren Stämmen im allgemeinen nicht so konstant ist, wie man es beim Gonococcus beobachten kann. Leicht gelingt die Differentiation des Stammes Reichenbach vom Gonococcus bei Betrachtung von jungen und von flüssigen Kulturen, z. B. von Bouillon, in denen jener eine bacilläre Form annimmt; die Unterscheidung fällt aber auch an Präparaten von festen Kulturen nicht schwer, wenn man auf jene fadenartigen Bildungen trifft, die bei Reichenbach beschrieben wurden.

Kulturell gestaltet sich die Differentialdiagnose bedeutend einfacher. Stamm Koch unterscheidet sich vom Gonococcus schon dadurch, daß er schon von der ersten Generation an ganz gut auf allen gebräuchlichen Nährböden gedeiht, ein Verhalten, das der Gonococcus nie zeigt; ebensowenig wie er bei Zimmertemperatur wächst, was ja bei Stamm Koch der Fall war. Die Lebensfähigkeit des Gonococcus ist, wie bekannt, eine sehr geringe, namentlich beim Aufbewahren bei niedrigeren Temperaturen als 37° C, unser Stamm Koch dagegen war

auch bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur noch nach mehr als 2 Monaten übertragbar. Auch die große Sterblichkeit des *Gonococcus* nach Austrocknung kontrastiert mit der großen Resistenz des Stammes Koch gegen dieselbe.

Ganz verschieden verhalten sich auch gleich alte Kulturen. Beim *Gonococcus* kleine durchsichtige, graue Kolonien von viszider Beschaffenheit und schleimiger Bodensatz im Kondenswasser, das sich beim Schütteln gleichmäßig trübt; beim Stamm Koch dagegen opake, gelblich-graue, ziemlich große Kolonien von bröckeliger, trockener Beschaffenheit und im Kondenswasser ein bröckeliger Bodensatz, der beim Schütteln sich nicht homogen verteilen läßt.

Während der Stamm Koch schon durch die wenigen, eben angeführten kulturellen Merkmale ganz scharf vom *Gonococcus* zu differenzieren ist, gilt dies nicht desgleichen für den Stamm Schmidt. Bei diesem Keim gelang zu Anfang die Züchtung auf gewöhnlichen Nährböden kaum oder gar nicht; er gedieh nur auf eiweiß- und serumhaltigen Substraten, und erst von der XXII. Generation an trat eine Gewöhnung an die üblichen Nährböden ein. Von da an jedoch war das Wachstum auch auf diesen Mitteln ein sehr gutes und leichtes; es kontrastiert dieses Verhalten mit demjenigen des *Gonococcus*, der allerdings in späteren Generationen ebenfalls auf serumfreien Nährböden weiter gedeihen kann, aber dann doch ein unsicheres und kümmerliches Wachstum aufweist [Wildholz (37)]. Auf Rinderblutserum konnten Brons (l. c. p. 13) und andere Autoren kein Wachstum erzielen; bei meinem Stamm war ein Wachstum, wenn auch in bescheidenem Maße, doch deutlich nachweisbar, und würde dies mit dem Befund Groenows (16) im Einklang stehen. Auch das Fehlen von Wachstum bei Zimmertemperatur bringt den Stamm Schmidt in nähere Beziehung zum *Gonococcus*, mit welchem er auch das Fehlen von Wachstum in der Milch gemeinsam hat. Dagegen werden beide getrennt durch die längere Uebertragbarkeit des Stammes Schmidt (sie nahm allerdings später wieder immer mehr ab) und durch sein Wachstum in Bouillon und auf Kartoffeln. Gegenüber dem bereits beschriebenen Aussehen der Gonokokkenkolonien auf Ascitesagar zeigt der Stamm Schmidt durchscheinende, graugelbliche bis gelbliche, nach 24 Stunden 1—1½ mm breite, feuchte Kolonien, die bei auffallendem Lichte leicht irisieren und in der Folge eine zentrale gelblich-graue Partie und einen helleren, graulichen Hof zeigen, dessen Umrandung wellenförmig ist. Weitere wichtige Unterscheidungsmerkmale ergeben sich aus dem später zu besprechenden Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten. Dies gilt auch für den Stamm Reichenbach, der sich außerdem durch sein anaërobes Wachstum, die Verflüssigung des Blutserums sowie durch sein gutes Gedeihen auf allen Nährböden und seine kolossale Resistenzfähigkeit und Lebensdauer leicht vom *Gonococcus* unterscheiden läßt.

Verhalten gegenüber dem Meningococcus.

Der Befund von Weichselbaumschen Meningokokken auf der Conjunctiva von Meningitiskranken und ihrer Umgebung ist sehr selten: abgesehen von einigen in der Literatur vorhandenen, nicht ganz einwandfreien Fällen besitzen wir solche, die kulturell einwandfrei festgestellt sind; so diejenigen von Gabrielidès (13), Canby Robinson (9), Hibler, II. Fall (18) und die neueren von Mac Kee (26, 27) und von Stoevesandt (34).

Der strikte kulturelle Nachweis des *Meningococcus* ist deshalb unbedingt notwendig, als wir wissen, daß nicht jeder auf der Bindehaut von Meningitiskranken gefundener gramnegativer *Diplococcus* ein echter *Meningococcus* ist. Brons (l. c. p. 6) fand im Sekret der leichten Conjunctivitis eines Genickstarrekranken, bei dem aus der Cerebrospinalflüssigkeit echte Meningokokken sich züchten ließen, gramnegative, typisch geformte Diplokokken, sie sich kulturell als *Micrococcus catarrhalis* zu erkennen gaben. Mac Kee (26) beobachtete in 7 Fällen von epidemischer Cerebrospinalmeningitis Augenkomplikationen und zwar 1mal metastatische Ophthalmie und 6mal eine Conjunctivitis; in zwei von letzteren Fällen konnten Meningokokken gezüchtet werden, während in 3 Fällen der *Diplococcus catarrhalis* gefunden wurde.

Viel seltener ist dagegen das Vorkommen von Meningokokken im Bindehautsack gesunder Menschen, die nachweislich nicht mit Meningitiskranken in Berührung gekommen sind. Der erste sichere Nachweis eines solchen Falles ist von Brons (6) geführt worden. Bei einem 11 Wochen alten, an Keratomalacie leidenden Kinde fanden sich neben typischen Pneumokokken Weichselbaum'sche Meningokokken, die durch Kultur, Morphologie, Agglutination und Verhalten gegenüber den Zuckernährböden sichergestellt wurden und die fast 2 Wochen lang im Conjunctivalsack nachweisbar waren. Mac Kee (27) teilt in neuester Zeit mit, daß er von der ganz gesunden Conjunctiva eines Knaben, der sich eine Brille verschreiben lassen wollte, zufällig einen echten *Meningococcus* züchten konnte.

Diese Befunde sind insofern sehr interessant, als die dartun, daß echte Meningokokken in seltenen Fällen auch bei völlig Gesunden vorkommen können. Es würde dies eine Parallele zum allerdings nicht sicher erwiesenen Befund dieses Keimes im Nasenrachenraum Gesunder bilden. Mayer (29) meint zwar, diesen Beweis erbracht zu haben; aber abgesehen davon, daß die Agglutinationsprobe nicht immer die gewünschte Höhe erreichte, gibt er an, daß seine Stämme sich gegenüber den Zuckernährböden verschieden verhalten hätten. Es ist daher zum mindesten zweifelhaft, daß es sich dabei um echte Weichselbaum'sche Meningokokken gehandelt habe. Wir müssen daher, den Ausführungen Axenfelds (l. c. p. 205) folgend, vorläufig daran festhalten, daß das Vorkommen echter Meningokokken auf der Schleimhaut gesunder Menschen (abgesehen von solchen aus der Umgebung von Meningitiskranken) einen recht seltenen Befund darstellt, aber doch sicher vorkommt.

Bekanntlich unterscheidet sich der *Meningococcus* im Sekretpräparat kaum vom *Gonococcus*, so daß ich in dieser Beziehung für die Stämme Koch und Reichenbach, um Wiederholungen zu vermeiden, auf das bei diesem Keim bereits Gesagte hinweise. Dasselbe gilt für diese beiden Stämme in bezug auf das morphologische Aussehen in Reinkulturen, nicht aber für den Stamm Schmidt.

Bei diesem trifft man in solchen Präparaten, ebenso wie beim *Meningococcus*, neben Diploformen auch Tetraden und Monoformen, außerdem fällt an beiden die deutliche Schwankung in der Korngröße sowie das Auftreten von frühen Degenerationserscheinungen auf.

Zu dieser morphologischen Verwandtschaft kommen noch nahe kulturelle Beziehungen hinzu. Unser Stamm Schmidt gedieh in den ersten Generationen, ähnlich wie dies von Weichselbaum (36), Albrecht und Ghon (2), v. Lingelsheim (24), Hibler (l. c.) und Brons (l. c. p. 16) für den *Meningococcus* festgestellt worden ist, nur auf Blutserum- und Ascitesnährböden; erst von der XXII. Generation

an fand auch auf gewöhnlichem Agar Wachstum statt. Für den Meningococcus wurde dieses Verhalten vielfach schon von der VI. Generation an beobachtet; ob dies etwa auch bei unserem Stamm der Fall hätte sein können, läßt sich nicht sagen, da diesbezügliche dazwischenliegende Versuche nicht unternommen wurden.

Vergleicht man nun gleich alte Ascitesagarkulturen, so findet man bei beiden runde, leicht erhabene Kolonien mit glattem Rande und von breiiger Konsistenz. Die Farbe derselben wird für den Meningococcus als hellgrau durchscheinend angegeben (Brons), von anderer Seite wiederum als schmutzig-gelb (v. Lingelsheim); unser Stamm besitzt mehr graugelbliche, im Zentrum etwas mehr gelblich durchscheinende Kolonien. Jüngere, weniger als 24 Stunden alte Kolonien haben einen mehr grauweißlichen Farbenton, der bei schräg auffallendem Lichte mehr ins Bläuliche, Opaleszierende übergeht; letzteres Verhalten steht im Einklang mit den Angaben von Mac Kee (27). In bezug auf das Kondenswasser bestehen keine Differenzen.

Während sich beim Meningococcus in der Bouillonkultur an der Oberfläche eine Kahmhaut bildet (Weichselbaum, Brons, l. c.), konnte ich dies beim Stamm Schmidt auch bei peinlichster Vermeidung jeglicher Erschütterung nicht beobachten; dagegen war eine leichte Trübung der Bouillon zu erkennen, die beim Schütteln durch homogene Verteilung des vorhandenen zähen Bodensatzes gleichmäßig zunahm.

Nach den Angaben von Brons (l. c. p. 17) gedeihen die Meningokokken auf Gelatine und auf Kartoffeln nicht. Bei Stamm Schmidt konnte ich auf beiden Nährmitteln ein allerdings spärliches, aber doch deutliches Wachstum nachweisen, die Gelatine wurde nicht verflüssigt, und würde dies mit den Angaben von Weichselbaum (l. c. p. 270) und v. Lingelsheim (l. c.) übereinstimmen. Beide Arten wachsen spärlich in der Milch, die nicht koaguliert wird und alkalische Reaktion zeigt.

In bezug auf die Lebensdauer des Meningococcus machen die Autoren fast ganz übereinstimmende Angaben. Im allgemeinen gehen seine Kulturen in den ersten Generationen innerhalb von 24—48 Stunden ein (Weichselbaum, v. Lingelsheim, Brons, Mac Kee), in der Folgezeit kann mit der Gewöhnung an das saprophytische Wachstum die Haltbarkeit eine größere werden (v. Lingelsheim); nach diesem Autor halten sich Stämme, die schon an den gewöhnlichen Agar angepaßt sind, ohne jede weitere Vorsichtsmaßregel durchschnittlich 1 Woche; viel länger, 4 Wochen und mehr, bleiben die Kulturen auf den flüssigen Nährböden übertragbar, nach Brons sogar auch auf festen Substraten. Noch länger gelingt die Uebertragung, wenn man die Kulturen immer bei Bruttemperatur hält und sie vor Austrocknung schützt (Albrecht und Ghon, l. c.) oder andere Vorsichtsmaßregeln trifft [Bonhoff (4)]. Dagegen gehen bei Zimmertemperatur aufbewahrte Kulturen meist schon nach wenigen Tagen und bei niedrigerer Temperatur noch schneller ein (Weichselbaum). Demgegenüber führt Hibler (l. c.) an, daß er in einem Falle von Cerebrospinalmeningitis aus der Exsudatflüssigkeit vom Subduralraum, die innerhalb zugeschmolzener Kapillarpipetten im Dunkeln bei 14—20° C aufbewahrt wurde, den Meningococcus noch nach 8, sogar nach 12, nicht mehr jedoch nach 22 Tagen züchten konnte.

Beim Stamm Schmidt ließ sich die Ueberimpfung einer bei Zimmertemperatur gehaltenen Agarkultur nach 3 Wochen, aber nicht mehr nach 35 Tagen bewerkstelligen, er weicht also hierin vom Meningo-

coccus ab. Wachstum bei Zimmertemperatur fand nicht statt. Gegen Austrocknung und höhere Temperaturen erwies sich der Stamm Schmidt ebensowenig widerstandsfähig, wie es auch für den Meningococcus angegeben wird. Dagegen ließen sich feste Kulturen jenes Stammes, die 36 Stunden lang bei -10°C gehalten worden waren, ganz gut überimpfen. Nach Weichselbaum (l. c. p. 271) soll der Meningococcus gegen niedere Temperaturen besonders empfindlich sein; dies steht jedoch im Widerspruch mit dem Resultat v. Lingelsheims, der nach 2-stündigem Halten von Kulturen bei -10°C und -20°C und nachherigem langsamen Auftauenlassen noch üppige Kulturen erzielen konnte.

Bezüglich des Verhältnisses zum Sauerstoff geben alle Autoren übereinstimmend an, daß der Meningococcus obligat aërob ist, hierin weicht Stamm Schmidt von ihm ab, der, wenn auch spärlich, doch auch anaërob (in Buchnerschen Röhren) Wachstum zeigte. Weitere Unterschiede ergeben sich zwischen beiden Diplokokkenarten aus dem Verhalten gegenüber den Zuckernährböden und der Agglutinationsprobe.

Die Herstellung der Zuckernährböden wurde nach den Angaben v. Lingelsheims (l. c. p. 410) vorgenommen. Die Resultate sind aus der Tabelle II ersichtlich.

Tabelle II.
Vergärung von Zuckernährböden.

Stamm	Dextrose	Lävulose	Galaktose	Maltose	Mannit	Rohrzucker	Milchzucker	Inulin
Meningococcus (Stamm Gelsenkirchen)	+	0	0	+	0	0	0	0
Gonococcus Schmidt	+	0	0	0	0	0	0	0
Koch	0	0	0	0	0	0	0	0
Reichenbach	+	+	+	+	+	+	+	+

Es bedeutet: + Vergärung, +' schwache, 0 keine Vergärung.

v. Lingelsheim (l. c.) und Brons (l. c.) fanden übereinstimmend, daß der Gonococcus nur Dextrose und der Meningococcus Dextrose und Maltose vergärt; in bezug auf den von mir untersuchten Meningokokkenstamm Gelsenkirchen kam ich zu dem gleichen Resultat, wie jene Autoren; Gonokokkenstämme habe ich dagegen nicht geprüft (das in der Tabelle aufgeführte Resultat ist der Bronsschen Tabelle, l. c. p. 18 entnommen).

Bei Stamm Schmidt fand ich bei der ersten Prüfung, daß er nur Dextrose und Maltose, bei zwei weiteren Prüfungen mit älteren Generationen dagegen auch Lävulose in etwas geringerem Maß vergärt. Ob da bei der ersten Untersuchung irgendein Fehler mitunterlaufen ist, läßt sich nicht sagen; es ist aber andererseits auch nicht ausgeschlossen, daß hierin eine Variabilität zwischen den einzelnen Generationen vorkommen kann¹⁾, und ist daher bei solchen Untersuchungen auf diesen Punkt zu achten.

1) In dem Ruataschen Fall (l. c. p. 16) kam die Vergärung für Galaktose, Maltose und Mannit erst am 5. Tag zum Vorschein, so daß auch hierauf Rücksicht

Zur Vornahme der Agglutinationsversuche wurden Kochsalzaufschwemmungen benutzt, die Reaktion wurde in Widalschen Schalen angestellt. Bei der Zubereitung der Aufschwemmungen fiel auf, daß während sich die Stämme Gelsenkirchen, Schmidt sowie Reichenbach in eine gleichmäßige Suspension bringen ließen, dies beim Stamm Koch nicht möglich war. Hier entstand immer, ähnlich dem Befunde in der Bouillonkultur und im Kondenswasser der übrigen Kulturen, eine flockige Suspension, die sich mikroskopisch aus einer Zusammenballung der einzelnen Diplokokken erklärte. Auf diese Spontanagglutination, die bereits von Brons (l. c. p. 18) beobachtet worden ist, wird später noch zurückgekommen werden. Zu den Versuchen wurde ein beim Kaninchen durch passive Immunisierung mit dem Meningokokkenstamm „Gelsenkirchen“ erhaltenes Serum verwandt; die Reaktion selbst wurde in Widalschen Schalen angestellt und sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch verfolgt. Das Resultat dieser Versuche ist aus der Tabelle III ersichtlich.

Tabelle III.

Meningokokken A.-S. „Gelsenkirchen“ Verdünnung	Meningokokken- stamm „Gelsenkirchen“	Stamm Koch	Stamm Schmidt	Stamm Reichenbach
1:20	+	Spontan- agglutination	0	+
1:40	+		0	+'
1:80	+		0	+''
1:160	+		0	?
1:320	+		0	0
Kontrolle mit NaCl-Lösung	0		0	0

Es bedeutet 0 keine, + deutliche, +' schwache, +'' sehr schwache, +''' kaum erkennbare Agglutination.

Um das Resultat dieses Versuchs zu kontrollieren, haben wir die Wirkung der durch Immunisierung von Kaninchen mit den Stämmen „Gelsenkirchen“, Schmidt und Reichenbach erhaltenen Antisera (A.-S.) auf den Meningokokkenstamm Gelsenkirchen geprüft; zum Versuche wurde 0,5 ccm einer mit Kochsalz aufgeschwemmten Bakterienkultur benutzt, die, wie in der Tabelle IV angegeben, in 5 verschiedenen Verdünnungen geprüft wurde.

Tabelle IV.

Bakterienaufschwemmung „Gelsenkirchen“ in der Ver- dünnung von	Meningokokken- A.-S.	Schmidt A.-S.	Reichenbach A.-S.
1:20	+	+''' (?)	+'
1:40	+	?	+'
1:80	+	0	+'
1:160	+	0	+''
1:320	+'	0	0
Kontrolle mit Kochsalzlös.	0	0	0

Aus beiden in Tabelle III und IV angeführten Versuchen geht deutlich hervor, daß der Stamm Schmidt sich in Beziehung auf das Agglutinationsvermögen gegenüber dem Meningococcus ganz negativ verhält.

zu nehmen ist. Bei meinem Stamm änderte sich das Resultat auch nach mehrtägiger Beobachtungsdauer nicht.

Wir haben daher, kurz zusammengefaßt, gefunden, daß Stamm Schmidt morphologisch sowie kulturell sich fast ganz analog verhält, wie ein echter Meningococcus; dasselbe gilt auch, wie wir hier noch einmal anführen wollen, in Hinsicht auf die Pathogenität. Unser Stamm erwies sich nicht tierpathogen, und stimmt dies mit dem Befund der meisten Autoren in bezug auf den Meningococcus. v. Lingelsheim und Leuchs (25) fanden allerdings, daß ihre Meningokokken für Meer-schweinchen pathogen waren; jedenfalls scheint die Pathogenität nicht sehr hoch gewesen zu sein; denn erst nach intraperitonealer Einverleibung von drei Normalösen Kultur gingen die Tiere ein. In bezug auf das Sauerstoffbedürfnis, auf das Vergärungsvermögen sowie auf das Agglutinationsverhalten dagegen bestehen zwischen beiden deutliche Unterschiede. Aus den sorgfältigen Untersuchungen zahlreicher Autoren, so von Albrecht und Ghon (l. c.), Weichselbaum (l. c.), v. Lingelsheim (l. c.), geht hervor, daß die echten Meningokokken eine große Konstanz ihrer morphologischen und biologischen Eigenschaften haben, so daß die Abweichungen des Stammes Schmidt von diesem Verhalten keine Erklärung in etwaigen Schwankungen seiner Wachstumseigentümlichkeiten finden dürfte. Erwägt man dazu noch, daß bei unserem Patienten irgend ein Kontakt mit Meningitiskranken nicht zu eruieren war, so können wir eine Zugehörigkeit unseres Stammes Schmidt zu den Meningokokken, wenigstens nach dem heutigen Stand der Frage, nicht annehmen.

Verhalten gegenüber dem Micrococcus catarrhalis.

Neben den Gonokokken und den Meningokokken gibt es eine dritte Gruppe gramnegativer Diplokokken, deren Hauptrepräsentant der von Pfeiffer entdeckte Micrococcus catarrhalis ist. Er wird vornehmlich in der Nasen- und Rachenhöhle angetroffen, sowie auch in katarrhalischen Absonderungen, gelegentlich aber ist er auch im Bindehautsekret gefunden worden. Die genauesten Beobachtungen über diesen Keim besitzen wir von Ghon, Pfeiffer und Sederl (15), ferner von v. Lingelsheim (l. c.), sowie von Brons (l. c.).

Dieser letztere Autor gibt folgende, für diesen Keim charakteristische Merkmale an:

Streng gramnegative, gonokokkenähnliche Diplo- oder Tetrakokken, die meist etwas plumper sind als der Neissersche Gonococcus; sie liegen im Sekretpräparat meist extracellulär oder seltener in spärlichen Exemplaren auch intracellulär. Zwischen den Einzelindividuen bestehen oft auffallende Größenunterschiede. In Präparaten von Reinkulturen plumpere Formen in Diplo- oder Tetraform, nie Kettenbildung; in älteren Kulturen viele Degenerationsformen.

Gutes Wachstum auf allen Nährböden, auch bei Zimmertemperatur. Anaërob kein Wachstum.

Auf Peptonagar einzelne Kolonie nach 24 Stunden stecknadelkopfgroß, später bis 3 mm breit. Die Kolonien sind flach und von eigentümlich glänzender gelblich-grauer Farbe mit etwas dunklerem Zentrum. Ihr Gefüge ist leicht granuliert, ihr Rand gezackt, manchmal auch glatt. Oft sind an älteren Kolonien kristallähnliche Auflagerungen zu sehen. Auffallend ist die trockene, bröcklige Konsistenz der Kolonien, die sich beim Berühren mit der Oese in toto vorschieben lassen und wie Mörtel zerfallen.

Auf Ascitesagar und Zuckeragar Wachstum üppiger; Zucker-

zusatz zu den Nährböden wirkt wachstumsbegünstigend. Aus Blutserum gutes Wachstum ohne Verflüssigung.

In Stichkulturen Wachstum nur in den oberen Teilen sowie um den Stichkanal. Gelatine wird nicht verflüssigt.

In Bouillon nach 24 Stunden keine Trübung, auf dem Boden des Röhrchens flockiger Niederschlag, der sich beim Schütteln nicht homogen vertreiben läßt. Bei ganz ruhigem Stehen der Bouillon Kahmhaut- oder Ringbildung.

In Milch gutes Wachstum und alkalische Reaktion, keine Koagulation.

Auf Kartoffel sehr spärliches, makroskopisch kaum sichtbares Wachstum.

In neutraler Lackmusmolke Bildung eines Niederschlags ohne Trübung, und Blaufärbung bei alkalischer Reaktion.

Von allen Zuckerarten wird keine einzige vergärt. Charakteristisch ist auch die Spontanagglutination.

Die Lebensdauer der Kulturen ist eine sehr große; im Brutschrank aufbewahrte Kulturen konnten, auch wenn sie schon etwas eingetrocknet waren, noch nach 60 Tagen übertragen werden. Bei Halten der Kulturen bei Zimmertemperatur (19° C) konnte bei 3 Stämmen nach 100 Tagen gutes Wachstum erzielt werden. Auch gegen Austrocknung waren die Kulturen ziemlich widerstandsfähig; an sterile Deckgläschen angetrocknete Kulturabstriche konnten noch nach 24 Stunden zum Ueberimpfen verwendet werden.

Gegen höhere Temperaturen verhielten sich Kulturaufschwemmungen in Kochsalzlösungen folgendermaßen: 50° wurde 1 Stunde lang gut ertragen, 60° 40 Minuten lang, bei 70° starben die Kulturen schon nach 1 Minute ab; 100° tötete sie sofort.

Tierpathogenität gering.

Vergleichen wir nun die eben aufgezählten Eigenschaften mit denen, die bei unserem Stamm Koch gefunden wurden, so zeigt sich sofort eine fast völlige Identität derselben: Streng gramnegative, semmelartige Diplo- und Tetrakokken, keine Kettenbildung, gutes Wachstum auf allen Nährböden, auch bei Zimmertemperatur, trockene, bröcklige Konsistenz der Kolonien, Kahmhautbildung auf der Bouillon, keine Verflüssigung des Blutserums und der Gelatine, fehlende Vergärung der Zuckerarten, Spontanagglutination, lange Lebensdauer, große Resistenz gegen Temperatureinflüsse und Austrocknung sowie minimale Tierpathogenität.

Eine Abweichung in bezug auf das Wachstum besteht darin, daß Stamm Koch auch anaërob Wachstum zeigte, während Ghon und Pfeiffer (l. c. p. 276) sowie Brons (l. c. p. 9) das streng aërobe Wachstum des *Micrococcus catarrhalis* hervorheben. Letzterem entsprechend fanden diese Autoren bei Stichkulturen kein Wachstum längs des Stichkanals, ich dagegen konnte bei Koch ein spärliches, aber doch erkennbares Wachstum längs des Stichkanals in der Gelatine sowie im Zuckeragar konstatieren. Ob der *Micrococcus catarrhalis* in dieser Hinsicht Schwankungen unterworfen ist, konnte ich in den diesbezüglichen Literaturangaben nicht finden; es wäre aber jedenfalls nicht ganz undenkbar, daß er in späteren Generationen anspruchsloser werden könnte. Die Prüfung meines Stammes auf das Sauerstoffbedürfnis wurde etwa in der 30. Generation vorgenommen, und kann ich daher nichts dar-

über aussagen, wie es sich in früheren Generationen damit verhalten hat. Jedenfalls will ich aber noch betonen, daß, wenn anaërob Wachstum stattfand, dies doch nur in bescheidenen Grenzen blieb. Ich stehe daher trotz dieses Unterschiedes nicht an, den Stamm Koch mit dem *Micrococcus catarrhalis* zu identifizieren. Zur sichereren Trennung des *Micrococcus catarrhalis* vom *Gonococcus* sowie vom *Meningococcus* ist in neuerer Zeit vielfach die Agglutinationsprobe herangezogen worden und man ist [z. B. Brückner (7)] zum Ergebnis gelangt, daß eine Beeinflussung des *Micrococcus catarrhalis* durch Antigonokokken- und Antimeningokokkenserum nicht stattfindet. Da unser Stamm Koch, wie aus der Tabelle III hervorgeht, Spontanagglutination zeigte und dieses Verhalten konstant anhielt, war die Anordnungsweise und daher auch das Resultat des Versuches, der auf dieser Tabelle dargestellt ist, für diesen Stamm von keiner Bedeutung. Ich ließ daher ein durch Immunisierung mit dem Stamm Koch erhaltenes Antiserum auf Kulturaufschwemmungen der Stämme Gelsenkirchen, Schmidt und Reichenbach einwirken. Das Resultat ist in der Tabelle V niedergelegt.

Tabelle V.

A.-S. „Koch“ Verdünnung	Stamm „Koch“	Stamm „Gelsenkirchen“	Stamm „Reichenbach“	Stamm „Schmidt“
1:20	Spontan- agglutination	0	0	0
1:40		0	0	0
1:80		0	0	0
1:160		0	0	0
1:320		0	0	0
Kontrolle mit NaCl-Lösung			0	0

Aus dieser Zusammenstellung, die also eine Umkehrung und Ergänzung des Versuchs auf Tabelle III bildet, geht deutlich hervor, daß das Antiserum Koch keinen einzigen der anderen 3 Stämme zu agglutinieren vermag, und daß daher Stamm Koch auch hierin den anderen 3 Stämmen gegenüber eine Sonderstellung einnimmt.

Von den beiden anderen Stämmen Schmidt und Reichenbach läßt sich der *Micrococcus catarrhalis* außer durch die Agglutination auch sonst leicht differenzieren; einmal durch seine kulturellen Eigenschaften (siehe Tabelle I) und dann aber auch durch das verschiedene Verhalten gegenüber den Zuckerarten (siehe Tabelle II).

Andere in Betracht kommende Keime.

Wie wir bereits am Eingange dieser Veröffentlichung bemerkt haben, sind von Bumm (l. c.), Gifford (l. c.) und Marthen (l. c.) Mitteilungen über gonokokkenähnliche Diplokokken gemacht worden; die Beschreibungen aber sind so unvollständig und die Befunde zum Teil unter sich so widersprechend, daß wir uns kein richtiges Urteil darüber machen können und daher von einer Vergleichung dieser Keime mit den von uns gezüchteten Stämmen Abstand nehmen.

Der erste von Krukenberg (20) beschriebene *Diplococcus* könnte für unseren Stamm Schmidt in Betracht kommen; da er aber nur auf Loefflerschem Blutserum gedieh und auch in älteren Generationen die Züchtungsversuche auf den gewöhnlichen Nährböden sowie in Bouillon, Milch und Zuckeragar negativ blieben, erscheint eine nähere Verwandtschaft derselben zweifelhaft. Die vier anderen, von demselben Autor

gezüchteten Kokken, kommen dagegen wegen ihres guten Wachstums auf den gewöhnlichen Nährböden schon in den ersten Generationen für den Stamm Schmidt nicht in Betracht; dagegen scheinen Fall I und II (Krukenberg) unserem Stamm Koch nahe zu stehen, es weist darauf hin das reichliche Wachstum auf den gewöhnlichen Nährsubstraten, das feinkörnige Wachstum in Bouillon und die ziemliche Resistenzfähigkeit derselben; Fall III kommt dagegen nicht in Betracht wegen der Verflüssigung der Gelatine, und über Fall IV läßt sich keine Entscheidung treffen wegen fehlender Beobachtung einiger kultureller Merkmale.

Der von Rosenthal (32) beschriebene *Diplococcus magnus*, den er in der Luft fand, fällt außer Betracht, da bei ihm eine Kapsel nachgewiesen werden konnte; ebenso die von Axenfeld (l. c. p. 198) und von Nagano (30) beschriebenen gramnegativen Kokken wegen ihres *Sarcine*-charakters.

Urbahn (l. c.) fand einen gramnegativen *Diplococcus*, der einige Ähnlichkeit mit dem *Meningococcus* und auch mit unserem Stamm Schmidt hat; von beiden trennt ihn aber die grünliche Verfärbung, die sowohl an der einzelnen Kolonie und dem Nährboden als auch an Bouillonkulturen festgestellt wurde.

Eine leichte Trennung der Stämme Koch und Schmidt von den von Abelsdorf-Neumann (l. c.) gezüchteten Diplokokken gestattet die bei diesen letzteren Keimen gefundene milchweiße Farbe der Kolonien sowie die Verflüssigung der Gelatine.

Gelegentlich seiner Untersuchungen bei einer Genickstarreepidemie hat v. Lingelsheim (l. c.) teils in der Punktionsflüssigkeit, teils im Nasenrachenraum einige gramnegative gonokokkenähnliche Keime gefunden: *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus cinereus*, *Diplococcus pharyngis siccus*, *Diplococcus pharyngis flavus* I, II und III¹⁾. Ob diese Keime gelegentlich im Conjunctivalsack vorkommen können, läßt sich nicht sicher entscheiden, die Möglichkeit muß aber zugegeben werden. Mit unseren Diplokokken stehen sie jedenfalls nicht in näherer Beziehung und lassen sie sich von ihnen sowohl kulturell als auch in bezug auf das Vergärungsvermögen der verschiedenen Zuckerarten (siehe die diesbezügliche Tabelle auf p. 410 der v. Lingelsheimschen Arbeit) leicht unterscheiden.

Von Interesse ist dagegen ein von Brons (l. c. p. 29) näher beschriebener Keim, den er im Tränensack einer Patientin antraf. Hier fanden sich im Sekretpräparat, neben anderen Mikroorganismen, feine gramnegative, semmelförmige Diplokokken, die intracellulär lagen und nirgends in Tetradenanordnung auftraten. In Ausstrichpräparaten von Reinkulturen sah man gut tingierte, streng gramnegative Diplo- und Tetrakokken, die teilweise eine verschiedene Korngröße aufwiesen; in älteren Kulturen auch Degenerationserscheinungen. Wachstum zunächst nur auf Ascitesagar, von der 4. Generation an auch auf gewöhnlichem Agar. Auf diesem wachsen nach 24 Stunden kleine runde, kugelig erhabene Kolonien von gelblicher Farbe und mit glattem Rand, im durchfallenden Licht Peripherie heller. Mikroskopisch Zentrum dunkelgelb, Peripherie heller, die ganze Kolonie ist feingranuliert mit kristallähnlichen Auflagerungen. Konsistenz der Kolonien breiig-weich, die mit Kultur beladene Oese hat deutlichen gelben Farbenton. Auf Ascitesagar Kolonien mehr durchsichtig, grauweiß, zeigen mit der Zeit immer

1) Den *Diplococcus crassus* glaube ich von unserer Betrachtung ausschließen zu dürfen, da er nach den Angaben v. Lingelsheims (l. c. p. 392) meist grampositiv ist.

weniger zähklebriges gelbes Wachstum. Im Agarstrich graugelbliche bis gelbliche üppige Auflagerung mit glattem Rand und erhöhter Mitte, Kondenswasser leicht getrübt. Im Zuckeragarstich nur in den oberen Partien üppiges weißgraues Wachstum, um die Einstichöffnung glattrandige weiße Scheibe. Bouillon getrübt, mit zähschleimigem Bodensatz, keine Häutchenbildung. In Gelatine nur spärliches Wachstum in den oberen Teilen des Stiches. In der Milch gutes Wachstum, sie wird nicht koaguliert und reagiert alkalisch. Auf Kartoffel minimales Wachstum durch Abstreifen mit der Oese nachweisbar. Der Stamm wurde von Meningokokkenserum nicht beeinflusst. Die Lebensdauer überschritt auch im Brutofen 4 Wochen nicht, in flüssigen Nährböden hielt er sich bis zu 45 Tagen.

Ein Vergleich dieses Keimes mit unserem Stamm Schmidt zeigt die fast vollkommene Uebereinstimmung beider in morphologischer und kultureller Hinsicht, ein Unterschied besteht jedoch in bezug auf das Gärvermögen. Während der Bronssche Stamm Dextrose, Maltose, Rohrzucker, Milchsucker, sowie etwas schwächer auch Inulin zu vergären vermag, ist dies beim Stamm Schmidt nur für Dextrose, Lävulose und Maltose der Fall.

Ob letzteres Verhalten ein konstantes und daher differentiell ausschlaggebend ist, läßt sich vorderhand nicht angeben, da die Zahl der untersuchten Keime dafür zu klein ist. Als positives Ergebnis geht jedoch aus dem vergleichenden Studium dieser Keime hervor, daß unser Stamm Schmidt sowohl mit dem Bronsschen Diplococcus als auch mit dem Meningococcus in naher verwandtschaftlicher Beziehung steht und daß ihm wir daher eine Mittelstellung zwischen diesen beiden Keimen einräumen müssen.

Erwähnen will ich nur noch, daß Stoevesandt (l. c.) in zwei Fällen von Meningitis semmelförmige Diplokokken fand, die sich stets gramzweifelhaft erwiesen und von denen der eine Gelatine verflüssigte und Milch zur Gerinnung brachte, der andere 7 Zuckerarten spaltete. Aus diesen Eigenschaften geht die Nichtzugehörigkeit zu unseren Stämmen klar hervor.

Es erübrigt sich nun noch den von uns gezüchteten dritten Stamm Reichenbach näher zu definieren, der, wie wir schon gelegentlich im vorhergehenden mitgeteilt haben, sich von allen den bisher in die Betrachtung gezogenen Keimen ganz verschieden verhält. Es fehlt jedoch in der Literatur nicht an einzelnen Beobachtungen, die gewisse Beziehungen zu unserem Stamm erkennen lassen.

Von den Proteus-Arten, die einige Aehnlichkeiten mit dem in Rede stehenden Stamm haben, läßt sich dieser durch das Fehlen von Eigenbewegung, von Geißeln und der Schwefelwasserstoffbildung leicht abgrenzen.

In zwei Fällen von Meningitis stellte Centanni (10) einen Keim in Reinkultur fest, den er *Bacillus meningitidis aërogenes* nennt. Es handelte sich um 0,35:2—2,5 μ messende, gramnegative Bacillen, die selten in längeren Verbänden wuchsen. Sporen fehlten. Auf der Oberfläche der Gelatine kam es zur Bildung von Gänseblümchenähnlichen Kolonien unter langsamer Verflüssigung des Nährsubstrates. Bouillon wurde getrübt. Auf Kartoffeln ein graugelber Rasen. Auf Agar und Blutserum kam es zur Bildung einer porzellanartigen Auflagerung. Schon durch diese kulturelle Eigenschaften ist eine Identifizierung mit unserem Stamm zweifelhaft, und dies wird bestärkt durch die bei jenem Keim beobachtete Eigenbewegung sowie Gasentwicklung im Gelatinestich.

Aehnlich verhält sich die Differenzierung gegenüber dem *Bacillus lactis aërogenes*, der oft neben der bacillären auch eine kokkenähnliche Form annehmen kann.

Der *Micrococcus melitensis* [Erreger des Maltafiebers, siehe Durham (12)] stellt einen kleinen Coccus dar, der namentlich bei Zimmertemperatur zu Stäbchen auswachsen kann, die 2—4mal so lang als breit sind; bei Körpertemperatur entstehen daraus wieder Kokkenskulturen. Der Coccus zeigt keine Eigenbewegung und ist gramnegativ. Er gedeiht, gleich wie unser Stamm Reichenbach, bei 37° auf allen Nährböden gut und zeigt saftiges, grauliches Wachstum. Getrennt wird er aber von ihm durch die Fähigkeit, bei Bruttemperatur Ketten zu bilden, ferner durch das Fehlen von Wachstum in Gelatine bei Zimmertemperatur; außerdem koaguliert er die Milch nicht, bildet aus Zucker keine Säure und wächst auf Kartoffeln sehr spärlich.

Hibler (18) beschrieb zwei Keime, die teils Kokken- und teils Stäbchen- und Fadenform zeigten, erstere mehr auf der schiefen Fläche der festen Kultur, letztere vorwiegend im Kondenswasser. Bei beiden ergab die Kultur durchscheinende, saftige, blaßgraue Kolonien, die später eine mehr opake Farbe annahmen und bei einem Stamm (Fall I) einen fast irisierenden Glanz zeigten. Beide wuchsen auch bei Zimmertemperatur gut. Differenziert wird jedoch vom Stamm Reichenbach der eine Keim (Fall I) durch den Besitz von Eigenbewegung und von Geißelfäden, außerdem durch das Fehlen des Peptonisierungsvermögens für Gelatine; beim anderen Keim (Fall III) blieb die Bouillon klar, die Milch wurde nicht koaguliert und die Gelatine nicht verflüssigt.

Stoevesandt (l. c.) züchtete aus der Cerebrospinalflüssigkeit von meningitisverdächtigen Personen drei polymorphe gramnegative Keime, die teils in Diplokokkenform, teils auch in Form von Stäbchen und Fäden wuchsen. Auf Agar wuchsen bei allen 3 Stämmen nach 24 Stunden kleine Kolonien, die an Durchsichtigkeit etwa in der Mitte zwischen Meningo- und Staphylokokken standen; bei schwacher Vergrößerung glatter Rand und leicht bräunliche Färbung. Auf Blutagar kleine weißliche Kolonien. Gutes Wachstum bei Zimmertemperatur. Stamm I und II, die unter sich gleich waren, unterscheiden sich vom Stamm Reichenbach schon morphologisch durch die Bildung von langen Ketten, außerdem durch das Fehlen von Gelatineverflüssigung, von Hämolyse und von Koagulation der Milch und von Tierpathogenität; und Stamm III durch die fehlende Koagulation der Milch sowie durch das Vermögen, auf Dextrose, Galaktose, Maltose und Saccharose Säure zu bilden.

Während nun alle die eben angeführten Keime bis jetzt nicht auf der menschlichen Conjunctiva angetroffen worden sind, hat neulich Ruata (l. c.) aus ihr einen gramnegativen Keim gezüchtet, den er wegen seiner bald kokkenähnlichen, bald mehr bacillären Form als *Coccobacillus conjunctivae* bezeichnet hat. In bezug auf die Polymorphie sowie auf die sie anscheinend bestimmenden Faktoren (feste und flüssige Nährböden, Alter der Kultur, Verhalten im Tierkörper) stimmt er im großen und ganzen mit unserem Stamm Reichenbach überein; eine Differenz hierin besteht nur in der Beziehung, daß unserem Stamm die von Ruata beobachtete ausgesprochene Kettenbildung (bis zu 20 μ) abging.

Auch kulturell bestehen einige nahe Beziehungen zwischen beiden Stämmen. Wir finden beim Ruataschen Keim gutes Wachstum auf fast allen Nährböden, und zwar auch bei Zimmertemperatur; fakultativ anaërobes Wachstum und lange Vitalität. Auf Agarplatten wachsen runde, glattrandige, homogene Kolonien, die deutlich opaleszieren und eine

zentrale dunklere Zone aufweisen; beim Konfluieren bilden sie eine rahmige, gelbliche Auflagerung. Auf Blutserum wachsen große, feuchte Kolonien von trübem Aussehen und graugelblicher Farbe. In bezug auf die Vergärung der Zuckerarten finden wir bei beiden übereinstimmend Vergärung aller Zuckerarten.

Daneben aber bestehen zwischen beiden Stämmen auch durchgreifende Unterschiede: Zu Anfang spärliches Wachstum auf Ascitesagar bei Klarbleiben des Kondenswassers, fehlende Verflüssigung des Blutserums und der Gelatine, fehlende Koagulierung der Milch und Klarbleiben der 24-stündigen Bouillonkultur trennen den von Ruata isolierten Keim deutlich von unserem Stamm Reichenbach. In bezug auf die Tierpathogenität verhielten sich die beiden Stämme analog, dagegen konnte ich bei meinem Stamm die von Ruata beobachtete Panophthalmie nach Injektion geringer Mengen seines Keimes in die Vorderkammer und den Glaskörper nicht konstatieren.

Ruata (l. c. p. 31) führt in seiner Arbeit an, daß Kayser in einem im Besitz des Herrn Geheimrat Prof. Axenfeld sich befindenden, nicht veröffentlichten Manuskript die Beschreibung von 4 aus der menschlichen Conjunctiva gezüchteten gramnegativen Keimen gibt, von denen der eine ein *Micrococcus catarrhalis*, der zweite ein *Tetragonus aurantiacus* und die beiden anderen ein dem seinigen sehr nahestehender oder vielleicht sogar mit ihm identischer Keim waren. Von dem von mir gezüchteten Stamm Reichenbach unterscheidet sich der von Kayser beobachtete Keim im ganzen durch dieselben Merkmale, wie der ihm nahestehende *Coccobacillus conjunctivae*.

Es geht also aus diesem Vergleich hervor, daß keiner der angeführten Keime ganz identisch mit dem von mir gezüchteten Stamm Reichenbach ist, der durch die Verflüssigung des Blutserums und der Gelatine, die Hämolyse und die Koagulierung der Milch eine Sonderstellung einnimmt; dagegen sprechen andere Eigenschaften dafür, daß er zusammen mit den von Kayser und von Ruata beschriebenen Keimen eine engere Gruppe bilden, mit der einige andere nicht auf der menschlichen Bindehaut gefundenen Mikroorganismen (siehe p. 542) vielleicht verwandtschaftliche Beziehungen haben.

Schlußbetrachtungen.

Wir haben also gefunden, daß die drei von uns aus dem menschlichen Bindehautsack gezüchteten Keime unter sich mehr oder weniger verschieden sind. Während Stamm Koch der Gruppe des *Micrococcus catarrhalis* zuzuzählen ist, nimmt Stamm Schmidt eine Mittelstellung zwischen dem *Meningococcus* und dem *Micrococcus catarrhalis* ein; von ihnen ganz verschieden verhält sich der Stamm Reichenbach, der mit den von Kayser und Ruata beschriebenen Keimen eine besondere Gruppe bildet, und sich auch vom *Gonococcus* und *Meningococcus* scharf differenziert (Morphologie, Kultur, Verhalten gegenüber den Zuckerarten und Agglutination).

Die Pathogenität des *Gonococcus* Neisser und des *Meningococcus* Weichselbaum für die menschliche Conjunctiva steht wohl außer Frage; dagegen hatte man bis jetzt im ganzen angenommen, daß der *Micrococcus catarrhalis* Pfeiffer von ihr reizlos vertragen wird.

Durch einen von Brons (l. c. p. 151) kürzlich mitgeteilten Fall ist jedoch festgestellt, daß auch dieser Keim, wenn auch in milderer Art, für die Bindehaut ebenso pathogen sein kann, wie die beiden anderen stammverwandten Arten. Nach diesem Autor ist dadurch sogar wahrscheinlich gemacht, daß auch die von Krukenberg (20) und von Abelsdorff-Neumann (1) beobachteten Fälle auf eine Infektion mit diesem *Diplococcus* zurückzuführen sind.

Für unseren Stamm Koch glauben wir eine Pathogenität nicht annehmen zu können, da die am Auge gefundenen Veränderungen (Blepharconjunctivitis und Hornhautgeschwür) durch die Gegenwart der *Diplobacillen* im Bindehautsack eine genügende Erklärung finden.

Beim Fall Schmidt bestand nur ein leichter Follikularkatarrh, der den wegen seiner Myopie unsere Klinik aufsuchenden Patienten nicht weiter belästigte; der bei ihm gefundene Keim bildet daher nur einen zufälligen Befund.

Im dritten Falle (Reichenbach) handelte es sich um eine leichte katarrhalische Bindehautentzündung mit geringer Follikelschwellung. Ob der dabei gefundene gramnegative *Diplococcus* dafür ätiologisch in Betracht kommt, ist nicht mit Sicherheit zu sagen; andererseits fehlten andere etwaige pathogene Keime (es waren nur Xerosestäbchen und weiße Staphylokokken vorhanden). Auf jeden Fall scheint die Pathogenität dieses Stammes für die Conjunctiva, wenn sie überhaupt vorhanden war, keine große und konstante zu sein; als Beleg dafür erinnere ich an die an meiner eigenen Conjunctiva vorgenommenen Versuche, die resultatlos verliefen.

Zu diesen klinischen Erwägungen kommt noch der Befund im Sekretpräparat hinzu. Während man bei der gonorrhöischen Bindehautentzündung im mikroskopischen Präparat vorwiegend in Schwärmen intracellulär gelagerte, semmelförmige Diplokokken antrifft, haben wir in unseren 3 Fällen ein solches Verhalten gar nicht oder nur in sehr bescheidenem Maße beobachten können; in ihnen lagen die Doppelkokken neben anderen Keimen fast ausschließlich extracellulär. Es liegt eben schon darin, wie Brons (l. c. p. 32) bereits darauf hinweist, der Ausdruck der saprophytären Natur dieser Keime. Die Bestimmung derselben ist jedoch keineswegs nutzlos; denn wir wissen, daß in manchen Fällen das mikroskopische Bild so täuschend ähnlich demjenigen bei der Gonorrhöe aussehen kann, daß man danach allein keine Entscheidung treffen kann. In derartigen Fällen wird erst die Kultur über die Natur des betreffenden Keimes Aufschluß geben. Die genaue Kenntnis der dabei in Betracht kommenden gramnegativen Diplokokken ist daher sehr wünschenswert. Von diesem Standpunkt aus glaube ich im Vorliegenden einen Beitrag zu diesen Untersuchungen beigesteuert zu haben.

Meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimen Hofrat Prof. Axenfeld spreche ich an dieser Stelle für die Ueberlassung des Materials

sowie für die Förderung der Arbeit meinen herzlichsten Dank aus. Ebenso bin ich Herrn Dr. v. Szily für die Ausführung der Agglutinationsversuche zu Dank verpflichtet.

Literatur.

- Ueber ausführliche Literaturquellen siehe: Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena 1907. p. 214; und Brons, Klin. Mon. f. Augenheilk. 1907. Bd. 1. p. 1.
- 1) Abelsdorff-Neumann, Ueber postoperative Conjunctivitis mit bakteriologischem Befunde. (Arch. f. Augenheilk. Bd. 42. 1901. p. 68.)
 - 2) Albrecht u. Ghon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 34. p. 793.
 - 3) Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena (Gust. Fischer) 1907.
 - 4) Bonhoff, Ueber einen Fall von Cerebrospinalmeningitis und den Diplococcus intracellularis. (Münchn. med. Wochenschr. 1901. p. 89.)
 - 5) Brons, Beiträge zur Frage der gramnegativen Diplokokken der Bindehaut. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 45. 1907. Bd. 1. p. 1.
 - 6) — —, Weitere Mitteilungen über gramnegative Diplokokken der Bindehaut, besonders über einen Fall von echten Weichselbaumschen Meningokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908. p. 141.)
 - 7) Bruckner, Sur le micrococcus catarrhalis de Pfeiffer et ses relations avec le groupe gonocoque-méningocoque. (Compt. rend. de la soc. de biol. T. 64. 1908. p. 619.)
 - 8) Bumm, Der Mikroorganismus der gonorrhoeischen Scheimhauterkrankung. (Arch. f. Gynäk. Bd. 23. p. 328.)
 - 9) Canby Robinson, 15 cases of epidemic cerebrospinal meningitis, with special reference to the isolation of the meningococcus from the conjunctiva and from the circulating blood. (Americ. Journ. of med. scienc. 1906. April.)
 - 10) Centanni, Di un nuovo organismo della meningitide. (Arch. per le scienze med. Vol. 17. 1893. p. 1.)
 - 11) Dopter et Koch, Action du méningocoque et des bactéries similaires sur les milieux sucrés du neutralrot. (Compt. rend. hebdom. de la soc. de biol. T. 65. 1908. No. 29. — Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. 1909. p. 507.)
 - 12) Durham, Journ. of Pathol. Vol. 5. 1898. Dez.
 - 13) Gabriélidès, Ophthalmologie microbologique. Konstantinopel (Christidis) 1906. p. 111.
 - 14) Gifford, Arch. f. Augenheilk. Bd. 16. p. 197.
 - 15) Gohn, Pfeiffer u. Sederl, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 40. 1902.
 - 16) Groenouw, Die Augenentzündung der Neugeborenen. (Arch. f. Ophth. Bd. 52. 1901. p. 17.)
 - 17) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig (G. Thieme) 1906.
 - 18) Hibler, Bakteriologischer Bericht über drei Fälle von Cerebrospinalmeningitis. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 20. 1907. p. 961.)
 - 19) Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Jena 1903.
 - 20) Krukenberg, Ueber einen neuen, nach Gram sich entfärbenden, semmelförmigen intracellulären Pseudogonococcus auf der menschlichen Conjunctiva. (Klin. Monatsblätter f. Augenheilk. Bd. 37. 1899. p. 271.)
 - 21) — —, Ist der von mir beschriebene Diplococcus mit dem Gonococcus identisch? (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 38. 1900. p. 259.)
 - 22) Krukenberg, Weitere Beobachtungen nach Gram sich entfärbender gonokokkenähnlicher Diplokokken auf der menschlichen Conjunctiva. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 39. 1901. p. 604.)
 - 23) Lehmann-Neumann, Bakteriologische Diagnostik. 3. Aufl. München 1904.
 - 24) v. Lingelsheim, Die bakteriologischen Arbeiten der Kgl. Hyg. Station zu Beuthen O.-Schl. während der Genickstarreepidemie in Oberschlesien im Winter 1904/05. (Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906. p. 373.)
 - 25) v. Lingelsheim u. Leuchs, Tierversuche mit dem Diplococcus intracellularis (Meningococcus). (Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906. p. 493.)
 - 26) MacKee, The cultivation of meningococcus from eye. (The Ophth. Rec. Vol. 17. 1908. p. 338.)
 - 27) — —, Another case of meningococcus conjunctivitis. (The Ophth. Rec. Vol. 18. 1909. p. 304.)
 - 28) Marthen, Deutschmanns Beitr. z. Augenheilk. Bd. 12. 1893.
 - 29) Mayer, Untersuchungen über Genickstarre in der Garnison Würzburg. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 1.)
 - 30) Nagano, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1905. p. 341.
 - 31) Neisser, Micrococcus catharhalis. (In Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1903. p. 146.)

- 32) Rosenthal, Ueber einen in der Luft gefundenen Diplococcus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. 1899. p. 1.)
 33) Ruata, Sopra un cocco-bacillo della congiuntiva umana. (Arch. di Ottalm. Vol. 17. p. 1.)
 34) Stoevesandt, Erfahrungen bei der bakteriologischen Untersuchung meningitisverdächtigen Materials. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 295.)
 35) Urbahn, Ein Beitrag zur Gonokokkenlehre. (Arch. f. Augenheilk. Bd. 44. 1902. Erg.-Heft.)
 36) Weichselbaum, Handb. v. Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1903. p. 270.
 37) Wildholz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902.

Erklärung zur Tafel.

- Fig. 1. Koch, Sekretpräparat; Leitz, Oelimmersion, Okul. 3.
 Fig. 2. Reichenbach, Sekretpräparat; Zeiss, Oelimmersion, Okul. 3.
 Fig. 3. a) Koch, 24-st. Peptonagarkultur; Leitz, Oelimmersion, Okul. 3.
 b) Schmidt, 2×24-st. Peptonagarkultur; Zeiss, Oelimmersion, Okul. 3.
 c) Reichenbach, 24-st. Peptonagarkultur; Leitz, Oelimmersion, Okul. 3.
 d) Reichenbach, 9-st. Bouillonkultur; Zeiss, Oelimmersion, Okul. 3.

Nachdruck verboten.

Ueber eine neue Schafseuche, bedingt durch einen Diplococcus (Streptococcus) lanceolatus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald (Direktor:
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler).]

Von Dr. med. vet. **A. Gaertner**, Tierarzt aus Wolgast.

Am 7. Januar wurde mir gelegentlich eines Besuches auf dem Rittergute Hohensee, Kr. Greifswald von dem Administrator die Mitteilung gemacht, daß unter den Schafen eine seuchenartige Krankheit sei, die hauptsächlich die Mutterschafe, die soeben gelammt hätten, und die neugeborenen Lämmer hinwegraffe.

Nach Aussage des Schäfers wären Mitte Dezember, kurz vor Weihnachten, die ersten Todesfälle bei den Mutterschafen und bald darauf bei den Lämmern vorgekommen. Die Mutterschafe wären immer gleich nach der Geburt erkrankt, die ersten Krankheitserscheinungen hätten sich schon häufig 12 bis 24 Stunden darauf bemerkbar gemacht und hätten in heftigem Drängen und zunehmender Schwäche bestanden.

Zuerst hätten die erkrankten Tiere noch etwas Appetit gehabt, sehr bald aber sei jede Nahrung verweigert worden. Die Umgebung der Scham schwelle an, und die Schafe preßten beim Drängen eine höchst übelriechende Flüssigkeit aus der Scheide.

Nach 1—2 Tagen träte in der Regel der Tod ein.

Einzelne Mutterschafe seien jedoch 8—12 Tage lang krank gewesen, von diesen seien 2 wieder gesund geworden.

Bei zwei anderen Schafen, bei denen die Krankheit ebenfalls länger gedauert hätte, sei nach 10 Tagen eine deutliche Besserung eingetreten und es hätte geschienen, als ob auch sie die Seuche überstehen würden, schließlich seien sie aber doch daran eingegangen.

Von den Lämmern seien im ganzen 40 Stück verendet. Sie seien meistens innerhalb der ersten 24—36 Lebensstunden erkrankt und nach einer Krankheitsdauer von 12—24 Stunden gestorben.

Wenn der Schäfer die gestorbenen Mutterschafe aufgeschnitten habe, hätte er stets eine große Gebärmutter bei ihnen gefunden, die mit übelriechender Flüssigkeit gefüllt gewesen wäre.

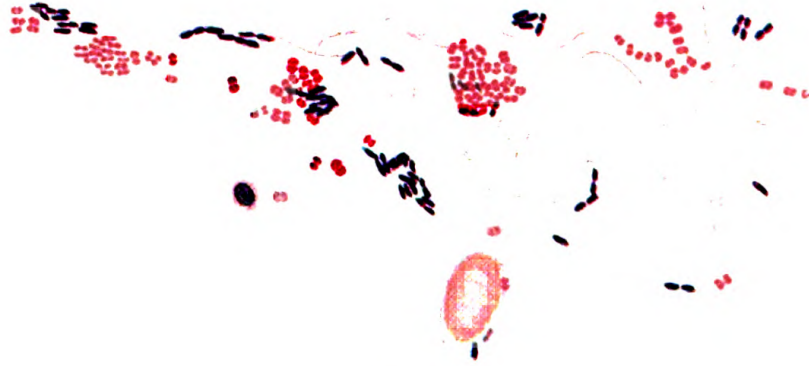


Fig. 1.

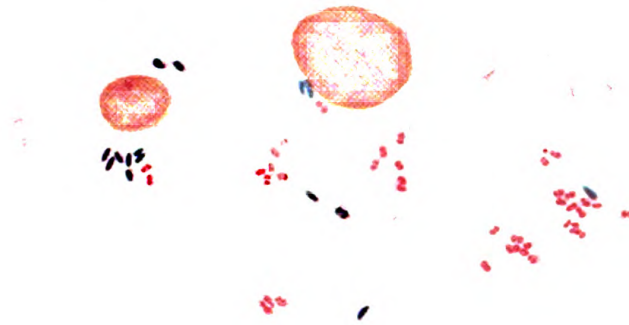


Fig. 2.

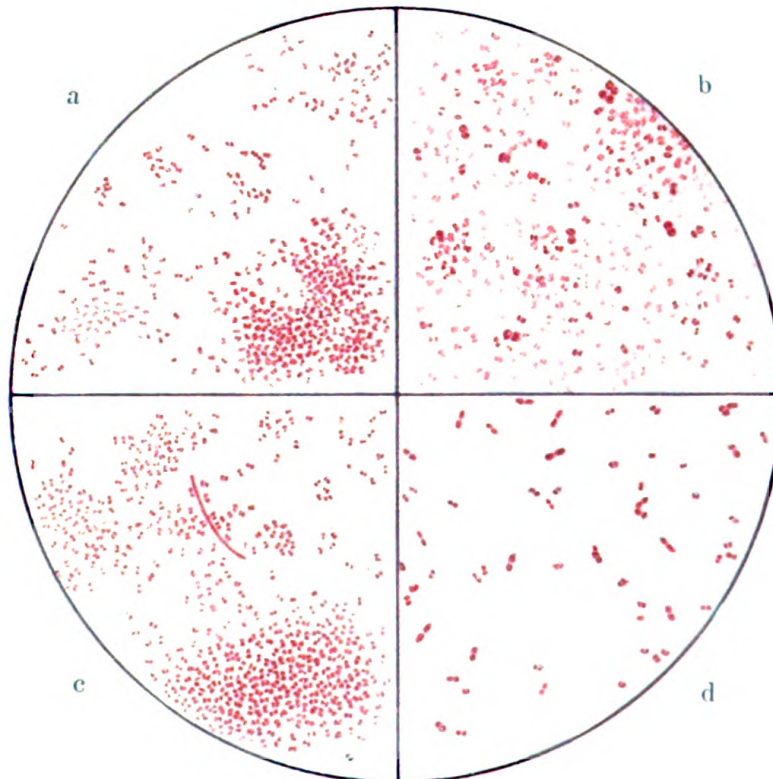


Fig. 3.

Bei den Lämmern hätte er krankhafte Veränderungen der Organe nicht finden können.

Eigene Untersuchungen.

Auf dem Gute befanden sich vor Beginn der Seuche 425 Schafe, nämlich 5 Böcke, 305 alte Mutterschafe, 59 Zeitschafe und 56 Jährlingsmütter in einem großen Stalle. Der Stall ist ein ca. 65 m langes Fachwerkgelände, das durch zwei Querdielen in drei Abteilungen eingeteilt wird.

In der hintersten Abteilung, in der sich die älteren Mutterschafe befinden, waren die ersten Todesfälle vorgekommen.

Nach dem Bestandsbuche des Administrators war der erste Todesfall am 11. Dezember eingetreten. Am 17., 22. und 24. Dezember war je ein weiteres Tier gestorben, von da an täglich ein bis drei.

Ich stellte nun fest, daß zurzeit zwei kranke Mutterschafe und zwei kranke Lämmer sowie ein soeben verendetes Lamm vorhanden waren, die ich untersuchen konnte.

Schaf A.

Ca. 4 Jahre altes, gutgenährtes Mutterschaf, das nach Aussage des Schäfers vor 2 Tagen gelammt hat und seit ca. 24 Stunden krank ist.

Das Tier steht mit gekrümmten Rücken da und läßt den Kopf herunterhängen. Die äußere Körperfläche ist ungleichmäßig temperiert. Die Gliedmaßen und Ohren fühlen sich bald heiß bald kühl an. Das Schaf zeigt fortwährendes Muskelzittern. Die Conjunctiva ist stark gerötet, die Maulschleimhaut ist heiß und trocken. Die Nahrungsaufnahme ist völlig unterdrückt. Die Bewegung geschieht matt und schwankend. Der Leib ist aufgetrieben und gespannt. Bei der Palpation desselben empfindet das Tier große Schmerzen. Die Vulva ist blaurot gefärbt und mit der ganzen Schamgegend stark geschwollen. Die Scheidenschleimhaut ist hochrot gefärbt, an der unteren Scheidenwand befinden sich einige streifenförmige Blutungen von schwarzroter Farbe.

Von Zeit zu Zeit tritt ein starkes, wehenartiges Drängen ein, und wird alsdann eine übelriechende Flüssigkeit von graubrauner Farbe entleert. Die Mastdarmtemperatur beträgt 40,8° C. Die Atmung ist beschleunigt und geschieht 42mal in der Minute.

Schaf B.

Ca. 6 Jahre altes Mutterschaf, ist seit 10 Tagen erkrankt und stark abgemagert. Es liegt andauernd in der Streu. Wird es aufgerichtet, dann taumelt es einige Schritte weit und fällt alsbald wieder zu Boden. Die Augenschleimhäute sind dunkelrot gefärbt. Die Maulschleimhaut ist heiß. Aus der Nase fließt ein schleimig-eitriges Sekret. Die Nahrungsaufnahme ist gänzlich unterdrückt, dagegen hat das Tier großen Durst.

Der Leib ist angeschwollen und schmerzhaft. Sehr oft drängt das Schaf heftig und preßt dabei stets eine geringe Menge übelriechender Flüssigkeit aus der Scheide. Die Schamgegend ist stark geschwollen. Die Vulva ist blaurot gefärbt und geschwollen. Die Scheidenschleimhaut ist hochrot gefärbt und zeigt auf der unteren Scheidenwand einige streifenförmige flache Defekte von graugelber Farbe. Die Atmung geschieht 40mal in der Minute, die Mastdarmtemperatur beträgt 39,9° C.

Die beiden Lämmer waren matt und schwach. Sie taumelten beim Gehen und zeigten hochrote Augenschleimhäute und schleimigen Nasenausfluß. Ein Lamm hatte daneben noch starken Durchfall.

Bei der Sektion des verendeten Lammes stellte ich eine Entzündung des Dünndarmes fest.

Die Mesenterialdrüsen waren stark geschwollen und auf dem Durchschnitt glänzend. Die Milz war stark vergrößert und weich. Die Lungen waren sehr blutreich.

Das zuerst beschriebene Schaf wurde auf meinen Wunsch getötet. Bei der Sektion konnte ich folgendes ermitteln. Vulva blaurot gefärbt. Nach dem Abziehen des Felles ist die ganze Umgebung der Scham bis vor das Euter sulzig infiltriert. In der Bauchhöhle befindet sich dunkelrotes, trübes Exsudat. Der Uterus ist nicht kontrahiert, die Uteruswand stark verdickt und ödematös durchtränkt. Der Uterus ist prall mit einer trüben, graubraunen Flüssigkeit von üblem Geruche gefüllt. Die Schleimhaut desselben ist stark geschwollen und mit streifenförmigen und runden bis pfenniggroßen, schwarzroten Blutungen durchsetzt. Die Milz ist stark geschwollen und weich. Die Leber ist sehr groß, hat abgerundete Ränder und ist sehr blutreich.

Im Herzbeutel befinden sich ca. 1½ Eßlöffel eines trüben, rötlichen Exsudates. Die Lungen sind sehr blutreich, aber überall lufthaltig.

Auf Grund dieser Untersuchungen ordnete ich die sofortige Ueberführung aller noch tragenden Mutterschafe in einen anderen nicht verseuchten Stall an. Es waren dies noch etwa 120 Schafe. Ferner wurden alle erkrankten Schafe und Lämmer besonders untergebracht. Dem Schäfer wurde aufgegeben, alle neu auftretenden Erkrankungsfälle sofort zu isolieren, und bei vorkommenden geburtshilflichen Leistungen sich gründlich zu desinfizieren und sich der allergrößten Sauberkeit zu befleißigen.

Zwei Tage später, am 9. Januar, wurde ich wiederum nach Hohensee gerufen, weil in der Zwischenzeit noch fünf Schafe unter Erscheinungen erkrankt waren, die der Schäfer mit Bestimmtheit als Schafrotz ansprach.

Bei meiner Ankunft lebten von diesen Tieren noch drei, ein Schafbock und zwei Mutterschafe; außerdem fand ich noch einige Mutterschafe mit den bereits beschriebenen Erscheinungen der Gebärmuttererkrankung und eine Anzahl kranker Lämmer vor.

Die drei ersten Schafe hatten einen starken schleimig-eitrigen Nasenausfluß und eine erhebliche Anschwellung in der Nasengegend. Namentlich waren die Seitenflächen der Nase geschwollen, höher temperiert und teigig.

Bei Druck mit den Fingern gegen die Nasenbeine hatten die Schafe große Schmerzen. Die Nasenschleimhäute und die Augenschleimhäute waren hochrot gefärbt. Die Maulschleimhaut war heiß. Alle drei Schafe ließen den Kopf hängen und hatten starken Speichelfluß. Die Atmung war angestrengt und beschleunigt, sie geschah unter lautem Schniefen bei allen drei Tieren 52—64mal in der Minute. Die Mastdarmtemperaturen betragen 40,2° 40,6° und 40,9° C.

Da ich es sehr wohl für möglich hielt, daß sowohl die beiden Erkrankungsarten der erwachsenen Schafe als auch das Lämmersterben nur verschiedene Formen einer und derselben Seuche seien, ließ ich am nächsten Morgen je ein frisches Schafkadaver und drei frische Lammkadaver per Wagen an das Hygienische Institut der Universität zu Greifswald senden, um dort mit Genehmigung von Herrn Geheimrat Prof. Dr. Loeffler die Seuche bakteriologisch zu untersuchen.

Zu dem weiteren Verlauf der Seuche möchte ich hier noch bemerken, daß durch die von mir beim ersten Besuch in Hohensee am 7. Januar angeordnete Ueberführung der noch tragenden Schafe in einen anderen Stall neue Erkrankungen an Gebärmutterentzündung vom 3. Tage der Isolierung an unter den abgesonderten Tieren fernerhin

nicht mehr vorkamen, und daß ebenso das Sterben der neugeborenen Lämmer vom gleichen Zeitpunkt an aufgehört hat.

Dagegen sind noch im Laufe der nächsten 6 Wochen 40 erwachsene Schafe und 5 ca. 8—10 Wochen alte Lämmer unter den Symptomen des eitrigen Nasenkatarrhes eingegangen, weil es sich nicht hatte ermöglichen lassen, alle Schafe aus dem verseuchten Stall herauszubringen, und eine gründliche Reinigung und Desinfektion des Stalles nach Ansicht des Administrators in der kalten Jahreszeit nicht hatte vorgenommen werden dürfen. Die Krankheit verlief bei dieser Form stets tödlich innerhalb 24—48 Stunden.

Am 14. Februar untersuchte ich nochmals in Hohensee 4 erwachsene Schafe und 2 ca. 10 Wochen alte Lämmer. Alle 6 Tiere hatten schleimig-eitrigen Nasenausfluß und beschleunigte Atmung. 2 Schafe und ein Lamm standen mit gesenktem Kopfe da und taumelten beim Gehen. Die anderen Tiere waren schon so matt, daß sie nicht mehr stehen konnten.

Eine Anschwellung der Unterhaut in der Nasengegend war ebenfalls vorhanden, und bestand beim Druck mit den Fingern gegen die Nasenbeine Schmerzhaftigkeit. Während von den neugeborenen Lämmern kein Tier mehr eingegangen war, fingen jetzt auch die älteren Saugelämmer, die in dem verseuchten Stalle zurückgeblieben waren, vereinzelt an zu erkranken und zeigten denselben Nasenausfluß und die Atembeschwerden, wie die erwachsenen Schafe.

Ich lasse nunmehr die Sektionsprotokolle der nach Greifswald geschickten Schaf- und Lammkadaver folgen. Vorausschicken will ich noch, daß jetzt die Sektionen selbstverständlich stets mit sterilen Instrumenten ausgeführt wurden.

Pathologisch-anatomischer Befund.

Schaf I.

Ca. 6 Jahre altes Mutterschaf, das nach dem Vorbericht am 7. Jan. 1910 gelammt und am 8. Jan. die ersten Krankheitserscheinungen gezeigt hat. Es starb in der Nacht vom 9. zum 10. Jan. Die Sektion erfolgte am 10. Jan. morgens 11 Uhr.

Kadaver stark aufgetrieben. Schamgegend und Innenfläche der Hinterschenkel ödematös geschwollen. Vulva blaurot gefärbt. Unterhautbindegewebe in der Umgebung der Scham, der Innenfläche der Hinterschenkel und des Euters sulzig infiltriert. Bauchdecken grünlich verfärbt, starker Fäulnisgeruch. In der Bauchhöhle befindet sich etwa $\frac{1}{2}$ l eines trüben dunkelroten Exsudates.

Uterus nicht kontrahiert, hat stark ödematös durchtränkte, verdickte Wandungen und ist mit trüben, schokoladebraunem Exsudat prall gefüllt. Darm ohne erhebliche Veränderungen. Im Pleurasacke etwa 3 Eßlöffel trüben, schwachrötlichen Exsudates. Im Herzbeutel ca. $1\frac{1}{2}$ Eßlöffel Exsudat von derselben Beschaffenheit. Herzmuskel schlaff und lehmfarbig, unter dem Epicard zahlreiche Blutungen.

Die Lungen sind lufthaftig, sehr blutreich und ödematös.

In Ausstrichpräparaten aus dem Uterusexsudat sind Diplokokken in Unmengen zu sehen, die von einer Kapsel umgeben sind, daneben längere Fäulnisstäbchen. In Ausstrichpräparaten aus der Milz, dem Herzbeutel- und Bauchhöhlenexsudat dieselben Diplokokken mit Kapseln. Ich schicke ein für allemal voraus, daß hier wie in allen folgenden Fällen Stücke der einzelnen Organe, Milz, Leber, Nieren und Herz in Alkohol absolutus und Aceton ää zum Zwecke der Härtung gelegt wurden.

Kulturen wurden angelegt auf Blutagar und gewöhnlichem Agar aus dem Uterusexsudat, der Milz, aus dem Exsudat der Bauchhöhle, des Herzbeutels und aus dem Herzblute.

Nach 24 Stunden zeigen die Kulturen auf Blutagar ein derartig üppiges Wachstum, daß einzelne Kolonien gar nicht zu unterscheiden sind, sondern der ganze Blutagar mit einem dicken, glänzenden, grauweißen Belage bedeckt ist.

Auf Agar finden sich feinste zarte, stecknadelkopfgroße durchsichtige Kolonien, die einen eigentümlich speckigen Glanz besitzen und aus denselben Diplokokken bestehen, wie die Ausstrichpräparate. Andere Kolonien sind nicht gewachsen.

Schaf II.

Ca. 7 Jahre altes weibliches Schaf. Am Tage vorher von mir in Hohensee untersucht und beschrieben. In der letzten Nacht verendet. Sektion am 10. Jan. mittags 12 Uhr.

Kadaver stark aufgetrieben. In den Nasenlöchern schleimig-eitriges Sekret. Kopf in der Nasengegend stark geschwollen, Konturen der Nasenbeine verstrichen. Unterhautbindegewebe der Nasengegend sulzig infiltrierte. Bauchdecken grünlich verfärbt, starker Fäulnisgeruch.

In der Bauchhöhle ca. 3 Eßlöffel trüben dunkelroten Exsudates. Milz sehr groß und weich. Leber und Nieren stark mit Blut gefüllt. Darm ohne erhebliche Veränderungen. Im Pleurasacke und im Herzbeutel trübes, rötliches Exsudat. Lungen sehr blutreich im Stadium hochgradiger Kongestion. Nasenschleimhaut stark geschwollen von dunkel bis schwarzer Farbe und spiegelndem Glanze. Der untere Teil derselben ist hochrot, der mittlere dunkelrot und der obere Teil an den Nasendüten schwarzrot gefärbt und mit einem schleimig-eitrigem Belage bedeckt. Kehlkopf und Luftröhrenschleimhaut stark geschwollen und dunkelrot gefärbt.

Der Kopf und Hals des Schafes wird in Formalin gelegt.

Ausstrichpräparate aus dem Bauchfellexsudat, der Milz, dem Herzblut und der Nasenschleimhaut ergeben zahlreiche kerzenflammenähnliche Diplokokken, die von einer Kapsel umgeben sind.

In Kulturen aus dem Herzblute, der Milz, dem Bauchfellexsudate und der Nasenschleimhaut auf Agar und Loefflerschem Serum wachsen zahlreiche, feine, glänzende Kolonien von denselben Diplokokken.

Lamm I.

3 Tage alt. Exitus in der Nacht vom 9. zum 10. Januar. Sektion am 10. Jan. mittags 12 $\frac{1}{2}$ Uhr.

Aftergegend mit gelbbreiigen Kotmassen beschmutzt. In der Bauchhöhle ca. 2 Eßlöffel trüben, rötlichen Exsudates. Dünndarm hochrot gefärbt. Dünndarmschleimhaut dunkelrot gefärbt und geschwollen. Mesenterialdrüsen stark vergrößert, auf dem Durchschnitt glänzend. Milz stark geschwollen, Pulpa weich. Im Herzbeutel trübes, rötliches Exsudat.

Ausstriche aus dem Bauchfellexsudat, der Milz und dem Herzblut enthalten viele Diplokokken mit Kapseln.

Kulturen aus Milz, Herzblut und Herzbeutelexsudat kleine Kolonien von Diplokokken, alles Reinkulturen.

Lamm II.

36 Stunden altes Lamm. Am 10. Jan. morgens 6 Uhr getötet. Sektion nachmittags 2 Uhr.

Milz etwas vergrößert. Im Herzbeutel etwas trübes, rötliches Exsudat. Lungenkongestion. Ausstrichpräparate aus Milz und Herzblut Diplokokken mit Kapseln.

Kulturen aus Milz und Herzblut auf Agar kleine Kolonien von Diplokokken. Auf Blutagar massiges Wachstum derselben Diplokokken.

Lamm III.

Ca. 3—4 Tage alt. Exitus am 9. Jan. abends. Aftergegend durch Kotmassen gelb gefärbt. Sektion am 10. Jan. nachmittags 3 Uhr.

Bauchdecken grünlich gefärbt, starker Fäulnisgeruch. In der Bauchhöhle ca. $\frac{1}{4}$ l trüben, rötlichen Exsudates. Dünndarm stark gerötet, Dünndarmschleimhaut stark geschwollen und dunkel- bis schwarzrot gefärbt.

Mesenterialdrüsen stark geschwollen, auf dem Durchschnitt feucht und glänzend.

Milz sehr groß und weich.

Im Herzbeutel rötliches, trübes Exsudat. Lungen sehr blutreich und ödematös.

Ausstriche aus Herzblut, Milz und Bauchfellexsudat Diplokokken und lange Fäulnisstäbchen. Kulturen auf Agar aus Herzblut feine zarte Kolonien von Diplokokken. Die Kulturen aus den anderen Organen sind mit größeren stecknadelkopfgroßen Kolonien bewachsen, dazwischen liegen zahlreiche kleine glänzende Kolonien. Die großen Kolonien bestehen aus dicken Kurzstäbchen, die kleinen aus Diplokokken.

Außer den beschriebenen 5 Tieren, 2 Schafen und 3 Lämmern, wurde auf meine Veranlassung am 15. Januar noch ein verendetes Schaf an das Hygienische Institut in Greifswald gesandt.

Schaf III.

Etwa 7—8 Jahre altes Mutterschaf. Nach dem Vorbericht ist das Tier ca. 8 Tage lang krank gewesen. Tod am 14. Jan. abends 8 Uhr.

Sektion am 15. Jan. morgens 11 Uhr. Unterhaut in der Schamgegend und Eutergegend sulzig infiltriert. In der Bauchhöhle ca. 250 g rötlichen trüben Exsudates. Gebärmutter nicht kontrahiert, mit stark verdickten Wänden, angefüllt mit trübem schokoladebraunen Exsudat von üblem Geruche. Uterusschleimhaut geschwollen und mit zahlreichen runden und strichförmigen Defekten behaftet. Milz geschwollen und weich. Leber groß und brüchig.

Nieren sehr blutreich.

Im Herzbeutel und im Pleurasacke trübes, rötliches Exsudat.

Lungen sehr blutreich und ödematös.

In den Ausstrichpräparaten aus dem Gebärmutterinhalt, der Milz und dem Herzblut finden sich zahlreiche Diplokokken, die von einer Kapsel umgeben sind.

Kulturen aus Uterusinhalt, Milz und Herzblut zahlreiche kleine glänzende Kolonien von Diplokokken.

Bei einem Besuch in Hohensee am 14. Febr. verendete ein Schaf nachmittags 3 Uhr. Ich machte sofort die Sektion und ermittelte folgendes.

Schaf IV.

Ca. 5 Jahre altes weibliches Schaf, das angeblich seit etwa vier Tagen krank gewesen war.

Aus der Nase fließt schleimig-eitriges Sekret.

Milz leicht geschwollen. Darm und die anderen Bauchorgane o. B. Im Pleurasacke ca. $\frac{1}{2}$ l eines trüben, rötlichen Exsudates mit vielen Fibrinflocken vermischt.

Pleura costalis und Pleura pulmonalis sind mit dicken Fibrinauflagerungen bedeckt und miteinander und dem Herzbeutel verklebt.

Im Herzbeutel ca. $1\frac{1}{2}$ Eßlöffel trüben, rötlichen Exsudates. Lungen sehr blutreich. Die ganze linke Lunge ist luftleer und derb und auf dem Durchschnitt von grauroter Farbe. In den Bronchiolen feinblasiger Schaum.

Den Kopf, die Lunge, das Herz und die Milz nahm ich sofort mit nach Greifswald. Auf dem Durchschnitt des Kopfes konnten die oben beschriebenen charakteristischen Veränderungen der Nasen- und Kehlkopfschleimhaut festgestellt werden.

Ausstriche aus den Lungen, der Milz, dem Herzblut, und dem Herzbeutelexsudat ergaben Diplokokken mit Kapseln.

In den Kulturen aus der Lunge, dem Herzblut, der Milz und dem Herzbeutelexsudat sind zahlreiche feine Kolonien von Diplokokken gewachsen.

Zusammenfassung des pathologisch-anatomischen Befundes.

Fasse ich die mitgeteilten Sektionsberichte zusammen, so fällt vor allen Dingen ins Auge, daß bei den verendeten Schafen drei verschiedene Formen der Erkrankung angetroffen wurden. Gemeinsam waren in allen Fällen die Erscheinungen der Sepsis, die sich durch die hämorrhagischen Exsudate in der Bauchhöhle, im Pleurasacke und im Herzbeutel, ferner durch den stets großen Milztumor und die geschwollene Leber bemerkbar machten.

Bei den im Anschluß an die Geburt erkrankten und verendeten Schafen war eine jauchige Metritis vorhanden, die als Ausgangspunkt des Leidens anzusehen war, und sich durch den großen nicht kontrahierten Uterus, seine verdickten ödematös durchtränkten Wandungen und den jauchigen Inhalt auszeichnete. Die Uterusschleimhaut war in allen zur Sektion gekommenen Fällen entzündlich geschwollen und wies bei den frisch erkrankten Tieren Blutungen auf, während das Schaf, das schon längere Zeit mit dem Leiden behaftet gewesen war, daneben noch geschwürige Defekte in der Uterusschleimhaut erkennen ließ.

Schaf II zeigte dahingegen als Hauptsymptom eine ganz charakteristische hämorrhagische Rhino-Laryngo-Tracheitis. Am auffälligsten war die Nasenschleimhaut in Mitleidenschaft gezogen, an der wiederum die oberen Partien von den schwersten Veränderungen betroffen waren. Am Naseneingang war die Schleimhaut hochrot, in den mittleren Teilen dunkelrot und in den oberen Partien schwarzrot gefärbt, von spiegelndem Glanze und mit einem grauen, schleimig-eitrigen Belage bedeckt.

Die Schleimhaut des Kehlkopfes und der Luftröhre war ebenfalls entzündlich geschwollen, wenn auch nicht in so hohem Grade wie die der Nase.

Ferner war bei Schaf II die Unterhaut des Kopfes in der Nasengegend namentlich an den Seiten der Nasenbeine ödematös durchtränkt.

Schaf IV, das ebenfalls an dieser Form der Seuche erkrankt war, zeigte daneben noch eine hämorrhagisch-fibrinöse Pleuritis und eine Hepatisation der linken Lunge.

Bei den seziierten 3 Lämmern waren außer den schon angeführten allgemeinen Veränderungen noch in 2 Fällen eine hämorrhagische Dünndarmentzündung mit starker Schwellung der Mesenterialdrüsen vorhanden.

Literatur.

In der mir zur Verfügung stehenden Literatur habe ich keinen Fall beschrieben gefunden, der mit dieser Schafseuche vollkommen übereinstimmt.

Dahingegen fand ich unter den Beiträgen zur puerperalen Septikämie des Schafes mehrere Artikel, die ähnliche klinische Erscheinungen und pathologisch-anatomische Befunde schilderten.

Sturm¹⁾ beschreibt eine Endometritis bei Schafen, die nach der Schur oft infolge geringer Wunden, die beim Scheeren entstanden waren, auftrat. Die Wunden der Schafe wurden brandig und kurze Zeit nachher trat der Tod ein.

Als ca. einen Monat später die Lammzeit begann, fielen gleichzeitig viele Mutterschafe derselben Herde, und zwar erfolgte der Tod in der Regel am 3. Tage nach dem Gebären unter kolikartigen Erscheinungen. Bei der Obduktion wurde festgestellt, daß der Uterus etwas jauchige Flüssigkeit enthielt. Die Uterusschleimhaut war dunkelrot, stellenweise namentlich an den Kotyledonen grau und trüb und die übrigen Häute und die breiten Mutterbänder waren mit trüber Flüssigkeit infiltriert. Eine Kontraktion des Uterus war nicht eingetreten. Außerdem befanden sich die bekannten Erscheinungen einer allgemeinen Infektion: Milztumor, Hepatitis, Nephritis parenchymatosa.

Nach sorgfältiger Reinigung und Absonderung der noch trächtigen Mütter und aufmerksamer Pflege durch besondere Wärter verschwand das Uebel in kurzer Zeit.

Im Sächsischen Jahresbericht 1883, p. 88, wird von Schleg²⁾ über brandige Gebärmutterentzündung geschrieben.

Auf einem Rittergute kamen schnell hintereinander eine größere Anzahl von Erkrankungen der Gebärmutter bei Schafen vor. Die Erkrankungen traten ein, nachdem die Muttertiere ganz normal, sogar oft sehr leicht gelammt hatten und nachdem dieselben bis zum 3. Tage nach dem Lammen ganz munter und gesund erschienen waren. Die Tiere fingen an heftig zu drängen und zu pressen, so daß die gerötete und geschwollene Scheide vorfallartig heraustrat. Schon am 2. Tage der Krankheit starben sie. Alle Erkrankungen endeten mit dem Tode. Die Sektion ergab stets hochgradige, selbst in Brand übergegangene Gebärmutterentzündung. Berichterstatter sucht die Ursachen der Krankheit in einer fehlerhaften Fütterung. Die tragenden Mutterschafe, die vorher etwas knapp gefüttert worden waren, hatten gegen alle Regeln der Diätetik mit einem Male sehr kräftige, stickstoffreiche Nahrung, Körner und Lupinen, in reichlicher Menge erhalten. Nach Verabreichung von Abführmitteln hörten die Erkrankungen auf.

Deigendesch³⁾ berichtet über Septicaemia puerperalis. Von 130 Schafen starben 12 Mutterschafe kurz nach dem Lammen. Sie

1) Sturm, Endometritis bei Schafen. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1885. p. 302.)

2) Schleg, Brandige Gebärmutterentzündung. (Sächsischer Jahresber. 1883. p. 88.)

3) Deigendesch, Septicaemia puerperalis. (Repertorium f. Tierheilk. 1880. p. 186.)

wurden traurig, ließen den Kopf hängen, hatten einen aufgetriebenen empfindlichen Bauch, sowie gerötete Schleimhäute und eine Temperatur von 41,0° C. Das Futter wurde verschmäht und bei gekrümmtem Rücken trat anhaltendes, wehenartiges Drängen ein. Die äußeren Geschlechtsteile schwellen rasch an, bekamen ein dunkelrotes Aussehen, wurden vom kalten Brande ergriffen, und auf der Schleimhaut der Scheide bildeten sich dunkelrote Striemen und Geschwürchen von aufgeworfenen Rändern.

Die Krankheitsdauer erstreckte sich von wenigen Stunden bis zu einem Tage. Die Obduktion lieferte Verdickung der Häute des Uterus, in welchem eine stinkende schokoladefarbige Jauche enthalten war. Die aufgelockerte Schleimhaut war mit schwärzlichen Streifen und puerperalen Geschwüren und stellenweise mit schmutzig-gelben Verschorfungen besetzt. Nieren und Harnblase waren in Mitleidenschaft gezogen, das Fleisch mürbe und brüchig. Nach einer Ortsveränderung, der Anwendung von Karbolsäure im Getränk und Injektionen einer Lösung derselben in die Geschlechtsteile bald nach der Geburt, hörten die Erkrankungen auf.

Auch die als bösartiges Katarrhfieber beschriebenen Erkrankungen des Schafes (sogenannter Schafrotz) haben mit der einen Form der Hohenseer Schafseuche eine gewisse Aehnlichkeit, da dieses Leiden ebenfalls mit den Erscheinungen eines eitrigen Nasenkatarrh, beginnt.

Friedberger beschreibt die Krankheit an drei in sein Institut zur Untersuchung geschickten Lämmern¹⁾.

Neben starker Abmagerung zeigten die Lämmer eiterige Conjunctivitis und Blepharitis, parenchymatöse Keratitis und Corneageschwüre. Ferner war ein schleimig-eitriger Ausfluß aus der Nase vorhanden, die Umgebung der Nase war mit zähem Schleime beschmiert, die Nasenlöcher verklebt. Das Allgemeinbefinden war schwer gestört, die Tiere waren traurig, zeigten niedergradiges Fieber und schwankten beim Gehen.

Bei der Sektion war die Nasenschleimheit namentlich an den oberen Partien scharlachrot bis schwarzblau gefärbt, stark glänzend und teils mit froschlauchähnlichem, teils mit schmutzig-graugelbem, rahmigem und klümperigem, käseähnlichem Belage versehen, nach dessen Entfernung sich Erosionen und Geschwüre zeigten.

Wagenfeld²⁾ beschreibt das Schnupfenfieber der Schafe und unterscheidet eine gutartige und eine bösartige Form. Die befallenen Schafe niesen häufig, sie bekommen gerötete, tränende, trübe Augen, in deren Winkeln sich Schleim ansammelt. Maul und Nase werden trocken und heiß, aus der Nase fließt ein gelblicher Schleim, es stellt sich Husten ein, und die Gegend um den Kehlkopf wird schmerzhaft.

Zuweilen wird das Fieber bösartig und das örtliche Leiden erreicht einen hohen Grad. Die Absonderung aus Maul und Nase wird reichlich und übelriechend, die Nasenöffnungen werden von anklebendem Schleim verschlossen, das Atmen wird immer beschwerlicher und wird schließlich mit geöffnetem Maule ausgeführt. Der Appetit und das Wiederkäuen haben aufgehört und die Tiere gehen, wenn sich dieser Schafrotz genannte Zustand entwickelt hat, unter Hinzutritt wässriger Anschwellungen und allgemeiner Entkräftung nach einigen Wochen oder noch später zugrunde.

1) Friedberger, Bösartiges Katarrhfieber beim Schafe (Schafrotz). (Münchn. Jahresber. 1882/1883.)

2) Wagenfeld, Vieharzneibuch und Gesundheitspflege der landwirtschaftlichen Haustiere. 1879. p. 245.

Die Ursachen der Erkrankung schreibt er Erkältungen durch regnerische kalte Witterung und durch raue Winde zu.

Miessner und Schern¹⁾ haben in einer längeren Arbeit über die Septicaemia pluriformis ovium geschrieben. Sie geben darin ein ausführliches Literaturverzeichnis der durch die Franzosen beschriebenen hämorrhagischen Septikämie oder Pasteurella der Schafe und des bösartigen Katarrhfiebers der Schafe (Schafrotz). Sie unterscheiden bei der Seuche eine akute, eine subakute und eine chronische Form.

Die akute Form wird hauptsächlich bei den Lämmern beobachtet, wobei die Tiere, ohne wesentliche Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, meist innerhalb eines Tages zugrunde gehen.

Das subakute Stadium ist gekennzeichnet durch Augen- und Nasenausfluß und Atembeschwerden. Es verläuft in der Regel in 14—21 Tagen tödlich. Die wesentlichen Veränderungen nach dem Tode bestehen in einer Lungenbrustfellentzündung.

Das chronische Stadium tritt bei jüngeren und älteren Tieren auf und ist durch Abmagerung, manchmal auch durch Atembeschwerden charakterisiert.

Bei der Obduktion finden sich wässerige Beschaffenheit der Muskulatur, Flüssigkeiten in den serösen Höhlen und manchmal auch die Residuen einer Lungen-Brustfellentzündung.

Als den Erreger der Seuche sehen Miessner und Schern ein Kurzstäbchen an, das in die Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehört und das sie als „Bacillus bipolaris ovissepticus“ bezeichnen.

Den Erreger konnten die Autoren niemals in den Organen der verendeten Schafe und Lämmer direkt nachweisen. Nach subkutaner Infektion von Kaninchen und Mäusen mit Stückchen von Rachenlymphknoten der verendeten Schafe starben die infizierten Tiere im Verlauf von 24 Stunden. Aus dem Herzblut der Impftiere konnten dann Reinkulturen der ovoiden Bakterien gewonnen werden, mit denen es gelang, bei Schafen die verschiedenen Stadien der Schafseuche hervorzurufen.

In den Schlußfolgerungen stellen die Forscher die Behauptung auf, daß die von ihnen beschriebene Septicaemia pluriformis ovium mit der in Frankreich und Argentinien beobachteten Pasteurella ovine bezw. Lombriz identisch ist.

Die von ihnen bei der subakuten und chronischen Form ermittelten Veränderungen halten sie für die gleichen, welche in Deutschland bei dem sogenannten Katarrhieber der Schafe (Schafrotz) beschrieben worden sind, und meinen dieserhalb, daß das in Deutschland schon fast seit einem Jahrhundert bekannte Katarrhieber der Schafe (Schafrotz) nichts weiter darstellt, als eine besondere Form der Septicaemia pluriformis ovium.

Ebenso gehört nach ihnen die von Becker beobachtete Pneumopleuresie der Schafe hierzu.

In keiner einzigen der in der Literatur beschriebenen Schafseuchen ist, soviel ich habe feststellen können, als mutmaßlicher Erreger ein dem *Diplococcus lanceolatus* ähnlicher Mikroorganismus ermittelt worden. Dagegen aber fand sich bei der Hohenseer Schafseuche in allen untersuchten Tieren bei der mikroskopischen Untersuchung ganz konstant

1) Miessner u. Schern, Septicaemia pluriformis ovium. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36.)

in allen inneren Organen und in den daraus angelegten Kulturen ein mit einer Kapsel umgebener lanzettförmiger *Diplococcus*.

Von allen seziierten Schafen wurden stets Teile der Milz, der Leber, der Nieren, des Herzens und der Lunge in Alkohol absolutus und Aceton \bar{a} zum Zwecke der Härtung gelegt und dann mit dem Mikrotom in 10 μ dicke Schnitte zerlegt. Die Schnitte wurden darauf entweder nach Gram oder nach der von Loeffler angegebenen Methode (Färben mit Eosin-Borax-Polychrommethylenblau 5 Minuten lang und Entfärben mit Tropäolin-Essigsäurelösung) gefärbt¹⁾. In allen Organen konnten stets die Diplokokken nachgewiesen werden. Sie lagen massenhaft teils in runden, teils in unregelmäßigen Haufen zusammen, ihre Lage war stets intercellulär sowohl im festen Gewebe wie im Blute.

In der Mehrzahl der Fälle war einzig und allein der *Diplococcus* aufzufinden, nur in den nicht mehr ganz frischen Kadavern fanden sich neben ihm noch Fäulnisbakterien.

Hiernach mußte mit größter Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß der *Diplococcus* der Erreger der Seuche war.

Morphologisches und kulturelles Verhalten des isolierten *Diplococcus*.

In den Ausstrichpräparaten aus der Milz, dem Herzblute und den Exsudaten war der *Diplococcus* meist von lanzettförmiger Gestalt und von einer Kapsel umgeben, die jedoch in Präparaten aus den meisten Kulturen nicht nachgewiesen werden konnte.

Nur auf Loefflerschem Serum konnten öfters Diplokokken mit deutlichen Kapseln gesehen werden.

Manchmal wuchs der Mikroorganismus auch zu kurzen schwach gekrümmten Ketten von 6—10 Gliedern aus, letztere kamen jedoch im Schafkörper nie vor, dagegen waren sie oft auf den künstlichen Nährböden, namentlich häufig in der Bouillon zu finden. Einzelkokken konnten ebenfalls in jedem Präparat bemerkt werden.

Der *Diplococcus* läßt sich nach Gram färben und zeigt im hängenden Tropfen keine Beweglichkeit, auch bildet er weder Sporen, noch besitzt er Geißeln.

Die Größe der Diplokokken, die mit Leitz Okular 4, Oelimmersion $\frac{1}{12}$ gemessen wurde, betrug 1,0—1,2 μ , die Einzelkokken waren 0,5 bis 0,6 μ groß.

Die Kultureigentümlichkeiten des *Diplococcus* sind folgende:

Er wächst auf Agar, Blutagar auf Loefflerschem Serum, in der Bouillon und sowohl auf der natürlich sauren, wie auf der alkalisch gemachten Kartoffel sehr gut. Auf Blutagar ist sein Wachstum ein so üppiges, daß er die ganze Oberfläche des Nährbodens mit einem dicken, grauen mattglänzenden Belage bedeckt, so daß es nur schwer bei starker Verdünnung gelingt, isolierte Kolonien zu gewinnen.

Auf gewöhnlichem Fleischwasserpeptonagar entwickeln sich bei 37 ° C innerhalb 24 Stunden feinste, zarte durchsichtige Kolonien mit scharfen Rändern, die einen eigentümlich speckigen Glanz besitzen. Haben die Kulturen einige Zeit gestanden, dann erscheinen die Kolonien flach, durchscheinend mit etwas verdicktem Zentrum.

1) Loeffler, Neue Verfahren zur Schnellfärbung von Mikroorganismen, insbesondere der Blutparasiten, Spirochäten, Gonokokken und Diphtheriebacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1907.)

Auf Loefflerschem Blutserum gedeiht der *Diplococcus* ebenfalls sehr gut. Es entsteht bei reichlicher Aussaat ein zuerst durchsichtiger, später matter werdender, dicker Belag mit scharfen Rändern.

In Bouillon erfolgt in 24 Stunden sehr gutes Wachstum und gleichmäßige Trübung ohne Häutchenbildung. Nach weiteren 48 Stunden ist die Bouillon wieder klar geworden, und ein grauer sandartiger Bodensatz entstanden. Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß in der Bouillon neben vereinzelt Diplokokken und Einzelkokken meistens längere, leicht gebogene Ketten von 8—12 Gliedern vorhanden sind. Gallenzusatz verhindert in der Bouillon das Wachstum.

Wird zu einer frischen, 24-stündigen Bouillonkultur Galle oder taurocholsaures Natrium hinzugesetzt, so verschwindet die Trübung, die Bouillon wird klar. Der *Diplococcus* wird mithin von der Galle oder taurocholsaurem Natrium aufgelöst.

Auf Kartoffelschnitten, sowohl auf den natürlichen mit saurer Reaktion wie auf den mit einem Tropfen Normal-Sodalauge alkalisch gemachten, zeigt sich nach 24 Stunden starkes Wachstum, das sich zuerst jedoch nur durch die mikroskopische Untersuchung nachweisen läßt, da der entstandene Belag das gleiche Aussehen wie die Kartoffeloberfläche besitzt. Erst nach einigen Tagen wird der Belag deutlicher erkennbar.

In Milch wächst der *Diplococcus* sehr gut, die Milch wird durch ihn nicht zum Gerinnen gebracht und in ihrer Reaktion nicht verändert.

In Gelatine tritt bei Zimmertemperatur nach 48 Stunden deutliches Wachstum ein. Es entstehen kleine durchsichtige Kolonien, die bei schwacher Vergrößerung grau und in der Mitte gekörnt erscheinen.

Im Gelatinestich zeigt sich längs des Stichkanals ein bandartiger, dünner Streifen. Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

Indol wird nicht gebildet.

Die Lebensfähigkeit des *Diplococcus* ist eine ziemlich große. Ueberimpfungen 4—6 Wochen alter Agarkulturen ergaben stets ein reichliches Wachstum. Ebenso behalten die Kulturen ziemlich lange ihre Virulenz.

Pathogenes Verhalten.

Um eine zu schnelle Abnahme der Virulenz zu verhindern, wurden die Diplokokken öfters durch einen Tierkörper geschickt, und zwar erwiesen sich hierzu die weißen Mäuse als die geeignetsten Tiere.

Zum Beweise, daß die bei den seziierten Schafen angetroffenen und auf künstlichen Nährböden gezüchteten Diplokokken die Erreger der Seuche waren, wurde mit ihnen eine Reihe von Infektionsversuchen ausgeführt.

Die Infektionsversuche wurden außer an Mäusen noch an Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Sperlingen und Schafen angestellt.

Am 13. Jan. wurden je 2 Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten mit je der Hälfte einer Agarkultur von Schaf I geimpft, und zwar erhielt von jeder Art das eine Tier die Dosis subkutan und das andere intraperitoneal. Alle Tiere bleiben gesund.

Am 20. Jan. wurden die beiden Kaninchen und die beiden Ratten nochmals je mit der Abschwemmung von 1 $\frac{1}{2}$ Agarkulturen ip. behandelt. Darauf starben alle 4 Tiere innerhalb 36—48 Stunden. Sie zeigten bei der Sektion eine hämorrhagische Peritonitis und Enteritis mit starker Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen, sehr großen weichen Milz-

tumor und blutigen Erguß im Herzbeutel. Die beiden Kaninchen hatten außerdem noch ein hämorrhagisches Oedem der Unterhaut des Bauches.

In allen Organen konnten die Diplokokken vermitteltst Ausstrichpräparaten massenhaft nachgewiesen werden.

Von einem mit je $\frac{1}{10}$ Kultur am 13. Jan. intramuskulär geimpften Sperlingspärchen war das Weibchen am nächsten Morgen tot. Bei der Sektion ließen sich Diplokokken ebenfalls in allen Organen nachweisen. Im Gegensatz zu den anderen Tieren waren im Herzblute des Sperlingsweibchens die Mikroorganismen häufig in leicht gekrümmten Ketten von 6—8 Gliedern vorhanden. Das Sperlingsmännchen blieb gesund.

Weißer Mäuse starben nach subkutaner oder intraperitonealer Verimpfung von $\frac{1}{10}$ Kultur stets im Laufe von 36—48 Stunden selbst bei Benutzung von 10 Tage alten Agarkulturen und zeigten bei der Sektion das Bild der allgemeinen Sepsis, hämorrhagische Infiltration der Unterhaut, großen Milztumor und hämorrhagische Exsudate in der Bauch- und Brusthöhle. In allen Organen konnten auch hier die Diplokokken durch Ausstrichpräparate und Anlegung von Kulturen nachgewiesen werden.

Von der größten Wichtigkeit waren die Infektionsversuche an 3 Schafen. Ich gebe sie deshalb ausführlicher wieder.

Schaf V.

Junges, einjähriges, gesundes Landschaf wird am 16. Jan. durch Inhalation zu infizieren versucht.

Ein Röhrchen frischer Herzblutkultur vom Schaf III wird in steriler Kochsalzlösung verrieben, möglichst fein zerteilt und dann durch einen Zerstäuber dem Schaf in die Nase geleitet, so daß das Tier die Lösung einatmen muß.

Am 17. Jan. ist das Schaf munter und anscheinend gesund. Temperatur $38,8^{\circ}$ C. Am 18. Jan. morgens ist es schwer krank. Es steht mit gesenktem Kopf im Stall, ist sehr matt und taumelt beim Gehen. Die Nasengegend ist geschwollen und schmerzhaft. Aus beiden Nasenöffnungen fließt schleimig-eiteriges Sekret. Außerdem zeigt das Tier andauernden Speichelfluß. Die Conjunctiven und die Nasenschleimhaut sind hochrot gefärbt, die Maulschleimhaut ist heiß. Die Atmung ist erschwert, sie geschieht 52mal in der Minute unter lautem Schniefen. Der Appetit und das Wiederkauen sind gänzlich geschwunden. Die Mastdarmtemperatur beträgt morgens 10 Uhr $40,9^{\circ}$ C. Mittags 12 Uhr ist das Schaf so schwach, daß es nicht mehr stehen kann. Der Tod erfolgt nachmittags 5 Uhr in tiefem Coma.

Sektion am 19. Jan. morgens 10 Uhr. Es besteht hämorrhagische Infiltration der Unterhaut in der Nasengegend. In der Bauchhöhle befindet sich ca. $\frac{1}{4}$ l trüben, dunkelroten Exsudates. Die Leber ist sehr groß und blutreich. Die Milz ist stark geschwollen und weich. Die Nieren sind sehr blutreich. Darm und Magen ohne erhebliche Veränderungen.

Im Pleurasacke befinden sich ca. 2 Eßlöffel eines trüben, rötlichen Exsudates. Im Herzbeutel ebenfalls trübes, rötliches Exsudat. Der Herzmuskel ist mürbe und brüchig und von grauer Farbe.

Beide Lungen zeigen starke Kongestion. Die vorderen Lungenlappen beider Lungen sind luftleer, von derber Konsistenz und haben auf dem Durchschnitt eine graurote Farbe.

Die Schleimhaut der Nase ist stark geschwollen, am Naseneingang ist sie hochrot, in der Mitte dunkelrot und in den oberen Partien schwarzrot gefärbt und stellenweise von einem schleimig-eiterigen Belage bedeckt.

Die Kehlkopf- und Luftröhrenschleimhaut ist geschwollen und zeigt dunkelrote Verfärbung. Ausstrichpräparate aus dem Bauchfellexsudat, der Milz, dem Herzblute und den hepatisierten Lungenlappen enthalten zahlreiche lanzettförmige Diplokokken mit Kapseln.

In den gefärbten Lungenschnitten liegen die Diplokokken in zahlreichen runden und unregelmäßigen Haufen zusammen.

Die Kulturen aus dem Bauchfellexsudat, der Milz, dem Herzblute und den Lungen enthalten zahlreiche feinste, durchsichtige Kolonien von etwas speckigem Glanz.

Alle Aussaaten sind Reinkulturen von Diplokokken.

Schaf VI.

Ca. 1 Jahr altes, gesundes, weibliches Landschaf. Es erhält am 16. Jan. $\frac{1}{2}$ Röhrchen Herzblutkultur von Lamm III. 2. Generation intraperitoneal. Am 17. Jan. morgens ist das Schaf schwer krank. Es ist matt, kann sich kaum auf den Füßen halten und zeigt andauerndes Muskelzittern. Die Atmung ist erschwert und beschleunigt, sie beträgt 60 Atemzüge in der Minute. Die Mastdarmtemperatur beträgt $40,6^{\circ}$ C. Nachmittags 3 Uhr beträgt sie $41,2^{\circ}$ C.

Exitus in der Nacht vom 17. zum 18. Jan.

Sektion am 18. Jan. morgens 10 Uhr.

Die Bauchdecken sind grünlich verfärbt, es besteht starker Fäulnisgeruch. Unterhaut am Bauche hämorrhagisch infiltriert.

In der Bauchhöhle ca. 1 l eines trüben, dunkelroten, mit Fibrinflocken durchsetzten Exsudates. Bauchfell mit zahlreichen Blutungen durchsetzt und mit Fibrinflocken bedeckt.

Milz sehr groß und weich. Leber brüchig mit stumpfen Rändern.

Im Herzbeutel ca. 2 Eßlöffel eines trüben, rötlichen Exsudates. Herzmuskel mürbe und graugelb. Starke Lungenkongestion.

Schleimhaut der Nase, des Kehlkopfes und der Trachea geschwollen und dunkelrot gefärbt.

Ausstriche aus dem Bauchfellexsudat und der Milz enthalten viele Diplokokken und Fäulnisstäbchen.

Kulturen aus dem Bauchfellexsudat, der Milz und dem Herzblute ergeben Reinkulturen von Diplokokken.

Schaf VII.

Jährling mit verkrümmten Beinen, innerlich gesund, erhält am 16. Jan. je eine Kultur von Lamm II und Schaf I (Herzblut, 2. Generation) per os.

Am 17. Jan. morgens 10 Uhr gesund.

Am 18. Jan. morgens 10 Uhr anscheinend gesund. Temperatur beträgt $39,5^{\circ}$ C. Nachmittags 4 Uhr $40,2^{\circ}$ C. Am 19. und 20. Jan. macht das Tier noch keinen sehr kranken Eindruck, die Temperatur steigt jedoch immer höher und beträgt am 20. Jan. nachmittags 3 Uhr $41,4^{\circ}$ C.

Am 21. Jan. ist das Schaf sichtlich schwer krank und zeigt schleimig-eiterigen Nasenausfluß sowie anhaltenden Speichelfluß. Die Temperatur beträgt morgens 10 Uhr $37,4^{\circ}$ C.

Exitus am 21. Jan. morgens 11 Uhr.

Hämorrhagische Bauchfellentzündung mit viel trübem, dunkelrotem Exsudat. Der Dünndarm ist hochrot gefärbt. Die Dünndarmschleimhaut ist stark geschwollen und von dunkelroter Farbe. Die Mesenterialdrüsen sind stark vergrößert, von feuchtem, spiegelndem Durchschnitt.

Die Nasenschleimhaut ist von unten nach oben hochrot bis schwarzrot gefärbt, stark geschwollen und von spiegelndem Glanze. Die Kehlkopf- und Luftröhrenschleimhaut ist geschwollen und stark gerötet.

Ausstrichpräparate aus dem Bauchfellexsudat, der Milz und dem Herzblute enthalten zahlreiche Diplokokken.

Kulturen aus dem Bauchfellexsudat, der Milz und dem Herzblute ergeben zahlreiche feine Kolonien von Diplokokken.

Uebersicht.

Aus diesen Infektionsversuchen geht hervor, daß der beschriebene *Diplococcus* der Erreger der Schafseuche ist, denn es ist zweifelsohne gelungen, mit seinen Reinkulturen Schafe krank zu machen und zu töten und bei ihnen durch Inhalation, durch Verfütterung und durch intraperitoneale Impfung Krankheitserscheinungen hervorzurufen, denen gleich, die an den erkrankten Schafen in Hohensee beschrieben wurden.

Alle 3 Impfschafe wiesen bei der Sektion die Veränderungen der allgemeinen Sepsis auf, wie die spontan erkrankten Tiere.

Schaf 5, das durch Inhalation infiziert wurde, zeigte fast genau dieselben Krankheitserscheinungen, wie die Schafe, die von mir am 9. Jan. in Hohensee untersucht worden waren. Nach einer Inkubationsdauer von ca. 36 Stunden war es am Morgen des 18. Jan. schwer krank. Es stand mit gesenktem Kopf im Stall und taumelte beim Gehen. Die Atmung war beschwert und beschleunigt. Die Temperatur betrug 40,9 C. Aus beiden Nasenöffnungen floß schleimig-eitriges Sekret. Die Nasengegend war angeschwollen und schmerzhaft. Die Augenschleimhäute und die Nasenschleimhäute waren hochrot gefärbt.

Bei der Sektion zeigte es dieselben pathologisch-anatomischen Veränderungen wie das Schaf II, nur daß bei ihm noch eine Hepatisation der vorderen Lungenlappen eingetreten war, die dem spontan erkrankten Schaf II fehlte.

Das durch Infektion per os getötete Schaf VII hatte dahingegen als Hauptveränderung eine hämorrhagische Bauchfell- und Dünndarmentzündung mit starker Schwellung der mesenterialen Lymphdrüsen aufzuweisen. Außerdem war ebenfalls eine hämorrhagische Rhino-Laryngo-Tracheitis vorhanden, die auch bei dem Schaf VI, das durch intraperitoneale Impfung infiziert worden war, nicht fehlte, wengleich bei diesem Tiere die Veränderungen auf der Nasenschleimhaut nicht so hochgradig waren, wie bei den anderen beiden Impfschafen.

Nach dem Ausfall dieser Infektionsversuche ist daher anzunehmen, daß auch die Metritis, an der die Mutterschafe in Hohensee zuerst erkrankten, sich durch Impfung würde ebenso leicht haben hervorrufen lassen wie die anderen Erscheinungen, wenn mir ein gebärendes Mutterschaf zur Verfügung gestanden hätte.

Der Infektionsmodus unter den natürlichen Verhältnissen ist daher vollkommen klar.

Die Mutterschafe infizierten sich durch Aufnahme der Diplokokken in die Scheide und Gebärmutter. Durch den Scheidenausfluß, der durch das fortwährende wehenartige Drängen der erkrankten Schafe erfolgte und der die Diplokokken in Unmengen enthielt, wurde der Infektionsstoff im Stalle überall verbreitet. Die neugeborenen Lämmer konnten sich deshalb sehr leicht durch die Aufnahme derselben per os oder durch den Nabel infizieren. Die anderen erwachsenen Schafe und älteren Lämmer, die später unter den Erscheinungen des eitrigen Nasenkatarrhs

erkrankten, nahmen die Diplokokken höchstwahrscheinlich durch die Nase oder per os auf.

Der beschriebene Diplococcus, der Erreger der Hohenseer Schafseuche, gehört nach seinem morphologischen und biologischen Verhalten zum Streptococcus oder Diplococcus lanceolatus oder Pneumococcus. Er ist, wie dieser, ein gewöhnlich etwas in die Länge gezogener Coccus, der an den Enden deutlich lanzettförmig zugespitzt ist und manchmal auch kürzere Kettchen bildet.

Der Diplococcus pneumoniae ist, wie jener, ebenfalls unbeweglich und zeigt sich, im Gewebe liegend, von einer deutlichen Kapsel umgeben, während beide die Kapselbildung in den künstlichen Kulturen nicht darbieten¹⁾.

Der Schaf-Diplococcus färbt sich wie der Pneumococcus mit den gewöhnlichen wässerig-alkoholischen Farbstofflösungen und auch nach der Gramschen Methode.

Auf der Oberfläche von Agar und Blutserum bilden beide Mikroorganismen äußerst feine, wie aus einzelnen Tautropfen zusammengesetzt erscheinende Ueberzüge, welche an die der Streptokokkenkulturen erinnern.

Auf Gelatineplatten sind die Kolonien beider sehr klein und erscheinen unter dem Mikroskop hell- bis dunkelgrau und fein gekörnt. In der Fleischbrühe lassen sie eine allgemeine Trübung und später ein lockeres, weißes Sediment entstehen²⁾.

Beide sind für Kaninchen, für Meerschweinchen und weiße Mäuse pathogen. Während jedoch der Diplococcus pneumoniae auf künstlichen Kulturen nur bei höherer Temperatur und in der Regel unter 22° C ein Wachstum nicht erkennen läßt, gedeiht der Schaf-Diplococcus auf den künstlichen Nährböden auch bei Zimmertemperatur sehr gut.

Es gibt jedoch atypische Repräsentanten des Diplococcus pneumoniae, die auch unter 22° C bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wachsen. Diese bilden in Fleischbrühe ein stärkeres Sediment und lassen dann unter dem Mikroskop längere Ketten erkennen, also ähnliche Verbände wie beim Streptococcus pyogenes.

Zu dem atypischen Verhalten des Diplococcus pneumoniae gehört auch nach Weichselbaum das Nichtauftreten von Säure und das Nichtgerinnen der Milch³⁾.

Der Diplococcus der Schafseuche muß deshalb als ein solch atypischer Stamm des Diplococcus pneumoniae angesprochen werden.

Aus diesem Grunde war es interessant, zu erfahren, ob das von den Höchster Farbwerken hergestellte Antipneumokokkenserum weiße Mäuse gegen die Infektion mit dem aus dem Schafkörper stammenden Diplococcus schützen würde.

Zu diesem Zwecke erhielt am 29. Jan. eine weiße Maus 0,5 ccm Antipneumokokkenserum ip. Am nächsten Morgen erhielt sie $\frac{1}{10}$ Kultur von Schaf 7, 2. Generation vom 28. Jan. ip.

Eine andere nicht mit Serum vorbehandelte Maus wurde ebenfalls mit $\frac{1}{10}$ Kultur von demselben Röhrchen ip. geimpft.

1) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1906. p. 746.

2) Weichselbaum, A., Handb. d. pathogen. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1900. p. 200.

3) Weichselbaum, A., Handb. d. pathogen. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann. Bd. 3. 1903. p. 202.

Die mit Serum behandelte Maus blieb am Leben, während das Kontrolltier 48 Stunden nach der Infektion daran einging.

Am 3. Febr. wurde dieser Versuch nochmals ausgeführt. Eine weiße Maus erhielt 1 ccm, zwei andere erhielten je 0,5 ccm Antipneumokokkenserum ip., und 24 Stunden später wurden diese Tiere wiederum nebst einer Kontrollmaus mit je $\frac{1}{10}$ Kultur von Maus 9 vom 2. Febr. ip. geimpft.

Die mit Serum behandelten Tiere blieben auch hier am Leben, während die Kontrollmaus nach 48 Stunden starb.

In allen Organen derselben konnten die Diplokokken durch Ausstrichpräparate und Kulturen nachgewiesen werden.

Da mir die Höchster Farbwerke 500 ccm Antipneumokokkenserum für Versuchszwecke liebenswürdigst zur Verfügung gestellt hatten, konnte ich nun nach dem positiven Ausfall der Laboratoriumsversuche daran denken, Impfversuche bei Schafen vorzunehmen.

Am 14. Febr. traf ich in Hohensee vier schwer an dem eitrigen Nasenkatarrh erkrankte erwachsene Schafe und zwei ca. 10 Wochen alte Lämmer an, die ebenfalls diese Krankheitsform deutlich erkennen ließen. Die Schafe waren wie die Lämmer seit 12—36 Stunden krank, und zwei Schafe und ein Lamm waren schon so matt, daß sie nicht mehr stehen konnten. Trotzdem gab ich allen 6 Tieren von dem Antipneumokokkenserum, und zwar den Schafen je 30 und den Lämmern je 10 ccm ip. Alle Impflinge starben trotz der Seruminjektion, doch blieben sie mit Ausnahme von den beiden schwer erkrankten Schafen und dem einen Lamm, die schon während der nächsten 12 Stunden verendeten, bis zum 18. und 19. Febr. am Leben.

Am 17. Febr. erhielten zwei frisch erkrankte Schafe von dem Administrator des Gutes je 30 ccm Serum subkutan.

Am 19. Febr. fand ich sie verhältnismäßig munter. Sie hatten zwar seit dem 17. keine Nahrung mehr aufgenommen, doch machten sie keinen so schwachen Eindruck, wie sonst die Schafe, die seit 2 Tagen krank waren. Als ich zu ihnen in die Bucht trat, liefen sie wie gesunde Schafe, die man greifen will, davon, und zeigten bei der Untersuchung keine beschleunigte Atmung und keinen erheblichen Nasenausfluß. Die Schwellung der Nasengegend, die die früher erkrankten Schafe stets darboten, war nicht vorhanden. Diese Schafe sind nach einer brieflichen Mitteilung am 24. und 25. Febr. gestorben.

Da durch die Serumimpfung das Leben der erkrankten Schafe bedeutend verlängert wurde, mußte ich annehmen, daß das Serum eine gewisse Heilwirkung ausgeübt hatte. Deshalb ging ich am 19. Febr. daran, die Schutzwirkung des Serums zu erproben.

12 zweijährige Schafe aus dem verseuchten Stalle erhielten je 10 ccm Antipneumokokkenserum und 18 einjährige Schafe je 5 ccm subkutan.

Die vorher gekennzeichneten Schafe verblieben in dem Stall und ließen keine Krankheitserscheinungen bis zum 1. März erkennen, während von den anderen noch darin befindlichen nicht schutzgeimpften 70 Schafen bis dahin noch 4 an der Seuche eingingen.

Da an diesem Tage mit dem Abfahren des Düngers begonnen wurde, und alle Schafe während dieser Zeit in einen anderen Stall gebracht wurden, kamen jetzt neue Erkrankungsfälle nicht mehr vor und mußte auch von weiteren Impfversuchen abgesehen werden.

Schlußbetrachtung.

Aus dem Vorstehenden ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

1) In Hohensee (Kr. Greifswald) herrschte im Winter 1909/10 eine Seuche unter den Schafen, der zuerst Mutterschafe, dann neugeborene Lämmer und schließlich auch andere erwachsene Schafe und ältere Lämmer erlagen.

2) Aus allen an der beschriebenen Seuche verendeten Schafen konnte ein und derselbe *Diplococcus* isoliert und gezüchtet werden.

3) Dieser *Diplococcus* ist nach seinem morphologischen, biologischen und kulturellen Verhalten als zum *Diplococcus pneumoniae* gehörig anzusehen.

4) Mit diesem *Diplococcus* konnten durch Inhalation, durch intraperitoneale Impfung und durch Verfütterung bei gesunden Schafen die gleichen klinischen Erscheinungen und pathologisch-anatomischen Veränderungen hervorgerufen werden, die die spontan erkrankten Schafe gezeigt hatten.

Der *Diplococcus* ist aus diesem Grunde der Erreger der Seuche.

Der *Diplococcus* kann daher *Streptococcus* oder *Diplococcus lanceolatus ovium* benannt werden.

Zum Schlusse spreche ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimen Medizinalrat Professor Dr. Loeffler, für sein stets großes Interesse, seine freundliche Belehrung und Unterstützung meinen herzlichsten Dank aus.

Auch ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Kollegen Dr. Schipp, der mich öfters vertreten hat, wenn ich durch meine Praxis abgerufen wurde, für seine Liebenswürdigkeit zu danken.

Literatur.

- Deigendesch, Septicaemia puerperalis. (Repertorium f. Tierheilk. 1880.)
 Friedberger, Bösartiges Katarrhalfieber beim Schafe (Schafrotz). (München. Jahresber. 1882/83.)
 Friedberger-Fröhner, Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie. 1900.
 Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1906.
 Loeffler, Neue Verfahren zur Schnellfärbung von Mikroorganismen, insbesondere der Blutparasiten etc. (Deutsche med. Wochenschr. 1907.)
 Miessner u. Schern, Septicaemia pluriformis ovium. (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36. 1910.)
 Schleg, Brandige Gebärmutterentzündung beim Schafe. (Sächs. Jahresber. 1883.)
 Sturm, Endometritis bei Schafen. (Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. 1885.)
 Wagenfeld, Vieharzneibuch und Gesundheitspflege der landwirtschaftlichen Haustiere. 1879.
 Weichselbaum, A., Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber komplementbindende und rabizide Substanzen im Blute wutkranker Kaninchen.

[Aus dem bakteriologischen Institut zu Charkow.]

Von Dr. S. Kozewaloff.

In der vorliegenden Arbeit beabsichtigte ich: 1) festzustellen, ob im Blutserum von Kaninchen, die an Infektion durch Virus fixe verendeten, komplementbindende Substanzen nachzuweisen sind; 2) die Behauptung Maries, daß das Serum wutkranker Tiere keine rabizide Substanzen enthält, nachzuprüfen.

In der mir zugänglichen Literatur konnte ich über die Frage der Anwesenheit komplementbindender Substanzen im Serum wutkranker Tiere keinerlei Angaben finden. Die Arbeit von Heller und Tomarkin¹⁾ bezieht sich auf die Komplementbindung durch das Serum immunisierter Kaninchen. Sie haben ihre Versuche mit Blutserum von Kaninchen, die mit getrocknetem Gehirn und antirabischem Serum von Marie immunisiert waren, ausgeführt. Als Antigen benutzten sie Gehirnsaft von Kaninchen, die an Infektion von Virus fixe oder Straßenvirus verendeten. Dieser Saft wurde unter dem Druck von 350 Atmosphären ausgepreßt. Ihre Versuche haben folgendes ergeben: Die Immunsere zeigten Komplementbindung sowohl mit Extrakten aus rabischen (durch Virus fixe oder Straßenvirus) Gehirnen, wie auch mit Extrakten aus normalem Gehirn. Normales Serum ergab keine Komplementbindung. Dieses Resultat war im voraus zu erwarten, weil bei der Immunisierung mit rabischer Nervensubstanz als Antigen nicht nur die spezifisch rabische Substanz, sondern auch die Nervensubstanz an und für sich wirksam ist, und es entstehen auf diese Weise im Blute entsprechende Antinervensubstanzen, welche Komplementbindung mit Extrakten aus Nervengewebe ergeben. Auch Friedberg²⁾, der dieselbe Frage bearbeitete, kam zu einem negativen Resultat. Die Anwesenheit spezifischer komplementbindender Substanzen bei verschiedenen Krankheiten ist in der letzten Zeit mit Sicherheit nachgewiesen worden. Man fand sie bei Abdominaltyphus, Typhus recurrens, gonorrhöischen Erkrankungen, Rotz und manchen anderen Erkrankungen. Eine besondere Bedeutung hat die sogenannte Wassermannsche Reaktion für die Diagnose der Syphilis erworben.

Sollte es gelingen, die Entstehung spezifischer komplementbindender Substanzen im Verlaufe der Wutkrankheit nachzuweisen, so wäre damit ein wichtiges Hilfsmittel zur Diagnose dieser Krankheit gewonnen.

Zu meinen Versuchen benutzte ich das Blut von Kaninchen, die mit dem Charkower Virus fixe infiziert waren. Die Blutentnahme geschah einen Tag vor dem Tode der Tiere, d. h. am 8.—9. Tage nach der Infektion. Die Kaninchen zeigten zu dieser Zeit deutliche Lähmungs-

1) Heller und Tomarkin, Ist die Methode der Komplementbindung beim Nachweis spezifischer Stoffe für Hundewut und Vaccine brauchbar? (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 20.)

2) Friedberg, Hat die Methode der Komplementablenkung eine Bedeutung für die Diagnose der Lyssa? (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 29.)

erscheinungen. Das Blut wurde aus der Carotis oder aus dem Herzen entnommen.

Es wurden Sera von 10 Kaninchen, die an Infektion mit Virus fixe verendeten und von 1 Kaninchen, das mit Straßenvirus infiziert war, geprüft. Es wurden sowohl wässrige als auch alkoholische Antigene benutzt. Bei der Zubereitung derselben wurde die Methodik von Wassermann und anderen Autoren befolgt. Im ganzen sind bei den Versuchen fünf verschiedene Antigene zur Anwendung gelangt.

Antigen No. 1 wurde aus dem Gehirn eines an Infektion mit Virus fixe verendeten Kaninchens in folgender Weise hergestellt; Das Gehirn wurde im Mörser zerrieben, mit einer 10-fachen Menge Alkohol vermischt und im Schüttelapparat 5—6 Stunden bearbeitet. Nach 24 Stunden wurde durch ein Papierfilter filtriert.

Antigen No. 2 wurde in derselben Weise aus der Leber desselben Kaninchens hergestellt. Die Leber wurde im Apparate von Latapie zerrieben.

Antigen No. 3 war ein wässriger Extrakt aus dem Gehirn eines wutkranken Kaninchens. Herstellung wie bei No. 1, wobei auf 1 Teil Gehirns substanz 5 Teile Kochsalzlösung genommen wurden.

Antigen No. 4 ein wässriger Extrakt aus dem Gehirn eines normalen Kaninchens. Herstellung wie bei No. 3.

Antigen No. 5 ein alkoholischer Extrakt aus dem Gehirn eines normalen Kaninchens.

Außerdem wurde als Antigen eine frisch bereitete 1-proz. Aufschwemmung aus Virus fixe, die durch einen Papierfilter durchgelassen wurde, benutzt. Bei sämtlichen Versuchen wurden alle notwendigen Kontrollen, darunter auch die Kontrolle mit normalem Serum, angesetzt.

Von den wässrigen und alkoholischen Antigenen wurde für jeden Versuch 0,1—0,4 angewandt. Von denjenigen Antigenen, die eine frisch bereitete Aufschwemmung normaler oder rabischer Gehirns substanz darstellten, wurde für jedes Reagensglas 1,0 genommen. Das Serum wurde in Mengen von 0,05—0,1—0,2 angewandt; in einzelnen Versuchen wurde 0,4 Serum angewandt. Das Serum wurde $\frac{1}{3}$ Stunde bei 56° C inaktiviert. Als Komplement diente Meerschweinchenserum. Bei jedem Versuche wurden sämtliche Antigene benutzt. Die Antigene wurden in der Weise mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, daß in je 1 ccm 0,2 des Antigens enthalten war. Die Komplementverdünnung enthielt in je 1 ccm 0,1 Meerschweinchenserum. Das Gemisch von Antigen, Serum und Komplement kam auf 1 Stunde in den Brutschrank (bei 37° C), wonach in jedes Reagensglas 2 ccm eines Gemisches aus gleichen Teilen einer 5-proz. Hammelblutkörperchenemulsion und eines hämolytischen Ambozeptors (Verdünnung 1:300) hinzugefügt wurde. Die Reagensgläser kamen wiederum auf $\frac{1}{2}$ Stunde in den Brutschrank und dann auf Eis. Die Resultate wurden am nächsten Tage abgelesen. Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt (s. Tabelle p. 566).

Nach diesem Schema wurden Versuche mit den Seris von 11 Tieren angestellt, wobei sowohl die Mengen der Sera, wie die der Antigene variierten. Jedes Serum wurde mit sämtlichen Antigenen geprüft.

Die Resultate dieser Versuche sind durchweg negativ ausgefallen. In einzelnen Versuchen konnte zwar eine Komplementbindung festgestellt werden, aber dies geschah nur in den Fällen, bei welchen außer dem rabischen auch das normale Serum eine Komplementbindung zeigte.

No. der Reagensgläser	Antigen	Rabisches Serum	Normales Serum	Komplement	Phys. Kochsalzlösung	Resultat
1	0,2	0,2	—	0,1	0,8	Hämolyse
2	0,2	0,1	—	0,1	0,9	dgl.
3	0,2	—	0,2	0,1	0,8	"
4	0,2	—	0,1	0,1	0,8	"
5	0,2	0,2	—	—	1,8	keine Hämolyse
6	0,2	—	0,2	—	1,8	dgl.
7	0,2	—	—	0,1	0	Hämolyse
8	0,2	—	—	0,1	1,0	dgl.
9	0,2	—	—	—	2,0	keine Hämolyse
10	—	0,2	—	0,1	1,8	Hämolyse
11	—	0,1	—	0,1	1,9	dgl.
12	—	—	0,2	0,1	1,8	"
13	—	—	0,1	0,1	1,9	"
14	—	—	—	0,1	2,0	"
15	—	—	—	—	3,0	keine Hämolyse
16	—	0,2	—	—	2,8	dgl.
17	—	—	0,2	—	2,8	"

Der zweite Teil meiner Arbeit bezweckte, wie ich schon oben erwähnt habe, die Versuche von Marie¹⁾ über den Gehalt von rabiziden Substanzen im Serum wutkranker Tiere nachzuprüfen.

Bekanntlich enthält das Serum der Säugetiere in der Norm keine rabiziden Substanzen, während das Serum mancher Vogelarten rabizide Eigenschaften besitzt.

Marie vermischte Kaninchensera, welche zu verschiedenen Perioden nach der Infektion entnommen wurden, in verschiedenen Mengen mit einer 1-proz. Aufschwemmung von Virus fixe. Es gelang ihm kein einziges Mal, eine rabizide Wirkung des Serums zu beobachten.

Meine Beobachtungen bestätigen in vollem Maße die Untersuchungen von Marie. Ich vermischte das nicht inaktivierte Serum mit einer durch Fließpapier filtrierten 1-proz. Aufschwemmung von Virus fixe, wobei das Serum in 3—5-facher Menge der Giftaufschwemmung genommen wurde. Das Gemisch blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurde dann Kaninchen subdural verimpft.

In 10 auf diese Weise ausgeführten Versuchen konnte ich kein einziges Mal beobachten, daß die Kaninchen länger am Leben bleiben als bei der Infektion mit einer reinen Aufschwemmung von Virus fixe.

Es gelang also, in dem Blute von Kaninchen, welche nach Infektion mit dem Charkower Virus fixe an Wut erkrankten, weder komplementbindende noch rabizide Substanzen nachzuweisen.

1) Marie, L'étude expérimentale de la rage. Paris 1909. p. 188.

Nachdruck verboten.

Differentialdiagnose des Typhusbacillus und des Bacterium coli durch besondere gefärbte Kulturböden.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität Palermo.
(Direktor: Prof. A. Trambusti).]

Von Dr. E. Calandra, Assistenten.

Eine größere Anzahl von Bakteriologen hat sich bereits mit den Farbänderungen, die durch die verschiedene Mikrobentätigkeit in den gefärbten Kulturböden hervorgerufen werden, zur Differenzierung ähnlicher Formen von Mikroorganismen beschäftigt.

Schon 1887 benutzte Spina¹⁾ die Methylenblaulösung als Kulturmittel, und beobachtete, daß einige Mikroorganismen sie entfärben, während andere keinerlei Aenderung darin hervorrufen. In dem gleichen Jahre studierte D'Abundo²⁾ die Entwicklung des Typhusbacillus in mit Methylenblau gefärbtem Wasser, und bemerkte, daß dieser Bacillus sich färbt, ohne das Medium zu entfärben. Dasselbe ist bei mit Fuchsin, Methylviolett, Bismarckbraun gefärbtem Wasser der Fall, doch tritt hier nach einigen Tagen neben der Färbung des Bacillus eine ausgesprochene Entfärbung des Mediums ein, ohne daß jedoch der oberflächlichste Teil desselben an der Entfärbung teilnimmt. Beim Schütteln der Flüssigkeit tritt die Farbe wieder auf, aber verblaßt.

Im Jahre 1888 studierte Birch-Hirschfeld³⁾ ebenfalls die Färbung und Entfärbung der Kulturmittel durch verschiedene Bakterien, und Noeggerath⁴⁾ setzte in demselben Jahr eine Farblösung aus Methylenblau, Genvianviolett, Chrysoidin, Fuchsin und destilliertem Wasser zusammen, um die durch verschiedene Mikroorganismen darin hervorgerufenen Aenderungen zu studieren.

Diese Lösung wurde zu dem nämlichen Zweck, aber mit abweichenden Resultaten von mehreren anderen Forschern verwendet, wie von Grancher und Dechamps⁵⁾, Max Holz⁶⁾, J. Gasser⁷⁾ usw. Für das spezielle Studium der Differenzierung des Typhusbacillus von dem Bacterium coli führte Wurtz⁸⁾ den Gebrauch der Lackmuskultur in leicht alkalischen Medien mit Milchzucker ein; nach ihm verwendete Kashida⁹⁾ dieses Reagens mit Zusatz von Harnstoff, und weiterhin noch bedienten sich Emery¹⁰⁾ u. a. dieses Mittels. Gasser¹¹⁾ benutzte mit Fuchsin versetzten Agar-Agar, Elsner¹²⁾ einen Kulturboden mit Jodkalium, welcher dann von Grimbert¹³⁾ modifiziert wurde,

1) Spina, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 2. 1889. p. 71.

2) D'Abundo, Rif. med. 1889. Dez.

3) Birch-Hirschfeld, Arch. f. Hyg. 1888. p. 341. — Centralbl. f. d. med. Wiss. 1888. p. 449.

4) Noeggerath, Fortschr. d. Med. Bd. 6. 1888. p. 1.

5) Grancher et Dechamps, Arch. d. méd. exp. et d'anat. path. 1889. p. 40.

6) Holz, Max, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. p. 143.

7) Gasser, J., Arch. de méd. expér. 1890. p. 750.

8) Wurtz, Arch. de méd. exp. 1892. p. 85.

9) Kashida, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. 16. 1897. p. 802.

10) Emery, Rev. d'hyg. et de polic. sanit. 1902.

11) Gasser, J., l. c.

12) Elsner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16. 1895.

13) Grimbert, Soc. de Biologie. 1896. 4. Juli.

Ramond¹⁾ das Säurerubin, Abba²⁾, Graziani³⁾, Merieux und Garrè⁴⁾ das Phenolphthalein, Graziani⁵⁾ und Gautié⁶⁾ das Fluorescein, Rothberger⁷⁾, Wolff⁸⁾, Reshenberger⁹⁾, Oldekop¹⁰⁾ das Neutralrot. Savage¹¹⁾ modifizierte den Kulturboden des letzteren Autors, welche Modifikation in der Dissertation von Gézes¹²⁾ reproduziert wurde, Pacinotti¹³⁾ experimentierte mit aus Kaffee in Eiweiß erhaltenem Grün. S. Endo¹⁴⁾ mit durch Natriumsulfit entfärbtem Fuchsin, das auch von Ruata¹⁵⁾ von Bologna und von Max Herford¹⁶⁾ verwendet wurde. Heller und Scheffler¹⁷⁾ modifizierten das Medium Rothbergers. Das Malachitgrün wurde von der Schule Löfflers¹⁸⁾, von Kiralyfi¹⁹⁾ Leuchs²⁰⁾, Jorns²¹⁾, Lentz und Tietz verwendet; laktosierter Agar mit Lackmus von Drigalski und Conradi²²⁾; Lackmus von Barsiekow²³⁾ und Petruschky²⁴⁾. Viele dieser Kulturböden wurden dann mit verschiedenem Erfolg von hervorragenden Bakteriologen kontrolliert, und zwar unter anderen von Bormans²⁵⁾, der die hauptsächlichsten bisher für die Differenzierung des Typhusbacillus und des *B. coli* vorgeschlagenen Methoden einer Durchsicht unterzog und genaue Beobachtungen über die Böden von Ramond, Abba, Wurtz, Robin, Gasser, Rothberger, Mankowski, Elsner u. a. anstellte.

Aus diesem kurzen Ueberblick ist leicht zu ersehen, wie zahlreich die zur Erkennung differenter Bakterienspecies verwendeten Farben gewesen sind und wie viele von ihnen sich zu diesem Zweck höchst nützlich erwiesen haben. So habe auch ich gefärbte Kulturböden zur Differenzierung des Typhusbacillus vom *B. coli* benutzen wollen, und zwar verwendete ich dabei neben Kongorot, Neutralrot, Lackmus, das Alkaliblauf von Kuhne, Brillantkresylblau und eine von mir dargestellte grüne Farbe, auf die ich weiter unten eingehen werde.

Die Resultate, die ich kurz darlegen werde, sind ziemlich befriedigend und derartig, daß sie mich noch mehr in der Ueberzeugung bestärken, daß der Typhusbacillus und das *Bacterium coli* zwei morphologisch ziemlich ähnliche Bakterienspecies, aber als Mikrobenindividualitäten durchaus verschieden sind, im Gegensatz zu der Schule von Lyon, welche

- 1) Ramond, Soc. de Biologie. 1896. No. 28.
- 2) Abba, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 19. 1897. p. 13.
- 3) Graziani, Arch. de méd. exp. T. 9. 1896. p. 98.
- 4) Merieux et Garrè, Lyon méd. 1898. 13. Nov.
- 5) Graziani, l. c.
- 6) Gautié, Thèse. Toulouse. 1899.
- 7) Rothberger, Brit. med. Journ. 1901. p. 400.
- 8) Wolff, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 33. p. 645.
- 9) Reshenberger, Philadelphia med. Journ. 1902. No. 10.
- 10) Oldekop, Bull. Inst. Pasteur. 1904.
- 11) Savage, s. Gézes.
- 12) Gézes, Thèse. Lyon 1902.
- 13) Pacinotti, Gazz. Ospit. 1899. 1. Sem. p. 259.
- 14) Endo, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. p. 109.
- 15) Ruata, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904.
- 16) Herford, Max, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.
- 17) Heller u. Scheffler, Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 28. 1900.
- 18) Löffler, Bull. Inst. Pasteur. T. 4.
- 19) Kiralyfi, Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1906.
- 20) Leuchs, Dtsche med. Wochenschr. 1906. p. 1330.
- 21) Jorns, Hygien. Rundschau. Bd. 14. p. 713.
- 22) Drigalski u. Conradi, } s. Kolle u. Hetsch, Experimentelle
- 23) Barsiekow, } Bakteriologie u. Infektionskrankheiten.
- 24) Petruschky, }
- 25) Bormans, Riv. d'ig. e sanit. pub. 1908. No. 2.

die spezifische Identität dieser beiden Bakterien vertritt. Ich werde zunächst die Entwicklung des Typhus- und des Coli-Bacillus in den verschiedenen von mir benutzten gefärbten Medien, die zur Erhaltung der gewollten Farbe eingeschlagene Technik und die von derselben durch die Bakterienwirkung erlittenen Alterationen besprechen, um dann auf die mikroskopischen Beobachtungen einzugehen, wobei ich die verschiedenen durch die erwähnten Bakterien in den verwendeten Böden erlittenen morphologischen Alterationen verzeichnen werde.

Versuche.

Bouillon und Gelatine mit Lackmus.

Im Autoklaven sterilisiere ich die Lackmustinktur und füge davon 8 Tropfen zu je 10 ccm Bouillon oder Gelatine derart, daß sowohl die Bouillon wie die Gelatine blau gefärbt mit violetten Reflexen erhalten wird. In die Röhren säe ich eine gleiche Menge Bakterienmaterials (2 Oesen einer 24-stündigen Bouillonkultur) und stelle sie in den Ofen, und zwar die Bouillon bei 37°, die Gelatine bei 28°, so daß diese eine syrupartige Konsistenz annimmt.

Nach 24 Stunden ist die Trübung der Bouillon mit dem B. coli und die mit dem Typhusbacillus eine erhebliche, doch ist in der ersteren die blaue Farbe in orangegelb und in der zweiten in Erdbeerrot umgeschlagen.

An der Oberfläche der Flüssigkeit wird eine Zone von ca. 2 mm von blauer Farbe wahrgenommen, welche mehrere Tage lang persistiert und beim Schütteln der Röhren sich über die ganze Flüssigkeit verbreitet und die Bouillon mit dem Typhus Rot-Violett und die mit dem B. coli hell Orange-Violett verfärbt. Nach einer verschieden langen Zeit kehrt in beiden die vollständige Entfärbung zurück, wobei jedoch die blaue Zone an der Oberfläche erhalten bleibt. Bei nochmaligem Schütteln tritt wieder die blaue Farbe sehr verblaßt und ohne Einschläge in das Rot auf. Der Zeitpunkt des Anfanges der Alteration der Farbe schwankt je nach den verwendeten Stämmen und nach dem Grad ihrer Virulenz. So habe ich in einigen Fällen den Anfang der Entfärbung 3 Stunden nach der Aussat beim Bacterium coli und nach 5 Stunden beim Typhusbacillus erhalten; in gewissen anderen Fällen nach 48 Stunden. Jedenfalls jedoch tritt die Reaktion konstant zuerst in der Bouillon mit dem Coli-Bacillus ein.

In der Gelatine mit Lackmus geht die Reaktion in umgekehrter Weise vonstatten; mit dem Typhusbacillus nämlich wird die blaue Farbe nach 24 Stunden magentarot mit in der ganzen Gelatine zerstreuten zahlreichen kleinen Flöckchen und einem dünnen Häutchen von himmelblauer Farbe an der Oberfläche; mit Coli-Bacillus hingegen tritt keine Spur von Farbänderung auf, und wenn nach 24 Stunden die Farbe rötlichblau wird, ist der Lackmus mit dem Typhusbacillus bereits rosafarben geworden. Auch beim B. coli bekommt man die Entwicklung eines himmelblauen Häutchens an der Oberfläche. Doch sind die in der Gelatine zerstreuten Flöckchen größer und spärlicher als die der Gelatine mit Typhusbacillus; außerdem bekommt man auf dem Boden einen grünlichen Absatz. Nach einer verschieden langen Zeit entfärben diese beiden Mikroben das Medium und es bleibt nur das blaß himmelblau gefärbte Häutchen. Auch in diesem Boden schwankt die Farbenänderung je nach der Virulenz und den verwendeten Stämmen.

Interessant ist nach meinem Dafürhalten die Tatsache, daß beim Schütteln der Bouillonkulturen während der Periode, in der die Ent-

färbung des Lackmus keine vollständige ist, d. h. in den ersten 48 Stunden, die Farbe, verschieden in rötlich modifiziert, beim Typhusbacillus und *B. coli* nicht nur zurückkehrt, sondern daß beim Schütteln der Röhren bei vollständiger Entfärbung der Kulturböden die blaue Farbe heller, aber ohne Einschläge ins Rötliche wieder auftritt.

Werden überdies gewöhnliche Bouillonkulturen von Typhusbacillus und *B. coli* mit Tropfen Lackmustinktur versetzt, so schlägt, wenn dieselben sehr jung sind, das Lackmusblau in Rötlich um beim *B. coli* und bleibt unverändert beim Typhus. Handelt es sich dagegen um 48-stündige Kulturen, so bleibt die blaue Farbe unverändert bei den *Coli*-Bacilluskulturen, während sie bei denen des Typhusbacillus in rötlich umschlägt, bis nach kurzer Zeit die fast vollständige Entfärbung des Mediums eintritt. Dies legt die Vermutung nahe, daß die Säuren sich zuerst rascher und in größerer Menge in den *Coli*-Bacilluskulturen entwickeln, während in denen des Typhusbacillus ihre Bildung eine langsamere, aber dauerhaftere ist. In beiden jedoch verschwindet nach einer verschieden langen Zeit die durch Lackmus zu erkennende saure Reaktion.

Die bereits durch die Bakterienwirkung entfärbte Lackmusbouillon habe ich auch mit einigen Tropfen Natronlauge versetzt und ein dichtes Präzipitat erhalten, das sich sofort an dem Boden ansammelt und die darüber stehende Flüssigkeit klar läßt. Dann färbt sich das Medium allmählich schön himmelblau. Werden anstatt Natronlauge einige Tropfen Schwefelsäure zugesetzt, so tritt zunächst ein Präzipitat auf, welches die ganze Bouillon trübt. Dann aber setzt sich dieses nach und nach ab und die Bouillon mit dem *B. coli* wird orangegelb und die mit dem Typhusbacillus geraniumrot.

Mit Pikrinsäure und Lackmus gefärbte Kulturmedien.

Im Autoklaven sterilisiere ich eine 20-proz. Lösung von Natronlauge, die Lackmustinktur und eine gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung. Darauf vereinige ich 3 Teile Pikrinsäurelösung, einen Teil Natronlauge und 3 Teile Lackmustinktur. Dadurch erhalte ich eine smaragdgrüne Flüssigkeit, die jedoch, wenn sie bei hohen Temperaturen sterilisiert wird, sich in mahagonirot verfärbt. Aus diesem Grund müssen die 3 Bestandteile gesondert sterilisiert und dann mit den Kulturböden vereinigt werden.

In den so gefärbten Medien leben sowohl der Typhusbacillus wie das *B. coli* kümmerlich, wie aus den Involutionsformen hervorgeht, die bei der mikroskopischen Untersuchung gefunden werden.

Die besten Resultate werden mit Milch erhalten, in der der Typhusbacillus die Farbe fast unverändert läßt und keine Gerinnsel gibt, während das *B. coli* das Grün schon nach den ersten 24 Stunden erbsengelb verfärbt. Wird die Pikrinsäure um einige Tropfen vermehrt, so bleiben die Böden steril, wenn sie mit dem Typhusbacillus besät werden, während sie mit dem *B. coli* eine leichte Veränderung der Farbe erfahren.

Bouillon und Gelatine mit Brillantkresylblau.

Ich sterilisiere eine 1-proz. wässrige Lösung von Brillantkresylblau und füge davon zu je 10 ccm Bouillon oder Gelatine 4 Tropfen.

Hier muß bemerkt werden, daß mit dieser Farbe die Bouillon eine blaß violette Farbe annimmt, während die Gelatine sich brillantgrün färbt.

Mit dem Typhusbacillus ist die Farbe nach 24 Stunden unverändert geblieben, obwohl eine Trübung des Mediums zu bemerken ist, welche

die Entwicklung des Mikroorganismus dartut; mit dem B. coli ist die veilchenblaue Farbe in violett-rosa mit einem blauen Streifen von ca. $\frac{1}{2}$ cm Höhe an der Oberfläche übergegangen. Nach 48 Stunden persistiert die blaue Farbe des oberflächlichen Streifens, der übrige Teil der Bouillon aber ist entfärbt; beim Schütteln breitet sich die blaue Farbe auf die ganze Flüssigkeit mit dieser Modalität aus: anfangs geht sie in ausgesprochen violette Farbe über und wird dann blau, so daß man bei dem Vergleich mit der sterilen Kontrollröhre einen ganz scharfen Unterschied bekommt.

Beim Stehenlassen kehrt die gefärbte Zone an der Oberfläche wieder, wobei die übrige Flüssigkeit farblos bleibt. In der im Ofen halbfüssig gehaltenen Gelatine ist die Entfärbung des Grün in 24 Stunden nicht mit dem B. coli wahrzunehmen; dagegen tritt mit dem Typhusbacillus die Entfärbung des Mediums ein, wobei an der Oberfläche ein leichter hellgrüner Belag bleibt. Im Innern der Gelatine werden zahlreiche feinste weiße Körnchen bemerkt, so daß sie ein staubiges Aussehen bekommt. Nach 48 Stunden erfolgt auch mit dem B. coli die Entfärbung des Mediums, doch erscheint die Gelatine nicht trüb wie beim Typhus, sondern ziemlich klar mit spärlichen Flöckchen. Nach wenigen Tagen findet sich in der Gelatine mit dem B. coli keine Spur mehr von Farbe, während in der mit dem Typhus die ganz dünne grünliche Schicht des Häutchens persistiert.

Bouillon mit Kongorot.

Ich sterilisiere, wie gewöhnlich, eine 1-proz. Kongorotlösung und gieße 3 Tropfen davon in 10 ccm Bouillon. Ich erhalte eine dunkel orange-rote Färbung des Mediums. Nach 24 Stunden hält sich die Bouillon mit dem Typhusbacillus klar und von der gleichen Farbe wie die Kontrollröhre, dagegen wird die mit dem Bacterium coli erdbeerrot und die Flüssigkeit ist bereits getrübt.

Nach 48 Stunden trübt auch der Typhus den Kulturboden und erlangt die gleiche Farbe wie die Bouillon mit dem B. coli.

Bouillon mit Neutralrot.

4 Tropfen einer 1-proz. wässrigen Lösung von Neutralrot werden in 10 ccm Bouillon gegossen.

Nach 24 Stunden ändert der Typhus die Farbe nicht; nach 48 Stunden dagegen geht das Medium aus Orangelb in Orangerot über, wie die Kontrollröhre des Kongorot. Der Coli-Bacillus verfärbt schon in den ersten 24 Stunden das Medium orangegeb.

Beim Schütteln der Röhren bekommt man sowohl in der Bouillon mit dem Typhusbacillus wie in der mit dem B. coli eine Verstärkung der Farben.

Bouillon mit Alkaliblau von Kuhne.

Ich verwende 3 Tropfen von dieser Farbe für je 10 ccm Bouillon und erhalte so eine schön ultramarinblaue Farbe. Nach 48 Stunden verändert der Typhus die Farbe nicht, während der Coli-Bacillus sie bereits entfärbt hat, wobei eine grünlichblaue Zone von ca. 1 cm an der Oberfläche der Bouillon stehen bleibt. Beim Schütteln des Reagensglases nimmt die ganze Flüssigkeit zuerst eine hellgrüne Färbung an, welche dann allmählich stärker wird, bis man schließlich eine grünlichblaue Farbe bekommt.

Mikroskopische Beobachtungen.

Für die Untersuchung im hängenden Tropfen habe ich ein Glasplättchen mit zwei benachbarten Aushöhlungen für die unmittelbare vergleichende Betrachtung der beiden Bakterien verwendet. So habe ich auch für die gefärbten Präparate das Deckgläschen mit einem feinen Tintenstrich in zwei Hälften geteilt, wobei ich darauf bedacht war, zwei verschiedene Zeichen zur Unterscheidung der Hälfte, wo sich das *B. coli* befand, von der, wo sich der Typhusbacillus befand, anzubringen. Auf diese Weise habe ich rasch die geringsten Unterschiede zwischen den beiden Bakterien in einer einzigen gleichzeitigen Betrachtung konstatieren können.

Die von mir für diese Untersuchungen verwendeten Farben waren: Löffler-Blau, Fuchsin und Gentianaviolett.

Gewöhnlich entstellen sowohl das Fuchsin wie das Gentianaviolett ein wenig den Bacillenleib, was mit dem Löfflerschen Blau nicht der Fall. Ich werde daher bei Beschreibung der morphologischen Eigenschaften auf die mit letzterer Farbe tingierten Präparate Bezug nehmen.

B. coli und Typhusbacillus in Bouillonkulturen mit Lackmus.

Hängender Tropfen (Typhusbacillus), agglutinierte Bacillen, bei einigen sind noch Bewegungen erhalten.

(*B. coli*) meistens unbeweglich, einige jedoch haben noch träge Bewegungen.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus), 1—6 μ lange und 0,6—1,5 μ breite Bacillen mit abgerundeten Enden. Einige Formen sind gekrümmt. Man bemerkt darin gut gefärbte Körnchen in einer Anzahl von 2—4, welche mit hellen Räumen abwechseln; kurze Formen mit medianen Einschnürungen und einige mit einem hellen Raum im Zentrum.

(*B. coli*) kurze dicke Formen, 1—4 μ lang und 0,7—1 μ breit. Einige sind kettenförmig verbunden. Einige langgestreckte Bacillen (8 μ) ohne Granula im Innern werden wahrgenommen.

Gelatinekulturen mit Lackmus.

Hängender Tropfen (Typhusbacillus), bewegliche Bacillen im ganzen Feld des Mikroskops.

(*B. coli*) unbewegliche Bacillen bis auf einige, welche träge Bewegungen bewahren, an dem Saum des Tropfens.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus). Es herrschen die normalen 2—3 μ langen, 0,6—0,8 μ breiten Formen vor; einige gekrümmte Bacillen und einige mit zwei gut gefärbten polaren Granula. Es fehlen die langen Formen mit mehreren inneren Granula.

(*B. coli*) kurze dicke Formen, 1—5 μ lang und 0,8—1,5 μ breit, mit abgerundeten Enden und zwei polaren Granula; zu zweien vereinigte Formen, so daß sie wie Diplokokken aussehen.

Milch mit Pikrinsäure, Lackmus und Natronlauge.

Hängender Tropfen. Sowohl beim Typhusbacillus wie beim *B. coli* unbewegliche Formen in dem ganzen Feld des Mikroskopes.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus) 1—13 μ lange und 0,2—0,3 μ breite Formen mit kleinen, mit hellen Räumen abwechselnden inneren Granula, und kurze dicke Formen von 1,5 μ Länge und 1 μ Breite.

(*B. coli*) kurze und dicke Formen, 1,5—2 μ lang und 0,8—1 μ breit, meistens mit einer gut ausgeprägten zentralen Einschnürung.

Bouillon mit Pikrinsäure, Lackmus und Natronlauge.
Hängender Tropfen. Unbewegliche Bacillen sowohl beim Coli wie beim Typhus.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus), ganz seltene Bacillen von 2–6 μ Länge und 0,6–0,8 μ Breite mit drei inneren Granula, von denen zwei an den Polen und eins im Zentrum liegen. Diese Granula sind etwas in die Länge gezogen, so daß es aussieht, als ob die chromatische Substanz der Bakterienzelle zerstückelt worden wäre. Einige sind stark entstellt.

(B. coli) kurze dicke Formen, 1,5–3 μ lang und 0,8–1 μ breit; andere, aber in geringerer Anzahl, erreichen eine Länge von 8 μ und eine Breite von 1 μ und besitzen Granula im Innern, und zwar in größerer Anzahl als die des Typhus, aber nicht in die Länge gezogen, wie letztere.

In den Böden, in denen die Dosis der Pikrinsäure vermehrt worden ist, entwickelt sich der Typhusbacillus nicht, wohl aber das B. coli, und gibt langgestreckte keulenartige Formen, von denen einige da, wo die Anschwellung beginnt, die zuweilen eine Ruptur zeigt, entstellt sind.

Bouillon mit Brillantkresylblau.

Hängender Tropfen, Bacillen blau gefärbt und beweglich sowohl beim Typhusbacillus wie beim B. coli.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus). Es herrschen gewisse griffartige Formen vor nach Art von zwei vereinigten Kokken mit einem hellen Punkt in der Mitte einer jeden Verdickung. Auch 2–3 μ lange und 0,8–1 μ breite Bacillen mit einem hellen Raum an einem Pol oder zwei kleinen hellen Räumen an den beiden Polen werden wahrgenommen.

(B. coli.) Es herrschen gewisse Formen vor, die sehr den Fränkelschen Diplokokken ähneln; einige sind an einem Ende zugespitzt mit feinsten regellos angeordneten Granulationen im Innern. Bei gewissen kleinen Bacillen werden zwei oder drei kleine, gut gefärbte Granula aber außerhalb des Bakterienleibes beobachtet.

Bouillon mit Kongorot.

Hängender Tropfen, bewegliche Bacillen sowohl beim Typhus wie beim B. coli.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus). 2–10 μ lange und 0,9–1,5 μ breite Formen. Einige sind zu langen Filamenten verbunden mit Granula an den beiden Polen inmitten des Bacillenleibes.

(B. coli) kleine normale Formen mit zwei Granulationen an den Polen und andere mit drei Granula: zwei an den Polen und eins im Zentrum.

Bouillon mit Neutralrot.

Hängender Tropfen, bewegliche Formen bei beiden Bakterien.

Gefärbte Präparate (Typhusbacillus), große Bacillen von 3–8 μ Länge und 0,9–1,5 μ Breite.

Im Innern werden Zonen zahlreicher kleinster Granula wahrgenommen, die von Zeit zu Zeit durch helle Räume getrennt sind, die ganz und gar nicht das Aussehen von Sporen, sondern von Rarefaktionen der chromatischen Substanz besitzen. Auch dünne Formen werden bemerkt.

(B. coli) normale Formen und große keulenartige Formen. Einige nach Art von Würstchen bis 2 μ breit und bis 9 μ lang. Vor gewissen keulenartigen Formen werden einige kleine gut gefärbte Granula wahrgenommen.

Auch schiffchenartige Formen finden sich.

Bouillon mit Alkaliblau von Kuhne.

Sowohl im hängenden Tropfen wie in den gefärbten Präparaten werden die normalen Formen beobachtet.

Schlüsse.

Bei sämtlichen von mir benutzten Kulturböden sind die Unterschiede zwischen Typhusbacillus und *Bacterium coli* augenscheinlich.

In diesen Böden ist die vom *B. coli* bewiesene Widerstandskraft fast stets der des Typhusbacillus überlegen gewesen.

In den Kulturen mit Lackmus ist die Farbreaktion eine verschiedene bei den beiden Bakterien, je nachdem Bouillon oder Gelatine verwendet wird.

Beim Schütteln der Bouillonkulturböden vor der vollständigen Entfärbung der Flüssigkeit kehrt das Blau des Lackmus leicht rötlich verfärbt zurück mit abweichenden Nüancen beim Typhusbacillus und beim *B. coli*, während, wenn die Entfärbung eine vollständige ist, die blaue Farbe etwas heller, aber ohne Einschläge in Rot zurückkehrt. Dies legt die Vermutung nahe, daß die saure Reaktion des Mediums nach einer gewissen Zeit verschwindet. Werden in der Tat zu nicht jungen Bouillonkulturen von Typhusbacillus und *B. coli* einige Tropfen Lackmus hinzugesetzt, so bleibt das Blau unverändert.

Die saure Reaktion macht sich bei dem *B. coli* eher und mit größerer Intensität bemerkbar als bei dem Typhusbacillus, doch ist in den Typhusbacillenkulturen diese Reaktion länger manifest.

Der Reaktionsunterschied mit dem aus Pikrinsäure und Lackmus erhaltenen Grün tritt am besten in den Milchkulturen ein. Der Typhusbacillus läßt es fast unverändert, das *B. coli* verfärbt es erbsengelb.

Mit Brillantkresylblau werden ähnliche Reaktionen wie mit Lackmus erhalten.

In der Gelatine mit dem Typhusbacillus sind die weißen Flöckchen, welche sich in dem Kulturboden durch die Bakterienentwicklung bilden, viel kleiner und zahlreicher als in der mit dem *B. coli*.

Mit Kongorot bleibt die Bouillon mit dem Typhus in den ersten 24 Stunden unverändert, die mit dem *B. coli* hingegen ist trüb und von erdbeerroter Farbe.

Mit Neutralrot bleibt die Bouillon mit dem Typhus in den ersten 24 Stunden unverändert, die mit dem *B. coli* hingegen wird orange gelb.

Mit Alkaliblau von Kuhne wird die Bouillon durch das *B. coli* und nicht durch den Typhusbacillus entfärbt.

Die Zahl der im Innern des Bacillenleibes gelegenen Granula ist größer bei dem *B. coli*; und vielleicht beruht darauf die größere Widerstandskraft des *B. coli*, da ich annehme, daß diese Granula eine große Bedeutung in der Reproduktion dieser Bakterien besitzen.

Inhalt.

- | | |
|---|--|
| <p>Calandra, E., Differentialdiagnose des Typhusbacillus und des <i>Bacterium coli</i> durch besondere gefärbte Kulturböden, p. 567.</p> <p>Gaertner, A., Ueber eine neue Schafseuche, bedingt durch einen Diplococcus (<i>Streptococcus</i>) lanceolatus, p. 546.</p> <p>Galli-Valerio, B., Recherches sur les germes de l'air à la montagne, p. 497.</p> | <p>Kozewaloff, S., Ueber komplementbindende und rabizide Substanzen im Blute wutkranker Kaninchen, p. 564.</p> <p>Leon, N., Note sur les diptères buveurs de sang de Roumanie, p. 521.</p> <p>Verderame, Ph., Beiträge zum Befund gramnegativer Diplokokken auf der menschlichen Bindehaut, p. 523.</p> |
|---|--|

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagshandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 54. Heft 7.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 54 enthaltenen Arbeiten.

- d'Agata, Giuseppe**, Ueber die sogenannten gaserzeugenden Infektionen beim Menschen. 218
- Ahlfeld, F., und Bonhoff**, Welche Bakterien kommen bei der Abnabelung und Nabelversorgung in Betracht? 423
- Altmann, Karl**, Komplementbindung und Agglutination bei der Paratyphus-, Typhus- und Coligruppe. 174
- Anschütz, German**, Ueber Uebertragungsversuche von *Haemoproteus Orizivorae* und *Trypanosoma paddae*, nebst Bemerkungen über den Entwicklungsgang des ersteren. 328
- , Untersuchungen über direkte Einwirkung des Chinins und Methylenblaus auf Protozoen. 277
- Arzt, L.**, Zur Kenntnis des *Streptococcus mucosus* und der von ihm verursachten Krankheitsformen. 394
- Bahr, L.**, Ueber Ratin II. 228
- , **Raebiger, H., Grosso, G.**, Ratin I und II, sowie über die Stellung des *Ratinbacillus* zur Gärtnergruppe. Erwiderung auf den gleichnamigen Artikel *Xylanders*. 231
- Bertarelli, E., und Bocchia, J.**, Neue Untersuchungen über die Tuberkulose der Kaltblüter. Vorl. Mitt. 385
- v. Betegh, L.**, Weitere Beiträge zur experimentellen Tuberkulose der Meeresfische, nebst Studien über die Transmutationsfrage der Warmblütertuberkulosebacillen. II. Mitt. 211
- Bitter, Ludwig**, Vergleichende Desinfektions- und Wohnungsdesinfektionsversuche mit besonderer Berücksichtigung von Autan und Formobas. 159
- Bocchia, J. s. Bertarelli, E.**
- Bonhoff s. Ahlfeld, F.**
- Brückner, Georg s. Gaethgens, Walter.**
- Burri, R.**, Zur Frage der „Mutationen“ bei Bakterien der Coligruppe. Vorl. Mitt. 210
- Calandra, E.**, Differentialdiagnose des Typhusbacillus und des *Bacterium coli* durch besondere gefärbte Kulturböden. 567
- Cano, Umberto**, L'hyperémie à la Bier dans le traitement local de l'infection rabique. 37
- Castellani, Aldo**, Note on the intestinal bacteriological flora of normal individuals in the tropics. 123
- Chatterjee, G. C.**, On the occurrence of a form of fowl-septicaemia in Calcutta. 1
- Dampf, Alfons**, Ueber ein Cysticeroid aus einem Floh der Springmaus (*Alactaga jaculus*). 452
- Dennemark**, Die Gruber-Widalsche Reaktion bei klinisch Gesunden in der Umgebung Typhuskranker. 374
- Deycke, G. und Much, H.**, Entgegnung auf Löwensteins Kritik unserer Arbeit über die Bakteriolyse von Tuberkelbacillen. 342
- Eysell, Adolf**, Erwiderung auf „Zur Frage der Eier von *Culex cantans*“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 51. p. 545—546). 27
- v. Fedorow, S. P. und Ikonnikow, P. C.**, Zur Frage des Tetanotoxins und des Tetanoantitoxins. 352
- Felber s. Strubell.**
- Fonteyne, A.**, Seconde contribution à l'étude de l'Anaphylaxie. 274
- Forster**, Ueber die Abtötung der Tuberkelbacillen durch Erhitzung. 74
- Gaethgens, Walter und Brückner, Georg**, Berichtigung zu unserer Arbeit: „Vergleichende Untersuchungen über einige neuere Typhusnährböden und Erfahrungen über den Wert der Agglutination, Blutkultur und Stuhlzüchtung für die Diagnose des Abdominaltyphus“. 384
- Gaertner, A.**, Erwiderung auf vorstehenden Artikel des Herrn Skrzynski. [Betr.: „Eine neue Katzensuche.“] 451
- , Ueber eine neue Schafseuche, bedingt durch einen *Diplococcus (Streptococcus) lanceolatus*. 546
- Galli-Valerio, B.**, L'état actuel de nos connaissances sur le rôle des mouches dans la dissémination des maladies parasitaires et sur les moyens de lutte à employer contre elles. 193
- , Recherches sur les germes de l'air à la montagne. 497
- und **Rochaz de Jongh, J.**, Beobachtungen über Culiciden. 21
- Glensa, G.**, Zur Färbung von Feuchtpräparaten und Schnitten mit der Azureosinmethode. 489
- Gonder, R. und Rodenwaldt, E.**, Experimentelle Untersuchungen über Affenmalaria. 236
- Grimm, F. (†)**, Ueber einige atypische Erscheinungen bei Anwendung der Gruber-Widalschen Reaktion in der Typhusdiagnostik. 367
- Grosso, G. s. Bahr, L.**

- Heidsieck**, Nachweis des Soorpilzes in diphtherieverdächtigen Rachenabstrichen. Besonderes Wachstum eines Soorstammes. 108
- Hoek, Richard**, Ueber die Reaktion der Leukocyten auf gewisse chemische Reize in der Haut und im Blute der weißen Maus. 247
- Jessen, F. und Rabinowitsch, Lydia**, Zur Frage der Löslichkeit von Tuberkelbacillen. 454
- Ikonnikow, P. C. s. v. Fedorow, S. P.**
- Kozewaloff, S.**, Ueber komplementbindende und rabizide Substanzen im Blute wutkranker Kaninchen. 564
- v. Krogh, Mentz**, Das Verhalten des Milzbrandbacillus auf bluthaltigen Nährböden. 188
- Kühl, Hugo**, Ueber ein Vorkommen von Hefe auf schmieriger Wursthaut. 5
- Kühnemann, Georg**, Ueber Veränderungen der Geißeln bei der Agglutination. 355
- Laven, Ludwig**, Ueber ein für Kaninchen und Meerschweinchen pathogenes, noch nicht beschriebenes Bakterium. 97
- Leers, Otto**, Studien über die Spezifität der Serumpräzipitine und der Erythropräzipitine. 462
- Leon, N.**, Note sur les diptères buveurs de sang de Roumanie. 521
- Livierato, Spiro**, Weiteres über den Einfluß, welchen die Extrakte von Lymphgewebe auf die Evolution der experimentellen Tuberkulose ausüben. Weitere Untersuchungen über die Wirkung der Extrakte von normalen, skrofulösen und tuberkulösen Lymphdrüsen. 332
- Lumbau, S.**, Les murides infectés avec le virus fixe de Sassari par voie souscutanée meurent absolument de rage. 29
- McIntosh, James**, On the absence of spirochaetes in mouse tumours. 235
- Mentz s. Krogh.**
- Metalnikoff, S. s. Sieber, N.**
- Much, H. s. Deycke, G.**
- Nunokawa, K. s. Weil, E.**
- Orsós, Franz**, Die Form der tiefliegenden Bakterien- und Hefekolonien. 289
- Pane, N.**, Ueber die bakteriziden, von einigen Milzbrandbacillen-Antagonisten-Mikroben ausziehbaren Substanzen. 457
- Panichi, Luigi**, Ueber den Gesamtstickstoff in der Kultur des Fränkelschen Pneumococcus. 412
- Pergola, M.**, Ueber die Isolierung des Cholera vibrio. 490
- , Untersuchungen über einen aus Wurstwaren isolierten, tierpathogenen Keim. 418
- Pettersson, Alfred**, Studien über die Endolysine. II. Ueber die Schutzwirkung in den Tierkörper injizierter Leukocyten und Leukocytenextrakte gegen Milzbrandinfektion. 131
- Putzu, J.**, Ueber den biologischen Nachweis der Echinococcuskrankheit. 77
- Rabinowitsch, Lydia s. Jessen, F.**
- Raebiger, H. s. Bahr, L.**
- Ritz, H. s. Schultz, J. H.**
- Rochaz de Jongh, J. s. Galli-Valerio, B.**
- Rodenwaldt, E. s. Gonder, R.**
- Scheller, Robert**, Ueber den Agglutinationsmechanismus. 150
- Schellhorn, Albin**, Ueber Fütterungsversuche an Mäusen mit gesundem Fleisch. 428
- Scheremezinsky, Marie**, Zur Lehre von der Toxiinfektion. 241
- Schrumpf, P.**, Ueber die durch abgetötete Tuberkelbacillen beim Menschen und beim Tiere hervorgerufene „Pseudotuberkulose“. 216
- Schultz, J., H. und Ritz, H.**, Die Thermoresistenz junger und alter Coli-Bacillen. 283
- Selenew, L. F.**, Zur Morphologie der Spirochaeta pallida. Ring- und Sternformen derselben. 7
- Sieber, N. und Metalnikoff, S.**, Zur Frage der Bakteriolyse der Tuberkelbacillen 349.
- Skrzynski, Z.**, Réponse au travail de Mr. Gaertner „Eine neue Katzenseuche“. 451
- Spät, Wilhelm**, Ueber Agglutinationsversuche mit normalem Rinderserum. 361
- Strubell und Felber**, Der tuberkulo-opsonische Index beim Menschen und beim Rinde. 44
- Stüpfle, Karl**, Die Vererbung der Vaccineimmunität. 38
- Tedeschi, Aldo**, Ein praktisches Verfahren für experimentelle Uebertragungen anaërober Keime. 105
- , Experimenteller Beitrag zur Erforschung der Spirochäte des afrikanischen Recurrensfiebers (Spirochaete Duttoni). 12
- Tièche**, Ueber massenhaftes Vorkommen von zur Familie der Tyroglyphidae gehörenden Milben im menschlichen Stuhl. 32
- Truffi, Mario**, Immunisierungsversuche gegen Syphilis beim Kaninchen. 145
- , Ueber die Empfänglichkeit des Kaninchens gegenüber syphilitischen Reinfektionen. 337
- Tuschinsky, M.**, Ueber den Dieudonnéschen Blutalkaliagar. 91
- Verderame, Ph.**, Beiträge zum Befund gramnegativer Diplokokken auf der menschlichen Bindehaut. 523
- Weil, E. und Nunokawa, K.**, Ueber die Wirkungsweise der Meerschweinchenleukocyten auf tierische Milzbrandbacillen. 262
- Weltmann, Oskar**, Ueber Endocarditis bei Pneumobacillenseptikämie. 115
- Zeuner, William**, Zur Bakteriolyse der Tuberkelbacillen. 345

II. Sachverzeichnis.

- Aal s. *Anguilla vulgaris*.
 Abnabelung und Bakterien. 423
Actinomyces chromogenes in der Luft. 501
 Affe, Malaria. 236. 277
 —, *Plasmodium kochi*, Infektionsversuch. 238
 —, Syphilis, Reinfektion. 340
 Agglutination s. a. Agglutinine.
 — des *Bac. coli*. 181
 — des *Bac. diphtheriae* durch Serum (Rinder-). 366
 — des *Bac. paratyphi*. 176. 368
 — des *Bac. paratyphi*, Geißelveränderung bei derselben. 358
 — des *Bac. pseudotuberculosis*. 176
 — des *Bac. psittacosis*. 176
 — des *Bac. suipestifer*. 178
 — des *Bac. tubercul.* durch Serum (Rinder-). 365
 — des *Bac. typhi*. 151. 179
 — — — (Widal), Atypie. 367
 — — —, Geißelveränderung bei derselben. 358
 — — — (Widal) bei klinisch Gesunden. 374
 — — — durch Serum (Rinder-). 362
 — — — murium. 176
 — der Bakterien durch Serum (Rinder-). 361
 —, Geißelveränderungen bei derselb. 355
 — und Konglutination, Unterschied. 364
 —, Mechanismus. 150
 — des *Ratinbacillus*. 176
 — des *Vibrio cholerae*, Geißelveränderung bei derselben. 358
 — — — durch Serum (Rinder-). 363
 Agglutinine s. a. Agglutination.
 — und Komplement bindende Antikörper, Identität. 186
Alactaga jaculus, Wirt von *Mesopsylla eucta*. 452
 Amöben, Färbung. 489
 Amphibien, Tuberkulose. 388. 390
 Anaeroben s. Bakterien, anaerobe.
 Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
Anguilla vulgaris, Tuberkulose. 211
Anopheles bifurcatus, Biologie. 22
 — *maculipennis*, Biologie. 22
 — —, Entwicklung, Versuche. 522
 Antagonismus bei Bakterien. 457
 Antitoxin, Tetanus-, Wirkung. 352
 Aphagozidie der Leukozyten. 272
Ascaris lumbricoides, Verbreitung durch Fliegen. 194
 Askokken in der Luft. 500
Aspergillus albus in der Luft. 504
 — *glaucus* in der Luft. 500
 — *niger*, Verbreitung durch Fliegen. 195
 Auge, Conjunctiva, Diplokokken, gramnegative, auf derselben. 523
 — Conjunctivitis, Verbreitung durch Fliegen. 200
 —, Trachom-Körperchen, Färbung. 490
 Autan zur Desinfektion. 159
 Autan, Wirkung auf Bakterien. 164
 Autoform zur Desinfektion. 165
 —, Wirkung auf Bakterien. 165
 Azureosin zur Färbung von Feuchtpräparaten und Schnitten. 489
Babesia canis, Hunde-Infektionsversuch. 239
 Bacillenträger, Typhus-, Verbreitung derselben. 374. 382
Bacillus acidi lactici, Vorkommen im Darne in den Tropen. 130
 — *aërogenes capsulatus*, Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 311
 — *aërophilus* in der Luft. 501
 — *anthracis* s. a. Milzbrand.
 — —, Antagonisten desselben. 457
 — — und *Bac. pyocyaneus*, Antagonismus. 459
 — —, hämolytische Wirkung. 190
 — —, Phagocytose. 143
 — — und *Pneumococcus*, Antagonismus. 459
 — — und *Staphylococcus pyog. aureus*, Antagonismus. 459
 — —, tierischer, Wirkung von Leukozyten. 262
 — —, Toxinbildung. 188
 — —, Verhalten auf bluthaltigen Nährböden. 188
 — —, Wirkung von Autan. 164
 — —, — von Autoform. 165
 — —, — von Formaldehyd. 164
 — —, — von Kaliumpermanganat-Formalin. 164
 — —, — von Leukozyten. 131. 262
 — —, Wirkung von Serum. 264
 — *cloacae*, Vorkommen im Darne in den Tropen. 130
 — *coli* s. a. *Bacillus coli communis*, *Bacterium coli*.
 — —, Agglutination. 181
 — —, Komplementbindung. 182
 — —, kulturelle und morphologische Eigenschaft. 224
 — —, Verbreitung durch Fliegen. 199
 — — -Gruppe, Differentialdiagnose. 174
 — — *communis*, Gasbildung. 221
 — — —, Gasphlegmone, Rolle bei derselben. 221
 — — —, Vorkommen im Darne in den Tropen. 130
 — — *immobilis*, Vorkommen im Darne in den Tropen. 130
 — *diphtheriae*, Agglutination durch Serum (Rinder-). 366
 — —, Wirkung von Autan. 164
 — —, — von Autoform. 165
 — —, — von Formaldehyd. 164
 — —, — von Kaliumpermanganat-Formalin. 164
 — *entericus*, Vorkommen im Darne in den Tropen. 130
 — *enteritidis* Gärtner, Beziehung zum *Ratinbacillus*. 231

Bacillus enteritidis Gärtner, Vorkommen im Darne in den Tropen.	130	Bacillus subtilis in der Luft.	505
— faecalis alcaligenes, Verbreitung durch Fliegen.	201	— suipestifer, Agglutination.	178
— fluorescens, Verbreitung durch Fliegen.	201	— —, Komplementbindung.	178
— foetidus, Verbreitung durch Fliegen.	201	— tuberculosis s. a. Tuberkulose.	
— Gas- s. Bac. Welch-Fränk. l.		— —, Agglutination durch Serum (Rinder-).	365
— grüntali, Vorkommen im Darne in den Tropen.	130	— —, Auflösung.	342. 345. 349. 454
— lactis aërogenes, Vorkommen im Darne in den Tropen.	130	— —, — durch Cholin.	342. 345. 351
— Lugo n. sp., morphologische und kulturelle Eigenschaften.	418	— —, — durch Lecithin.	345. 351
— — —, Wurstvergiftung, Ursache derselben.	418	— —, — durch Neurin.	342. 345. 351. 454
— mucosus capsulatus, Verbreitung durch Fliegen.	201	— —, — durch ölsaures Natrium.	346
— neapolitanus, Vorkommen im Darne in den Tropen.	130	— — menschlicher Herkunft, Unterscheidung von Rindertuberkel-Bacillen.	65
— oedematis maligni, Gasgangrän, Rolle bei derselben.	224	— —, Mutation.	211
— — —, kulturelle und morphologische Eigenschaft.	224	— — der Rinder, Unterscheidung von menschlichen Tuberkelbacillen.	65
— paraentericus, Vorkommen im Darne in den Tropen.	130	— —, Tötung durch Erhitzung in der Milch.	74
— paratyphi, Agglutination.	176. 358. 368	— —, toter, Ursache von Pseudotuberkulose.	216
— —, —, Geißelveränderungen bei derselben.	358	— —, Wirkung von Erhitzung.	74
— —, Beziehung zum Ratinbacillus.	231	— —, — der Temperatur.	74
— —, Geißelveränderungen bei Agglutination.	358	— typhi s. a. Typhus abdominalis.	
— — -Gruppe, Differentialdiagnose.	174	— —, Agglutination.	151. 179
— — -haltiges Fleisch, Fütterung an Mäuse.	455	— —, — (Widal), Atypie.	367
— —, Komplementbindung.	176	— —, —, Geißelveränderungen bei derselben.	358
— —, Wirkung von Formalin.	169	— —, — (Widal) bei klinisch Gesunden.	374
— —, — von Formobas.	165	— —, — durch Serum (Rinder-).	362
— perfringens, Gasbildung.	221	— —, Differentialdiagnose von Bact. coli.	567
— —, Gasphegmone, Rolle bei derselben.	220	— —, Geißelveränderungen bei Agglutination.	358
— —, kulturelle und morphologische Eigenschaft.	224	— — -Gruppe, Differentialdiagnose.	174
— pestis s. a. Pest.		— —, Kolonien, Tiefen-, Form derselben.	302
— prodigiosus in der Luft.	501	— —, Komplementbindung.	179
— —, Verbreitung durch Fliegen.	201	— —, Morphologie.	572
— pseudo-coli, Vorkommen im Darne in den Tropen.	130	— —, Wirkung von Autan.	164
— pseudodiphtheriae, Gasbildung.	221	— —, — von Autoform.	165
— —, Gasphegmone, Rolle bei derselben.	221	— —, — von Formaldehyd.	164
— pseudotuberculosis, Agglutination.	176	— —, — von Formalin.	169
— pittacosis, Agglutination.	176	— —, — von Formobas.	165
— pyocyaneus und Bac. anthracis, Antagonismus.	459	— —, — von Kaliumpermanganat-Formalin.	164
— —, Verbreitung durch Fliegen.	201	— — murium, Agglutination.	176
—, Ratin-, Agglutination.	176	— Welch-Fränk. l. s. a. Bac. perfringens.	
— —, Beziehung zur Bac.-enteritidis-Gärtner-Gruppe.	231	— —, Gasbildung.	221
—, —, — zu Bac. paratyphi.	231	— —, Gasphegmone, Rolle bei derselben.	220
—, Rauschbrand-, Verbreitung durch Fliegen.	201	— —, kulturelle und morphologische Eigenschaft.	224
—, Schweinepest-, Komplementbindung.	178	Bacterium aegyptiacum, Verbreitung durch Fliegen.	200
— septicus, Verbreitung durch Fliegen.	201	— coli s. a. Bacillus coli.	
— similicoli, Verbreitung durch Fliegen.	201	— —, Differentialdiagnose von Bac. typhi.	567
		— —, Differenzierung älterer und jüngerer Individuen.	283
		— —, Morphologie.	572
		— —, Mutation.	210
		— —, Thermoresistenz alter und junger Kulturen.	283
		— —, Wirkung von Formalin.	170
		— —, Wirkung von Formobas.	165

- Bacterium**, neues, für Kaninchen und Meerschweinchen pathogenes, kulturelle, morphologische und pathogene Eigenschaften. 97
- *pneumoniae* (Friedländer), Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 315
- — *felis n. sp.*, Erreger einer Katzen-seuche. 451. 452
- — —, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 451. 452
- — —, Pathogenität. 451. 452
- *vulgare*, Verbreitung durch Fliegen. 200
- Bakterien** und Abnabelung. 423
- , Agglutination durch Serum (Rinder-). 361
- , anaerobe, Gasgangrän, Rolle bei derselben. 220
- , —, Isolierung. 106
- , —, Kultur. 105
- , —, Uebertragung, experimentelle. 105
- , Antagonismus. 457
- , Bakterizidie. 457
- , Färbung. 490
- -Flora des Darmes in den Tropen. 123
- — der Luft. 497
- , Gasbildung. 210. 218
- , Kapselbildung. 399
- -Kolonien, Form der oberflächlichen. 325
- —, Form der tiefliegenden. 289
- , Koagulation durch Serum (Rinder-). 364
- in der Luft. 500
- — — des Gebirges. 497
- , Mutation. 210. 211
- und Nabelversorgung. 423
- , Verbreitung durch Fliegen. 195
- , Wirkung von Autan. 164
- , — von Autoform. 165
- , — von Cholin. 342, 351
- , — von Formaldehyd. 164
- , — von Formobas. 165
- , — von Kaliumpermanganat-Formalin. 164
- , — von Leukozyten. 131. 262
- , — von Lezithin. 345. 351
- , — von Neurin. 342. 351. 454
- , — von ölsaurem Natron. 346
- , — des Serums (Rinder-). 361
- , — der Temperatur. 283
- Bakteriolyse** des *Bac. tubercul.* 342. 345. 349. 454
- — — durch Cholin. 342. 345. 351.
- — — durch Lezithin. 345. 351
- — — durch Neurin. 342. 345. 351. 454
- — — durch ölsaures Natron. 346
- des *Pneumococcus*. 460
- Bakterizidie** des *Bac. anthracis* durch Antagonisten. 457
- durch Leukozyten. 131, 263
- Bindehaut** s. *Conjunctiva*.
- Blastomyzeten** in der Luft des Gebirges. 500
- , Verbreitung durch Fliegen. 195
- Blut-Alkaliagar** als Elektivnährboden für *Cholera*vibrionen. 91. 490
- -Alkaligelatine als Elektivnährboden für *Cholera*vibrionen. 493
- Blut-Körperchen**, rote, Präzipitine derselben, Spezifität. 462
- , Menschen- und Tier-, Differenzierung, biologische. 465
- , Nachweis, forensischer. 462
- , Tier- und Menschen-, Differenzierung, biologische. 465
- Botrytis bassiana**, Verbreitung durch Fliegen. 195
- Calcutta**, Geflügelseptikämie. 1
- Calliphora erythrocephala**, Biologie. 203
- —, Verbreitung von parasitären Krankheiten. 194
- *vomitaria*, Verbreitung von parasitären Krankheiten. 194
- Carassius auratus**, Tuberkulose. 390
- Chelone corticata**, Tuberkulose. 385
- Chinin**, Behandlung der Malaria der Affen. 240
- , Wirkung auf *Colpidium colpoda*. 281
- , — auf *Colpoda steini*. 282
- , — auf *Haemoproteus orizivora*e. 279
- , — auf *Plasmodium kochi*. 240, 277
- , — auf *Proteosoma praecox*. 278
- , — auf Protozoen. 240. 277. 330
- , — auf *Spirochaete gallinarum*. 281
- , — auf *Trypanosoma brucei*. 280
- , — auf *Trypanosoma lewisi*. 279
- , — auf *Trypanosoma paddae*. 330
- Cholera** s. a. *Vibrio cholerae*.
- , Diagnose, bakteriologische. 91
- , Verbreitung durch Fliegen. 197
- *nostras*, Verbreitung durch Fliegen. 199
- Cholin**, Wirkung auf *Bac. tubercul.* 342. 351
- Colpidium colpoda**, Wirkung von Chinin. 281
- Colpoda steini**, Wirkung von Chinin. 282
- Conjunctiva**, Diplokokken, gramnegative, auf derselben. 523
- Conjunctivitis**, Verbreitung durch Fliegen. 200
- Corethra** s. *Mochlonyx*.
- Culex cantans**, Eier. 27
- *nemorosus*, Biologie. 23
- *pipiens*, Biologie. 23
- Culiciden**, Brutplätze. 23
- , Schutz gegen dieselben. 24
- , Ueberwinterung. 21
- Cysticeroid** aus *Mesopsylla eucta*, Beschreibung. 452
- Darm**, Bakterienflora in den Tropen. 123
- -Entzündung bei Mäusen nach Fleischfütterung. 433
- -Krankheiten, Verbreitung durch Fliegen. 197
- Desinfektion** mit Autan. 159
- mit Autoform. 165
- mit Formaldehyd. 159
- mit Formobas. 159
- mit Kaliumpermanganat-Formalin. 164
- von Wohnräumen mit Autan. 159
- — mit Autoform. 165
- — mit Formaldehyd. 159
- — mit Formobas. 159
- — mit Kaliumpermanganat-Formalin. 164

Diphtherie s. a. <i>Bac. diphtheriae</i> .	
<i>Diplococcus lanceolatus ovium</i> s. <i>Streptococcus lanceolatus ovium</i> .	546
Diplokokken, gramnegative, auf der menschlichen Bindehaut.	523
— und Nabelversorgung.	424
Dipteren, blutsaugende, in Rumänien.	521
Dysenterie s. Ruhr.	
<i>Echinococcus</i> -Cyste, Komplementbindung.	77
—, Präzipitation.	77
—, Serumdiagnose.	77
Eidechse, Tuberkulose.	389
Eier von <i>Culex cantans</i> .	27
Eiweiß, biologische Differenzierung.	462
Elektivnährboden für <i>Vibrio cholerae</i> (Blutalkaliagar).	91. 490
— für <i>Vibrio cholerae</i> (Blutalkaligelatine).	493
Endocarditis bei <i>Pneumococcus</i> -Septikämie.	115
—, durch <i>Streptococc. mucos.</i> verursacht.	396
Endolysine, Studien.	131
Enteritis bei Mäusen nach Fleischfütterung.	433
Eosinophile, Untersuchungen.	247
Erhitzung, Tötung des <i>Bac. tubercul.</i>	74
Erythropräzipitine, Spezifizität.	462
Faeces, Milben in denselben.	32
—, Nachweis von <i>Vibrio cholerae</i> .	490
Färbung von Amöben.	489
— von Bakterien.	490
— von Halteridien.	489
— von Protozoen.	489
— von Spirochäten.	490
— von Trypanosomen.	489
<i>Fasciola hepatica</i> , Verbreitung durch Fliegen.	194
Fische, Tuberkulose.	211. 385. 390
Fleisch-Beschau, bakteriologische.	428
—, Fütterungsversuche an Mäusen mit keimfreiem und keimhaltigem Fleisch.	428
— paratyphuskranker Tiere, Fütterungsversuche an Mäusen.	445
— -Vergiftung, durch <i>Bac. Lugo</i> verursacht.	418
Fliegen s. a. <i>Calliphora</i> , <i>Lucilia</i> , <i>Musca</i> , <i>Muscina</i> , <i>Sarcophaga</i> .	
—, Bekämpfung.	205
—, Biologie.	201
—, Verbreitung von <i>Bac. coli</i> .	199
—, — von <i>Bact. aegyptiacum</i> .	200
—, — von <i>Bact. vulgare</i> .	200
—, — von Bakterien.	199—201
—, — von Cholera.	197
—, — von Cholera nostras.	199
—, — von Conjunctivitis.	200
—, — von Infektionskrankheiten.	193
—, — von Milzbrand.	196
—, — der Pest.	196
—, — von Rotz.	200
—, — von Ruhr.	198
—, — tierischer Parasiten.	194
—, — der Tuberkulose.	195
—, — von Typhus abdominalis.	198
Formaldehyd zur Desinfektion.	159
—, Wirkung auf Bakterien.	164
Formobas zur Desinfektion.	159
—, Wirkung auf Bakterien.	165
Framboesie, Verbreitung durch Fliegen.	195
Frosch, Tuberkulose.	386. 390
Gangrän, Gas-, Bakteriologie.	219
Gas, Bildung durch Bakterien.	210. 218
— -Gangrän, Bakteriologie.	219
— -Phlegmone, Bakteriologie.	219
Gebirgsluft, Bakterien in derselben.	497
—, Blastomyzeten in derselben.	500
—, Hyphomyzeten in derselben.	500
Geflügel-Septikämie, Aetiologie, Pathologie.	1
— — —, Immunisierung.	3
Geißeln bei der Agglutination, Veränderungen.	355
Geschwülste, Mäuse- und Spirochäten.	235
Gifte, Wirkung auf die Immunität.	244
—, — auf die Infektions- und Widerstandsfähigkeit.	241
Goldfisch s. <i>Carassius auratus</i> .	
Hämolyse durch <i>Bac. anthracis</i> .	190
<i>Haemoproteus orizivorae</i> , Entwicklung, Uebertragungsversuch.	330
— —, Wirkung von Chinin.	279
Halteridien, Färbung.	489
Haut, Wurst-, Hefe auf derselben.	5
Hefe-Kolonieen, Form der oberflächlichen.	326
—, — der tiefliegenden.	289
—, Vorkommen in der Luft.	500
—, — auf schmieriger Wursthaut.	5
Herz, Endocarditis, durch <i>Pneumococcus</i> verursacht.	115
—, —, durch <i>Streptococcus mucosus</i> verursacht.	396
Hund, <i>Babesia-canis</i> -Infektion.	239
Hyphomyzeten, Verbreitung durch Fliegen.	195
—, Vorkommen in der Luft des Gebirges.	500
Immunisierung gegen Geflügelseptikämie.	3
— gegen Hühnerspirochätose.	17
— gegen Rückfallfieber, afrikanisches.	16
— gegen Schafseuche.	562
— gegen die Septikämie des Geflügels.	3
— gegen <i>Spirochaete duttoni</i> .	16
— gegen <i>Spirochaete gallinarum</i> .	17
— gegen Spirochaetose der Hühner.	17
— gegen <i>Streptococcus lanceolatus ovium</i> .	562
— gegen Syphilis des Kaninchens.	145
— gegen Tetanus.	352
— gegen Tuberkulose.	347. 351
— gegen Tuberkulose mit Lymphdrüsenextrakten.	332
Immunität, Vaccine-, Vererbung.	38
—, Variola-.	39
—, Wirkung von Giften.	244
Immunserum, Geißelveränderungen durch dasselbe.	358
Index, opsonischer bei Tuberkulose.	44
—, — bei Tuberkulose der Rinder.	44

- Index, tuberkulo-opsionischer beim Menschen und Rinde. 44
 Infektion, Toxi-. 241
 Infektionskrankheiten, Bekämpfung. 205
 —, Verbreitung durch Fliegen. 193
 —, Widerstandsfähigkeit, Wirkung von Giften auf dieselbe. 241
 Infusorien, Wirkung von Chinin. 281
 Insekten, blutsaugende, in Rumänien. 521
 Kaliumpermanganat-Formalin zur Desinfektion. 164
 —, Wirkung auf Bakterien. 164
 Kaltblüter, Tuberkulose. 385
 Kaninchen, Syphilis, Immunisierungsversuche. 145
 —, —, Reinfektion. 337
 —, Wut. 31. 564
 —, —, komplementbindende Substanzen im Blute derselben. 564
 —, —, rabizide Substanzen im Blute derselben. 566
 Kapseln bei Bakterien. 399
 Katzen, Pleuropneumonie, durch *Bacterium pneumoniae felis* verursacht. 451. 452
 — -Seuche, durch *Bacterium pneumoniae felis* verursacht. 451. 452
 Kehlkopf, Laryngitis, durch *Streptococcus lanceolatus ovium* verursacht. 552
 Kolonien, Oberflächen-, von Bakterien und Hefen, Form. 325
 —, Tiefen-, von Bakterien und Hefen, Form. 289
 Komplementbindende Antikörper und Agglutinine, Identität. 186
 — — und Präzipitine, Identität. 186
 Komplementbindung bei *Bac. coli*. 182
 — bei *Bac. paratyphi B*. 176
 — bei *Bac. suipestifer*. 178
 — bei *Bac. typhi*. 179
 — bei *Echinokokkose*. 77
 — bei Wut. 564
 Konglutination und Agglutination, Unterschied. 364
 — der Bakterien durch Serum (Rinder-). 364
Lacerta viridis, Tuberkulose. 389
 Laryngitis, durch *Streptococcus lanceolatus ovium* verursacht. 552
 Leukine. 139
 Leukozyten, Aphagozidie. 272
 —, bakterizide Wirkung. 131. 263
 — -Extrakte, bakterizide Wirkung. 137
 — —, Wirkung auf *Bac. anthracis*. 137
 — und Milzbrandinfektion. 131
 —, Wirkung auf *Bac. anthracis*. 131. 262
 —, — auf Bakterien. 131. 262
 —, — chemischer Agentien. 247
 Lezithin, Wirkung auf *Bac. tuberculosis*. 345. 351
Lucilia caesar, Biologie. 203
 Luft, Bakteriengehalt. 500
 —, — in der Luft des Gebirges. 497
 —, Blastomyzetengehalt. 500
 —, Hyphomyzetengehalt. 500
 Luftröhre, Tracheitis, durch *Streptococcus lanceolatus ovium* verursacht. 552
 Lymphdrüsen-Extrakte, Tuberkulose, Wirkung auf dieselbe. 332
 Lysine, Endo- s. Endolysine.
 Mäuse, Darm-Entzündung nach Fleischfütterung. 433
 —, Fleischfütterungsversuch. 428
 — -Geschwülste und Spirochäten. 235
 —, Wut, Infektion auf subkutanem Wege. 31
 Malaria, Affen-. 236. 277
 — und Milz. 236
 —, Uebertragung auf Affen. 238
 —, Vogel-. 278. 330
 Meeres-Fische, Tuberkulose. 211
 Meerschweinchen, Wut. 31
 Meningitis purulenta, durch *Streptococcus mucosus* verursacht. 395
 Meningococcus, Differentialdiagnose. 532
Mesopsylla eucta n. sp., Cysticeroid aus derselben. 452
 Methylenblau, Wirkung auf *Plasmodium kochi*. 277
 —, — auf Protozoen. 277
 —, — auf *Trypanosoma brucei*. 281
 —, — auf *Trypanosoma lewisi*. 280
 Metritis, durch *Streptococcus lanceolatus ovium* verursacht. 552
Micrococcus candidans in der Luft. 500
 — *catarrhalis*, Differentialdiagnose. 537
 — *flavus* in der Luft. 506
 — *gonococcus*, Differentialdiagnose. 531
 — *luteus* in der Luft. 501
 — *roseus* in der Luft. 500
 — *tetragenes*, Verbreitung durch Fliegen. 201
 Mikroorganismen in der Luft. 500
 — in der Luft des Gebirges. 497
 Milben, Vorkommen in den Faeces. 32
 Milch, Tötung des *Bac. tuberculosis* in derselben durch Erhitzung. 74
 Milz und Malaria. 236
 — als Schutzorgan. 239
 —, Schwarzwasserfieber, Rolle bei demselben. 236
 Milzbrand s. a. *Bacillus anthracis*.
 —, Leukozyten, Schutzwirkung derselben. 131
 —, Verbreitung durch Fliegen. 196
Mochlonyx velutinus, Biologie. 24
 Monilia, Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 322
Mucor in der Luft. 500
 — *mucedo* in der Luft. 504
 Muriden, Wut, Infektion auf subkutanem Wege. 29
Musca domestica, Biologie. 201
 — —, Verbreitung von parasitären Krankheiten. 193
 — —, — von tierischen Parasiten. 194
 — —, — von Variola. 195
Muscina stabulans, Biologie. 203
 — —, Verbreitung von parasitären Krankheiten. 193
 Mutation bei Bakterien. 210. 211
 Mysiasis. 193
 Nabelversorgung und Bakterien. 423

- Nährböden, Elektiv-, für *Vibrio cholerae* (Blutalkaliagar). 91. 490
 —, —, für *Vibrio cholerae* (Blutalkaligelatine). 493
 Nase, Rhinitis, durch *Streptococcus lanceolatus ovium* verursacht. 552
 Natrium oleinicum, Wirkung auf *Bac. tuberculosis*. 346
 Necator americanus, Verbreitung durch Fliegen. 194
 Neurin, Wirkung auf *Bac. tuberculosis*. 342. 351. 454
 Oberflächen-Kolonien von Bakterien und Hefen, Form. 325
 Oelsäure, Wirkung auf *Bac. tuberculosis*. 346
 Oidium lactis, Verbreitung durch Fliegen. 195
 Oponine, Index bei Tuberkulose. 44
 —, — bei Tuberkulose der Rinder. 44
 Oxyuris, Verbreitung durch Fliegen. 194
 Padda orizivora, Trypanosoma paddae in demselben. 328
 Pappataciefieber, Uebertragung durch *Phlebotomus papatassii*. 521
 Parasiten, tierische, Verbreitung durch Fliegen. 194
 Paratyphus s. a. *Bacillus paratyphi*.
 Pediculus cervicalis, Verbreitung durch Fliegen. 194
 Penicillium glaucum in der Luft. 500
 —, —, Verbreitung durch Fliegen. 195
 Pest s. a. *Bacillus pestis*.
 —, Verbreitung durch Fliegen. 196
 Phagocytose des *Bac. anthracis*. 143
 — der *Spirochaete duttoni*. 13
Phlebotomus papatassii, Morphologie. 521
 Phlegmone, Gas-, Bakteriologie. 219
 Plasmodium kochi, Affeninfektionsversuch. 238
 — —, Entwicklung. 238
 — —, Wirkung von Chinin. 240. 277
 — —, — von Methylenblau. 277
 Pleuropneumonie der Katze, durch *Bact. pneumoniae felis* verursacht. 451. 452
 Pneumococcus und *Bac. anthracis*, Antagonismus. 459
 —, Bakteriolyse. 460
 —, Endocarditis, Ursache derselben. 115
 — -Septikämie, Endocarditis bei derselben. 115
 —, Stickstoff, Gesamt- der Kultur. 412
 — var. mucosus s. *Streptococcus mucosus*.
 Pneumonie der Katze, durch *Bact. pneumoniae felis* verursacht. 451. 452
 Pocken s. Variola.
 Präzipitation s. a. Präzipitine.
 — zur Blutdifferenzierung. 462
 — bei Echinokokkose. 77
 — zur Eiweißdifferenzierung, Spezifität. 462
 Präzipitine s. a. Präzipitation.
 —, Erythro-, Spezifität. 462
 — und komplementbindende Antikörper, Identität. 186
 —, Serum-, Spezifität. 462
 Proteosoma praecox, Wirkung von Chinin. 278
 Proteus zenkeri, Gasbildung. 220
 — —, Gasangrän, Rolle bei derselben. 220
 — —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 224
 Protozoen, Färbung. 489
 —, Wirkung von Chinin. 240. 277. 330
 —, — von Methylenblau. 277
 Pseudotuberkulose, durch tote Tuberkelbacillen verursacht. 216
 Pyocyanase, Lipoidnatur derselben. 461
 Rana esculenta, Tuberkulose. 390
 Ratin I und II, zur Rattenbekämpfung. 228. 231
 Ratin II, Bestandteile. 228. 231
 Ratin, Unschädlichkeit für Haustiere. 234
 Ratinin zur Rattenbekämpfung. 230. 231
 Ratten, Bekämpfung mit Ratin I und II. 228. 231
 —, — mit Ratinin. 230. 231
 —, Wut, Infektion auf subkutanem Wege. 31
 Reisvogel s. Padda orizivora.
 Reptilien, Tuberkulose. 385. 389
 Rhinitis, durch *Streptoc. lanceol. ovium* verursacht. 552
 Rinder-Serum, Agglutination von Bakterien. 361
 Rinder, tuberkulo-opsonischer Index. 44
 —, Tuberkulose, tuberkulo-opsonischer Index. 44
 Rotz, Verbreitung durch Fliegen. 200
 Rückfallfieber, afrikanisches, Untersuchung. 12
 Ruhr, Verbreitung durch Fliegen. 198
 Saccharomyces cerevisiae, Kolonien, Oberflächen-, Form derselben. 326
 — —, —, Tiefen-, Form derselben. 304
 — glutinis in der Luft. 500
 Sarcina alba in der Luft. 500. 512
 — —, Verbreitung durch Fliegen. 201
 — aurantiaca in der Luft. 500
 — —, Verbreitung durch Fliegen. 201
 — loewenbergi, Verbreitung durch Fliegen. 201
 — lutea in der Luft. 500
 — und Nabelversorgung. 425
 — rosea in der Luft. 500
 Sarcophaga carnaria, Biologie. 204
 — —, Verbreitung von parasitären Krankheiten. 194
 Schaf-Seuche, neue, durch *Streptococcus lanceolatus ovium* n. sp. verursacht. 546
 —, Serumbehandlung. 562
 Schildkröte, Tuberkulose. 385
 Schimmelpilze in der Luft. 500
 Schwarzwasserfieber, Milz, Rolle bei demselben. 236
 Sepsis, hämorrhagische, bei Schafen, durch *Streptoc. lanceolat. ovium* verursacht. 552
 Septikämie, Geflügel-, Aetiologie, Pathologie. 1
 —, —, Immunisierung. 3
 Septikämie, Pneumobacillen-, Endocarditis bei derselben. 115

- Serum, Agglutination s. a. Agglutination.
 Serum, Agglutination der Bakterien. 361
 —, Komplementbindung s. Komplement-
 bindung.
 —, Konglutination der Bakterien. 364
 —, Opsonine s. Opsonine.
 —, Präzipitation s. Präzipitation.
 —, Präzipitine, Spezifität. 462
 —, rabizide Substanzen bei wutkranken
 Tieren. 566
 —, Ueberempfindlichkeit. 274
 —, Wirkung auf Bac. anthracis. 264
 —, — auf Bakterien. 361
 — wutkranker Tiere, Komplementbindung.
 564
 — — —, rabizide Substanzen in demselben.
 566
 Serumbehandlung der Schafseuche. 562
 — der Syphilis. 147
 — des Tetanus. 353
 Serumdiagnose der Echinokokkose. 77
 — des Typhus abdominalis. 367. 374
 Skrofulose und Tuberkulose, Beziehungen.
 332
 Soor, Morphologie. 113
 —, Nachweis in diphtherieverdächtigen
 Rachenabstrichen. 108
 —, Pathogenität. 111
 —, Wachstum. 110
 Spirochaete s. a. Spirochäten, Spirochätose.
 — balbianii, Färbung. 490
 — duttoni, Biologie, Wirkung chemischer
 etc. Agentien. 12
 — —, Phagocytose. 13
 — —, Toxine. 19
 — — im Wanzemagen, Verhalten. 20
 — gallinarum, Immunisierung gegen die-
 selbe. 17
 — —, Wirkung von Chinin. 281
 — obermeieri, Färbung. 490
 — pallida, Morphologie. 7
 — —, Syphilis, Erreger. 7
 — —, —, Nachweis und Vorkommen bei
 derselben. 7. 338
 — pertenuis, Verbreitung durch Fliegen.
 195
 — refringens, Morphologie. 11
 — wenyoni in Mäusegeschwülsten. 235
 Spirochäten s. a. Spirochaete, Spirochätose.
 —, Färbung. 490
 — und Geschwülste, Mäuse-. 235
 Spirochätose s. a. Spirochaete, Spirochäten.
 —, Hühner-, Immunisierung. 17
 Springmaus s. Alactaga jaculus.
 Staphylococcus pyogenes albus in der Luft.
 500
 — — aureus und Bac. anthracis, Antagonis-
 mus. 459
 — — —, Gasphegmone, Rolle bei der-
 selben. 221
 — — —, Kolonien, Tiefen-, Form der-
 selben. 300
 — — — und Nabelversorgung. 424
 — — —, Verbreitung durch Fliegen. 201
 — — —, Vorkommen in der Luft. 500
 — — —, Wirkung von Autan. 164
 Staphylococcus pyogenes aureus, Wirkung
 von Autoform. 165
 — — —, — von Formaldehyd. 164. 170
 — — —, — von Formobas. 165
 — — —, — von Kaliumpermanganat-For-
 malin. 164
 Stauungshyperämie zur Wutbehandlung. 37
 Stickstoff, Gesamt- der Pneumococcus-Kul-
 tur. 412
 Streptococcus s. a. Streptokokken.
 — lanceolatus ovium n. sp., morphologische
 und kulturelle Eigenschaften. 556
 — — — —, Schafseuche, Ursache derselben.
 546
 — mucosus, Endocarditis, Ursache der-
 selben. 396
 — —, kulturelle Eigenschaften. 400
 — —, Meningitis purulenta, Ursachen der-
 selben. 395
 — —, Morphologie. 398
 — —, Pathogenität. 394. 403
 — pyogenes, Gasphegmone, Rolle bei der-
 selben. 221
 — — albus, Verbreitung durch Fliegen.
 201
 Streptokokken s. a. Streptococcus.
 — -haltiges Fleisch, Fütterungsversuche an
 Mäusen. 444
 — und Nabelversorgung. 424
 —, Vorkommen in der Luft. 509
 —, — im Darne in den Tropen. 130
 Stuhl s. Faeces.
 Syphilis, Affen-, Reinfektion. 340
 —, Immunisierung. 145
 —, Immunität. 337
 —, Kaninchen, Immunisierungsversuche.
 145
 —, —, Reinfektion. 337
 —, Reinfektion. 337
 —, Serumbehandlung. 147
 —, Spirochaete pallida als Erreger. 7
 —, — —, Nachweis und Vorkommen. 7.
 338
 Temperatur, Wirkung auf Bac. tubercul. 74
 —, — auf Bact. coli. 283
 Tetanus-Antitoxin, Wirkung. 352
 Tetanus, Immunisierung. 352
 — -Toxin, Wirkung. 352
 Thermoresistenz junger und alter Coli-Ba-
 cillen. 283
 Tiefen-Kolonien von Bakterien und Hefen,
 Form. 289
 Toxiinfektion. 241
 Toxin des Bac. anthracis. 188
 — der Spirochaete duttoni. 19
 —, Tetanus-, Wirkung. 352
 Tracheitis, durch Streptoc. lanceolat. ovium
 verursacht. 552
 Trachom-Körperchen, Färbung mit Azur-
 eosin. 490
 Trichocephalus trichiurus, Verbreitung
 durch Fliegen. 194
 Tropen, Bakterienflora des Darmes in dem-
 selben. 123
 Trypanosoma s. a. Trypanosomen, Trypano-
 somiasis.

Trypanosoma brucei, Wirkung von Chinin.	280	Variola, Verbreitung durch Musca domestica.	195
— —, — von Methylenblau.	281	Vergiftung, Fleisch- s. Fleisch-Vergiftung.	
— lewisi, Wirkung von Chinin.	279	—, Wurst- s. Wurst-Vergiftung.	
— —, — von Methylenblau.	280	Vibrio cholerae s. a. Cholera.	
— paddae, Wirkung von Chinin.	330	— — ähnliche Vibrionen, Nährboden, Elektiv- [Blutalkaliagar].	493
— —, aus Padda orizivora, Entwicklung, Morphologie, Uebertragungsversuch.	328	— — — —, Nährboden, Elektiv- [Blutalkaligelatine].	494
Trypanosomen s. a. Trypanosoma, Trypanosomiasis.		— —, Agglutination, Geißelveränderungen bei derselben.	358
—, Färbung.	489	— —, — durch Serum (Rinder-).	363
Trypanosomiasis, s. a. Trypanosoma, Trypanosomen.		— —, Anreicherung durch Blutalkaliagar.	91. 490
— der Vögel.	328	— —, — durch Blutalkaligelatine.	493
Tuberkulose s. a. Bacillus tuberculosis.		— —, Geißelveränderungen bei Agglutination.	358
— des Aales.	212	— —, Nährboden, Elektiv- [Blutalkaliagar].	91. 490
— der Amphibien.	388. 390	— —, — — [Blutalkaligelatine].	493
— des Carassius auratus.	390	— —, Nachweis in den Faeces.	490
— der Eidechse.	389	— —, — im Wasser.	494
— der Fische.	211. 385. 390	Vogel-Malaria.	278. 330
— — des Meeres.	211	Vogel, Trypanosomiasis.	328
— des Frosches.	386. 390	Wärme, Wirkung auf Bact. coli.	283
—, Immunisierung.	347. 351	Wanzen, Spirochaete duttoni im Magen derselben, Verhalten.	20
—, — mit Lymphdrüsenextrakten.	332	Wasser, Nachweis von Vibrio cholerae.	494
— der Kaltblüter.	385	Wohnräume, Desinfektion mit Autan.	159
—, Lymphdrüsenextrakte, Wirkung derselben.	332	—, — mit Autoform.	165
—, opsonischer Index.	44	—, — mit Formaldehyd.	159
—, Pseudo-, s. Pseudotuberkulose.		—, — mit Formobas.	159
— der Reptilien.	385. 389	—, — mit Kaliumpermanganat-Formalin.	164
—, Rinder-, tuberkulo-opsonischer Index.	44	Wurst-Haut, schmierige, Hefe auf derselben.	5
— der Schildkröte.	385	—Vergiftung, durch Bac. Lugo verursacht.	418
— und Skrofulose, Beziehungen.	332	Wut, Behandlung mit Stauungshyperämie (Bier).	37
—, Verbreitung durch Fliegen.	195	— der Kaninchen.	31. 564
Tyroglyphidae, Vorkommen in den Faeces.	32	—, komplementbindende Substanzen im Blute wutkranker Kaninchen.	564
— longior, Vorkommen in den Faeces.	32	— der Mäuse.	31
Typhus abdominalis s. a. Bacillus typhi.		— der Meerschweinchen.	31
— —, Agglutination (Widal), Atypie.	367	— der Muriden, Infektion auf subkutanem Wege.	29
— —, — — bei klinisch Gesunden.	374	—, rabizide Substanzen im Blute wutkranker Kaninchen.	566
— —, Diagnose mittels Agglutination.	367. 374	—Virus, Wirkung von Serum wutkranker Tiere.	566
— —, Verbreitung durch Bacillenträger.	374. 382		
— —, Verbreitung durch Fliegen.	198		
Ueberempfindlichkeit.	274		
— gegen Serum.	274		
Uterus, Metritis, durch Strept. lanceolatus ovium verursacht.	552		
Vaccine-Immunität, Vererbung.	38		
Variola, Immunität.	39		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Agglutination des Bac. typhi, Geißelveränderung bei derselben. (Taf., Fig. 5.)	360	Amöben, Färbung mit Azureosin. (Taf. I, Fig. 9—12.)	490
—, Geißelveränderungen bei derselben. (Taf.)	360	Azureosinfärbung von Feuchtpräparaten und Schnitten. (Taf. I, II.)	490
— des Vibrio cholerae, Geißelveränderung bei derselben. (Taf., Fig. 1—4.)	360	Bacillus aërogenes capsulatus, Kolonien, Tiefen-, Form derselben.	311. 312
		— botulinus, Agarkultur.	107

- Bacillus oedematis maligni*, Agarkultur. 107
 —, Rauschbrand-, Agarkultur. 107
 — *tetani*, Agarkultur. 107
 — *typhi*, Geißelveränderung bei Agglutination. (Taf., Fig. 5.) 360
 — —, Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 302. 308. 310. 311. 316—319
Bacterium, neues, für Kaninchen und Meerschweinchen pathogenes, Morphologie. (Taf.) 104
 — *pneumoniae* (Friedländer), Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 315
 Bakterien, anaërobe, Kultur. 107
 — -Kolonien, Form der tiefliegenden. 297. 298
 Bindehaut s. *Conjunctiva*.
 Blut bei Pasteurellosis des Geflügels. 3
Carassius auratus, Tuberkulose, Organschnitte. (Taf.) 392
 Chinin, Wirkung auf *Haemoproteus orizivora*. (Taf., Fig. 20—22.) 282
 —, — auf *Plasmodium kochi*. (Taf., Fig. 1—9, 11, 12.) 282
 —, — auf *Proteosoma*. (Taf., Fig. 13, 15—19.) 282
 —, — auf *Trypanosoma brucei*. (Taf., Fig. 29—35.) 282
 —, — auf *Trypanosoma lewisi*. (Taf., Fig. 24—28.) 282
 —, — auf *Trypanosoma paddae*. (Taf. I, Fig. 11, 12.) 331
Conjunctiva, Diplokokken, gramnegative derselben. (Taf.) 546
 Culiciden, Eier. 25
 Cysticeroid aus *Mesopsylla eucta*. 453
 Diplokokken, gramnegative, der Bindehaut. (Taf.) 546
 Ei von Culiciden. 25
 — von Tyroglyphiden. 34
 Fische, Tuberkulose, Organschnitte. (Taf.) 392
 Floh s. a. *Mesopsylla*.
 Geflügel, Pasteurellosis, Blutpräparat. 3
 Geißeln bei der Agglutination, Veränderungen. (Taf.) 360
 Goldfisch s. *Carassius auratus*.
Haemoproteus orizivora. (Taf. I, II.) 331
 — —, Wirkung von Chinin und Methylenblau. (Taf., Fig. 20—22.) 282
 Halteriden, Färbung mit Azureosin. (Taf. I, Fig. 1—4.) 490
 Kolonien, Bakterien-, Form der tiefliegenden. 297. 298
 —, Hefen-, Form der tiefliegenden. 297. 298
Mesopsylla eucta, Cysticeroid aus derselben. 453
 Methylenblau, Wirkung auf *Haemoproteus orizivora*. (Taf., Fig. 20—22.) 282
 —, — auf *Plasmodium kochi*. (Taf., Fig. 1—9, 11, 12.) 282
 —, — auf *Proteosoma*. (Taf., Fig. 13.) 282
 —, — auf *Trypanosoma brucei*. (Taf., Fig. 29—32.) 282
 —, — auf *Trypanosoma paddae*. (Taf. I, Fig. 11, 12.) 331
 Milbe aus Faeces. 34
 — aus Faeces, Ei. 34
Mochlonyx, Eier. 25
 Pasteurellosis des Geflügels, Blutpräparat. 3
Phlebotomus papatassii, Morphologie. 522
Plasmodium kochi, Schizogonie. 282
 — —, Wirkung von Chinin und Methylenblau. (Taf., Fig. 1—9, 11, 12.) 282
Proteosoma. (Taf. II.) 331
 —, Schizogonie. (Taf., Fig. 14.) 282
 —, Wirkung von Chinin und Methylenblau. (Taf., Fig. 13, 15—19.) 282
 Protozoen, Färbung mit Azureosin. (Taf. I, II.) 490
Saccharomyces cerevisiae, Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 304—307. 320. 321
 Soor, Wachstum und Morphologie. (Taf.) 114
Spirochaete pallida, Morphologie, Ring- und Sternformen. (Taf. I, II.) 10
Staphylococcus pyogenes aureus, Kolonien, Tiefen-, Form derselben. 300. 303—305. 308. 309. 313. 314
 Tiefenkolonien von Bakterien und Hefen, Form. 297. 298
 Trachom-Schnitt, Färbung mit Azureosin. (Taf. II, Fig. 1.) 490
Trypanosoma brucei, Färbung mit Azureosin. (Taf. II, Fig. 2.) 490
 — —, Wirkung von Chinin und Methylenblau. (Taf., Fig. 29—35.) 282
 — *lewisi*. (Taf., Fig. 23.) 282
 — —, Färbung mit Azureosin. (Taf. I, Fig. 5—8.) 490
 — —, Wirkung von Chinin. (Taf., Fig. 24—28.) 282
 — *paddae*, Morphologie, Schizogonie etc. (Taf. I, II.) 331
 Tuberkulose des *Carassius auratus*, Organschnitte. (Taf.) 392
 — der Fische, Organschnitte. (Taf.) 392
 Tyroglyphide aus Faeces. 34
Vibrio cholerae, Geißelveränderung bei Agglutination. (Taf., Fig. 1—4.) 360

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

**AN INITIAL FINE OF 25 CENTS
WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.**

APR 18 1957

APR 17 1957

Book Slip-15m-8,'52(A2573s4)458

102904

QR1

Z. f. bakt.

Z4

Abt. 1:1

Z.f.

QR1

Z4

Abt. 1:1

v. 54

102904

