

STATE UNIVERSITY.

Paet. d

Generated on 2019-09-14 21:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/osu.32435070754429
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bact. dept.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und
Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 63. Band

Originale

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. F. Loeffler
Geh. Med.-Rat in Greifswald

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

und

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

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und
Geh. Reg.-Rat in Berlin

Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 63. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

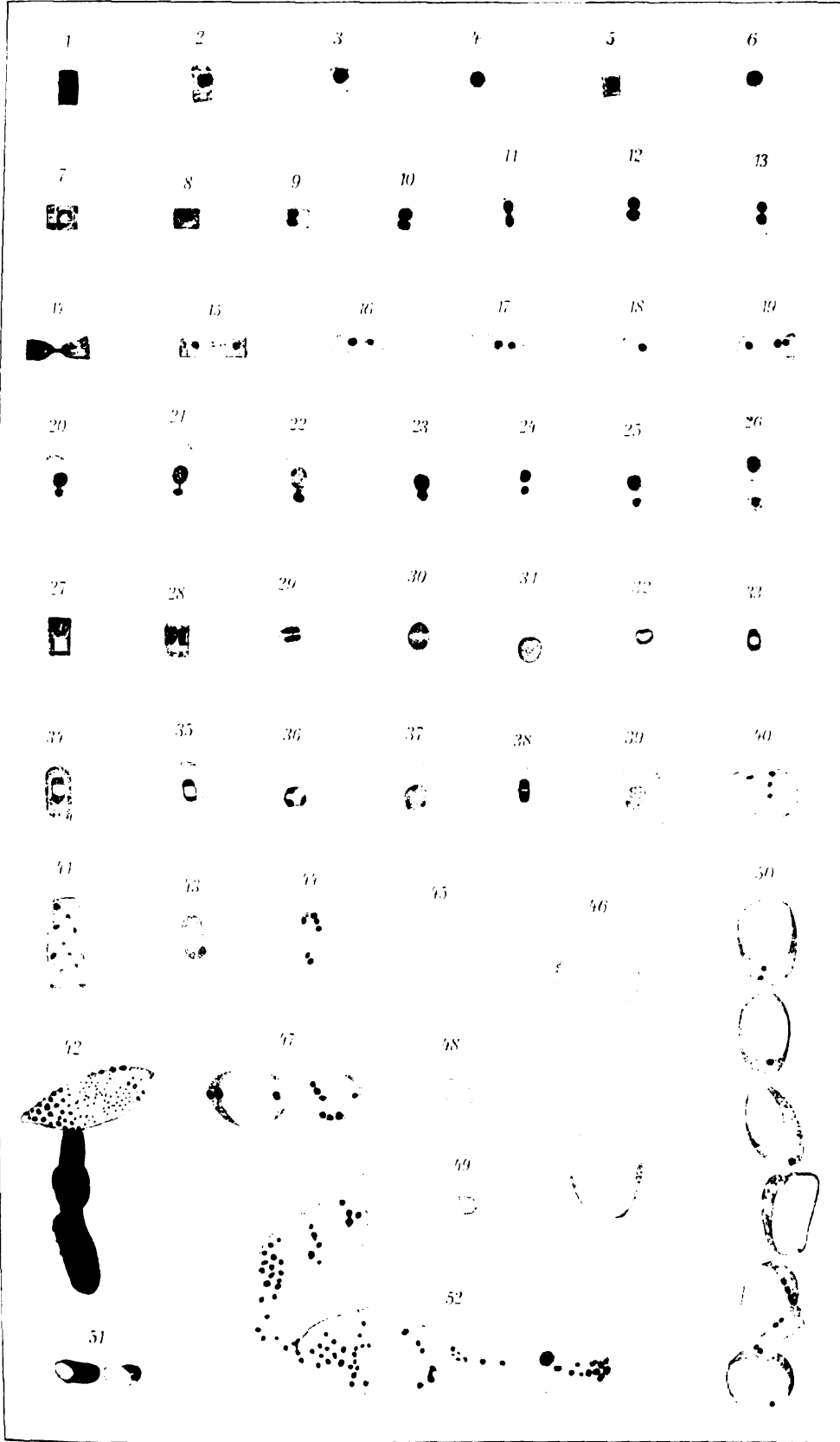
Mit 11 Tafeln und 43 Abbildungen im Text



Jena

Verlag von Gustav Fischer
1912

3123
v1000000



Verlag von Gustav Fischer in Jena

1907, 1908, 1909

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 63. Heft 1.

Ausgegeben am 6. April 1912.

Nachdruck verboten.

Études sur le noyau des bactéries.

I^{ère} Mémoire.

Sur un nouveau bacille dont le noyau est très évident.

[Inoculation Department, St. Mary's Hospital, London.]

Par S. R. Douglas et A. Distaso.

Avec 1 planche.

Dans deux cas d'affection pulmonaire et dans un cas d'inflammation chronique des sinus du nez, nous avons observé dans les crachats des deux premiers et dans le muco-pus qui s'écoulait du nez du 3^{me} un organisme qui s'y trouvait en grand nombre et présentait des caractères morphologiques différents de ceux de toutes les bactéries décrites.

Cet organisme, dans les préparations faites des crachats ou du mucus nasal, se présentait sous l'aspect d'une bactérie mesurant 1 μ de diamètre et 2 μ de long et entourée d'une énorme capsule.

Cette capsule se colorait bien par la méthode de Rosenow.

La bactérie ne prend pas le Gram, mais se colore facilement avec toutes les teintures basiques d'aniline.

A l'examen critique on pouvait voir que chaque bactérie contenait une granulation de coloration plus foncée, généralement située au centre et qui donnait fortement l'impression d'être un noyau.

Ces granulations furent étudiés d'après la technique suivante:

Une préparation bien étalée du crachat était faite sur une lame de verre et avant toute coloration, la préparation était retournée et placée au dessus d'un petit vase contenant une solution d'acide osmique à 2% à laquelle on avait ajouté par centimètre cube de la solution d'acide osmique une goutte d'acide acétique. On laissait les vapeurs de cette solution agir sur la préparation pendant 5 minutes environs, puis on laissait sécher à la température de la chambre. La coloration était faite avec le colorant de Giemsa. 15 gouttes de la solution de Giemsa sont ajoutés à 10 c.c. d'eau courante. Le tout est bien secoué et versé sur la préparation séchée. On laissait le colorant agir pendant 30 minutes ou davantage — puis la différentiation était faite en lavant le préparation dans une solution de 10 à 25% d'alcool.

En examinant la préparation on trouvait que les bactéries étaient colorés bleu pâle et la granulation centrale rouge-brillant.

Si la différentiation n'était faite qu'incomplètement, il se trouvait que les capsules étaient colorées en rouge, mais celle-ci obscurcissaient à ce point la structure de la bactérie que les détails de la granulation ne pouvaient plus être démontrés.

Des essais pour isoler ce microbe ne réussirent pas du tout d'abord, mais plus tard une culture abondante fut obtenu en ensemencant le crachat sur des plaques d'agar au sang en condition anaérobie à 37°.

Des réensemencements furent faits sur agar au sang inclinée et après quelques générations cet organisme se développait sur sérum-agar et sur agar ordinaire, non seulement en conditions anaérobies, mais aussi

119915

en condition aérobie. Les cultures en bouillon étaient très faibles, mais le bouillon-sérum donnait une culture plus abondante avec un trouble uniforme. Dans les premières cultures il n'avait jamais production d'indol.

L'aspect des colonies sur l'agar sang était celui d'une élevure ronde à bords lisses, ressemblants à du mucus et se rapprochant d'une façon très marquée de l'aspect des colonies du *B. de Friedländer*.

Ces colonies s'étendent très rapidement et se réunissent, prenant l'aspect d'un mucus épais, sur la surface du milieu. Les cultures en milieu sucrés étaient d'abord légères, après quelques essais elles devenaient abondantes, mais dans chaque essai il n'y avait pas de fermentation ni de changement dans les tubes. La culture après quelques jours présentait l'aspect de masses de mucus rassemblés au fond du tube.

C'est à 37° que la culture se produisait le plus rapidement. Elle était faible à 42°, faible à 20° dans la gélatine ordinaire et ce milieu n'était pas liquéfié.

Ce microbe en culture pure, examiné par les moyens habituels, montra qu'il ressemblait à l'organisme trouvé dans les crachats. Le point central étant cependant beaucoup moins marqué et ses contours très brisés et irréguliers. Il ne prenait pas le Gram.

Coloré par la méthode de Rosenow sur les préparations faites avec l'encre de chine, il montrait d'énormes capsules. Examiné à l'ultramicroscope on pouvait constater qu'il n'était point mobile et que le point central était, comme une tâche réfringente, claire, de dimensions variables.

Pour obtenir des préparations plus satisfaisantes qui nous permettent de mieux étudier la morphologie de ce microbe, nous avons employé la technique suivante: On prenait une légère émulsion d'une culture de cet organisme développée en anaérobie sur sang agar à 37°, pendant 20 heures environ, émulsion faite avec une goutte de solution saline normale, à laquelle était ajoutée une égale goutte de sérum sanguin frais avant d'être séchée, par les vapeurs de la solution osmique, dont nous avons parlé ci-dessus. On laissait ensuite la préparation sécher à la température de la chambre. Puis la coloration était faite au moyen du colorant de Giemsa et la différenciation établie comme nous avons dit plus haut.

L'avantage d'ajouter du sérum à l'émulsion, c'est qu'au moment de la fixation, le sérum coagulé empêche la retraction de la capsule sur le corps de la bactérie, et aussi les bords de la cellule sont plus nets.

Les cultures jeunes en conditions anaérobies, développées sur un milieu riche d'agar sang, se trouvaient donner les formes variées que nous avons décrits.

Cela établi, tâchons maintenant de suivre l'évolution de ce corps central dont nous avons parlé, pour voir si, outre les réactions colorantes, il répond à toutes les attributions morphologiques qu'on est habitués de donner au noyau dans la morphologie cellulaire.

Dans les préparations de cultures jeunes on voit deux espèces de formes: Les formes à noyau très grand (fig. 1—6) et d'autres à noyau beaucoup plus petits (fig. 14—19), mais tandis que les premières formes sont toujours isolés, ces dernières sont par paires. Il est certain donc qu'ici il se passe un phénomène générale cytologique, la division cellulaire où le noyau de la cellule se divise en deux par division directe, donnant naissance à deux cellules filles. En plus comme c'est le cas habituel, le

noyau se divise avant que le protoplasma achève son étranglement définitif.

Les figures 14—19 montrent ce fait d'une façon très nette. On voit en effet beaucoup de ces formes dans les cultures jeunes et l'on peut suivre très aisément toutes les étapes de leur évolution.

Les figures 9—13 nous permettent de suivre pas à pas la division du noyau et l'individualisation des cellules filles. On voit en effet d'abord le noyau s'allonger dans la direction de l'axe longitudinale de la cellule, ensuite s'étrangler dans le milieu et former ainsi deux noyaux fils de la même grandeur. Outre la division transversale qui, comme nous avons dit, est la règle, on voit très souvent des individus se divisant longitudinalement (fig. 27—28), mais dans toutes nos préparations nous n'avons jamais pu surprendre le moment où s'individualisaient les cellules filles de cette division. Cette dernière manière de se diviser est-elle aussi la règle? Ou représente-t-elle un état de sénilité où la cellule s'efforçait d'accomplir sa fonction, mais ne pourrait pas la porter à termes, ou bien la cellule bactérienne ne pouvant plus agir d'une manière physiologique, essaye-t-elle de se libérer d'un morceau de noyau pour pouvoir régénérer son individualité? Les observations de R. Hertwig, sur l'*Actinosphaerium*, parleraient en ce sens, mais il nous manque les faits pour nous prononcer définitivement. Suivre en effet une cellule bactérienne est impossible, et faire des déductions seulement de ce qu'on voit sur les préparations est chose peu scientifique. Une autre forme de division nucléaire très fréquente dans nos préparations était comparable à celle que l'on trouve chez les blastomycètes. C'est-à-dire qu'il se fait un étranglement d'où la formation de deux noyaux fils, l'un plus grand, l'autre plus petit. Dans les figures 20—26 on voit aisément la formation des deux noyaux inégaux que l'on peut suivre jusqu'à l'individualisation des deux cellules filles.

Puis qu'il était presque impossible d'étudier la structure du noyau, étant donné la petitesse de ce microbe, nous nous sommes adressés dans ce but aux formes vieilles.

Dans les cultures plus âgées, il est en effet plus aisé d'observer la structure du noyau.

Comme montrent les figures 30—39, le noyau est formé d'une membrane très évidente (bien entendu que nous en voulons pas discuter ici son existence, mais seulement nous servir d'un langage conventionnelle) sur laquelle sont des amas de chromatine bien évidents (fig. 32 et 36).

À l'intérieur de cette membrane (fig. 31 et 37) se trouve souvent un réseau de chromatine, mais nous n'avons jamais pu voir de nucléoles. Il est bien probable que dans les cellules primitives, à division directe, le nucléole ne serait pas un élément indispensable. Indirectement ces observations nous permettent de conclure que le nucléole est une partie de la cellule qui implique une haute différenciation en rapport avec la manière de se diviser.

D'autrefois, le noyau se présente avec un amas de chromatine dans son centre, mais souvent la membrane nucléaire est épaissie par l'accroissement de la chromatine qui la borde régulièrement (fig. 31).

Parfois encore les amas de chromatine se trouvent accolés aux 2 pôles et donnent au noyau un aspect en navette (fig. 33, 34, 35, 38); ou la chromatine se colle sur une partie seulement de la membrane nucléaire en forme de demi-lune (fig. 32). Toutes ces diverses conditions sont dessinées dans les figures, que nous avons indiquées.

1*

C'est dans ces cultures qu'on observe le plus souvent des divisions anormales. Il est très rare de trouver des formes en division transversale et quand on les trouve les noyaux ne sont jamais de la même grandeur. Dans ces cultures les noyaux et le protoplasma deviennent extraordinairement grands. Outre ces formes et celle à blastomycète, très fréquentes, on trouve aussi souvent le noyau fragmenté en beaucoup de petites sphérules éparpillées dans le corps microbien (fig. 40, 41). Nous verrons tout à l'heure qu'elle est la signification de ces formes multiples. Encore plus curieuses sont les formes âgées de plus que 72 heures. On voit alors des formes vésiculeuses, géantes. Elles deviennent immenses par rapport aux dimensions normales du microbe. Les figures 42—52 en donnent une idée.

Le microbe s'agrandit d'une manière anormale, il conserve des contours très nets, mais le protoplasma se ramasse dans un coin, présente des vacuoles de différente taille, et le noyau se fragmente en beaucoup de sphérules ou disparaît. On observe encore des formes à haltères (fig. 46). Nous constatons aussi dans ces formes d'involution des sphérules qui se comportent vis-à-vis du Giemsa comme le noyau de cette bactérie.

En résumé, donc, outre les réactions colorantes, notre corps réfringant se comporte dans son évolution comme un noyau d'un protozoaire, à savoir, il se divise, il donne naissance à deux noyaux fils, et chose plus importante ce que n'a pas encore été démontré, quand le noyau se disagrège, il donne naissance à des sphérules éparpillés dans le protoplasma qui sont d'origine nucléaire, car dans notre cas il n'est pas question ni de vacuoles, ni de débris de nourriture.

Il n'y a pas de doute que notre bacille possède un noyau bien distinct, bien individualisé dont nous avons montré sa morphologie, son évolution et son involution.

* * *

D'après ce que nous savons sur les discussions élevés à propos de l'existence ou non d'un noyau bactérien, nous pouvons classer les différentes opinions en 5 catégories:

1° Ceux qui n'admettent pas l'existence du noyau ou de ses équivalents (Fischer, Migula, Massart).

2° Ceux qui admettent que le corps bactérien tout entier est analogue du noyau, n'admettant pas de cette manière l'existence d'un protoplasma (Ružička).

3° Ceux qui admettent que la substance du noyau est chimiquement bien individualisée, mais morphologiquement imparfaitement différencié du protoplasma.

4° Ceux qui admettent que les microbes sont formés par un endoplasme, dans lequel la chromatine est diffuse, et d'un ectoplasme, unique différenciation du protoplasma (Zettnow).

5° Ceux qui admettent un noyau morphologiquement bien individualisé au moins pour une grande partie des microbes. Ces derniers auteurs ont appliqué la coloration de Giemsa (Feinberg, Ziemann, Meuvet).

D'autre côté tous les auteurs sont unanimes à admettre l'existence de la chromatine dans le corps microbien.

La question qui reste en discussion est la suivante: les microbes et dans l'espèce, les bacilles et les coccis ont-ils un noyau bien différencié, morphologiquement bien distinct du protoplasma?

Avant de répondre examinons le travail récent de Dobell¹⁾. Cet auteur étudie avec des méthodes précises la cytologie des bacilles et des coccis et trouve un noyau bien individualisé dans les sarcines, dans les microcoques et dans les coccobacilles.

En outre il fait des observations sur les bacilles qu'il divise en

1^o type des bacilles flexilis, qui sont des bâtonnets longs, flexueux, qui forment deux spores, où le noyau est représenté par la chromidie, noyau chromidien;

2^o type des bacilles à spirogire, où le noyau selon l'auteur est en forme de filaments en zig-zag;

3^o formes spirillaires

a) avec le noyau du type chromidial,

b) " " " " " filamenteux,

c) " " " " " avec un noyau sphérique.

4^o Bacilles fusiformes. Nous faisons exclusions de ces microbes, car cet auteur ne sait pas lui-même comment les définir, comme nous faisons exclusion de ceux qu'il appelle *Bacterium like-organisms*; car ils n'entrent pas dans la catégorie des bacilles.

Cet auteur donc nous apprend que ces types de microbes ont un noyau bien déterminé. Mais il n'a jamais rencontré un bacille dont le noyau soit défini, comme c'est notre cas.

Des observations de Dobell et des nôtres, il découle donc, qu'il existe des formes bacillaires et des coccis qui ont un noyau morphologiquement bien déterminé.

Ces conclusions basent sur des faits bien acquis plein de suggestions théoretiques. En effet, personne ne saurait nier qu'une cellule est dans un état d'équilibre.

Sans cet équilibre l'intégration de formes et la différenciation bien distincte de ces attributs morphologiques sont impossibles. Un noyau bien différencié est seulement possible quand la cellule bactérienne se trouve dans certaines conditions d'existence.

Nous avons vu dans notre description que nous avons trouvé 3 espèces de division nucléaire:

1) division transversale,

2) division longitudinale,

3) formes qui peuvent être comparées avec des bourgeonnements de levures.

Ces 3 manières de se diviser sont très fréquentes dans les cultures, mais la première manière et la troisième sont presque la règle dans les cultures jeunes, tandis que la deuxième est la règle dans les vieilles cultures.

Ces formes de division nucléaire dans les vieilles cultures nous obligent à chercher une explication de ces faits. Nous nous posons, en d'autres mots, le problème de la division nucléaire: c'est-à-dire pourquoi une cellule se divise, quand elle est arrivée à une certaine période de son existence. Dans le cas de notre microbe nous voyons des faits très éloquentes en soi-même, à savoir, d'un côté, la cellule bactérienne avec un noyau énorme dans son intérieur, complètement disproportionné au protoplasma environnant; d'un autre côté on observe les cellules en division avec un noyau très petit et un protoplasma très grand. Un autre fait encore plus suggestif est celui de l'étranglement que nous observons

1) *Quarterl. Journ. Microsc. Science. N. Ser. No. 223. (Vol. 56. Part. 3.) 1911.*

dans le noyau de notre microbe. Cet étranglement est comparable à la division des levures. Ces faits qu'on observe très aisément nous font penser à une hypothèse émise par R. Hertwig, die Kernplasma-relation. D'après cet auteur il doit y avoir un rapport constant entre le noyau et le protoplasma dans les conditions statiques normales de la cellule et dès que l'un de ces éléments augmente au delà d'une certaine proportion, la division cellulaire doit avoir lieu.

Les faits que nous avons observés dans la division de notre bactérie, rentreraient complètement dans le cadre de cette hypothèse. R. Hertwig arrive ainsi à la conception des chromidies. Cette théorie de R. Hertwig est devenu désormais classique et nous nous bornons à la mentionner, car il est évident que les bactéries étant les êtres les plus plasmatiques, seront capables de nous donner une réponse à cette question si importante du point de vue de la compréhension de la biologie cellulaire.

Les faits que nous avons examinés semblent donner raison à cette théorie. Mais il y a deux faits d'ordre générale que nous voulons faire constater. C'est d'abord la constatation admise désormais par tous ceux qui se sont occupés de la fine structure de la cellule bactérienne, que la plupart des bacilles à l'état normal a un noyau, fait de corpuscules de chromatine diffus dans le corps microbien, qui selon certains auteurs, seront des chromidies. Ils considèrent en d'autres mots les chromidies comme une condition de la cellule normale.

Deuxièmement, il reste à savoir si ces corps de chromatine, qu'on appelle chromidies, possèdent le pouvoir de régénérer un noyau bien défini dans un état quelconque de l'évolution cellulaire.

Des observations manquent sur ces points et il est difficile actuellement de nous prononcer. Il faudrait s'adresser à un microbe sporulé et à noyau chromidien, pour voir ce qu'ils devient dans la formation de la spore, qui représenterait l'organe de reproduction, et ce fait étant admis nous nous trouverons peut-être en face des même phénomènes qui se passent dans quelques protozoaires, où les chromidies formeraient des noyaux secondaires.

Ici on se trouve en face d'une question bien importante: qu'est ce qu'il faut entendre par noyau, quelle signification faut-il donner aux chromidies, qu'est-ce qu'ils sont dans la cellule bactérienne.

Dobell, dans son travail d'ensemble, admet que l'appareil chromidial doit être considéré au point de vue morphologique comme l'homologue du noyau car il n'a jamais trouvé des bacilles à noyau bien déterminé.

Nous ne pouvons pas souscrire à cette hypothèse que nous semble dépourvue de fondements morphologiques.

Pensons en effet que noyau et chromatine ne sont pas la même chose. Ils sont l'un vis-à-vis de l'autre comme le contenu et le contenant. La chromatine est une partie du noyau seulement, ce qu'on peut observer aisément dans la formation des chromidies dans notre microbe.

Il est clair d'après les figures 36, 39, que dans les formes en suffrance la chromatine se réunit en petit amas et ce phénomène de retraction de la chromatine nous permettait, comme nous l'avons décrit plus haut, d'observer la substance fondamentale du noyau: Ensuite ces amas qui se libéraient de leur connection, se trouvaient éparpillés dans le protoplasma et le noyau disparaissait complètement (fig. 47, 52). Ces amas chromatiques éparpillés sont les chromidies qui dès ce moment là n'ont plus les attributs morphologiques du noyau.

la
ont
a-
tre
la
er-

rie,
t-
de
s à
lus
ion
gie

tte
ire
ux
ue
les
rs.
ies

on
lé-

le-
ilé
on
.nt
es
nt

ce
o-

al
re
é.
le

re
n-
ut
e.
la
la
r-
se
r-
is
it

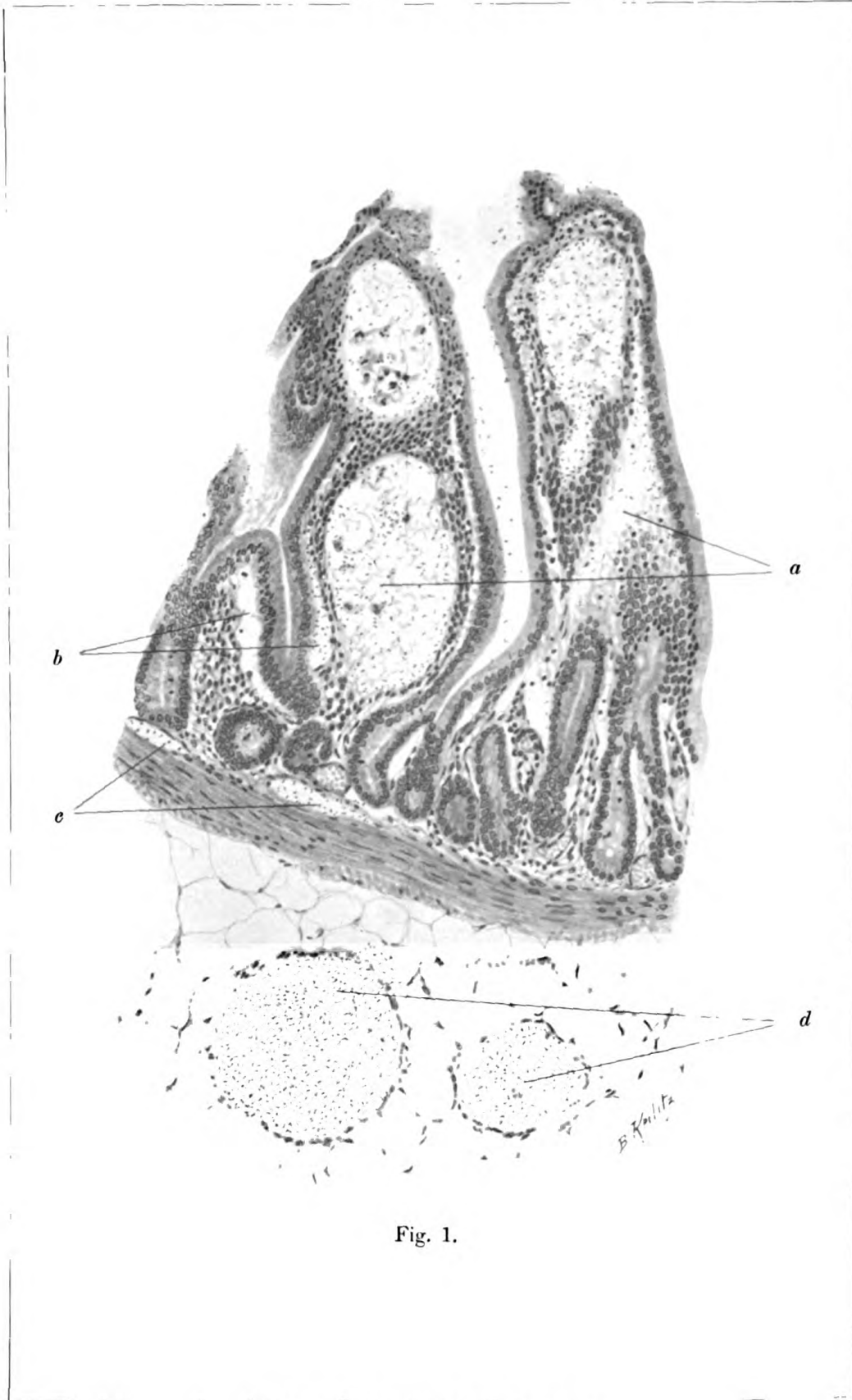


Fig. 1.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Fig. 2.

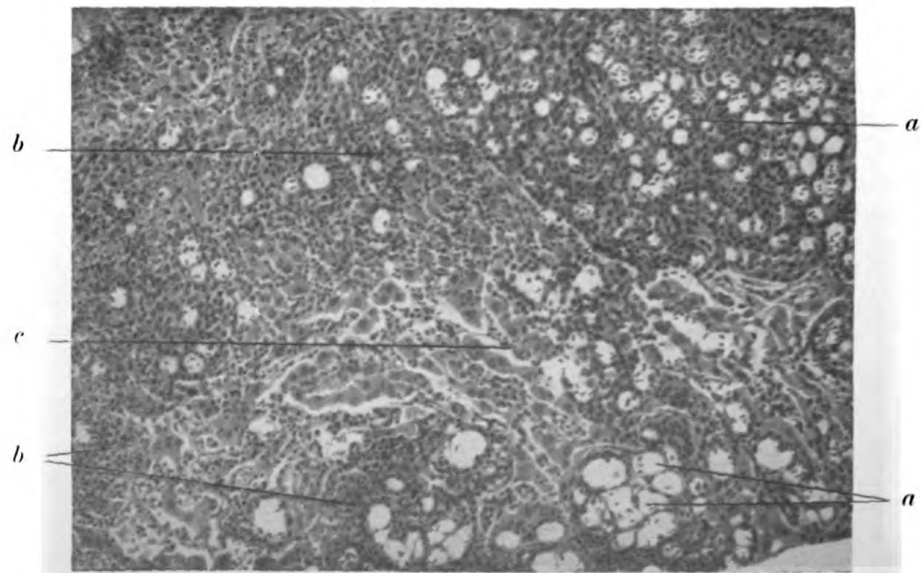


Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

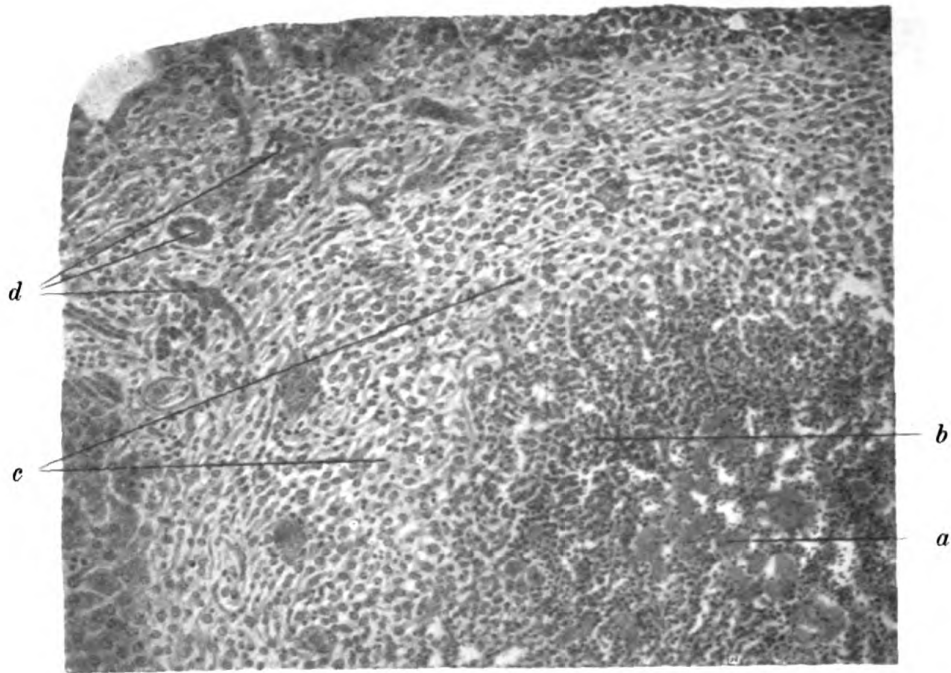


Fig. 4.

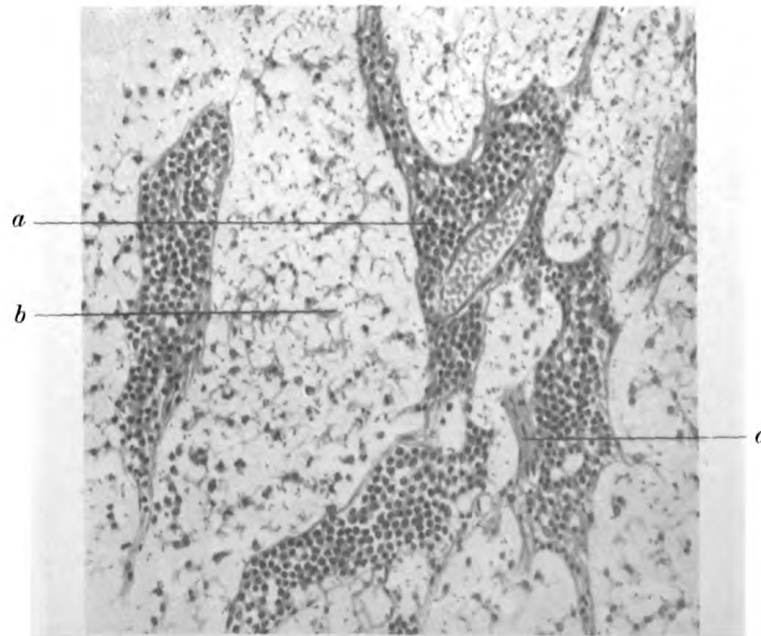


Fig. 5.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Donc il faut admettre que les amas de chromatine, éparpillés dans le corps microbien, sont les homologues du noyau et alors il faudrait bien admettre que la cellule bactérienne est tout simplement un noyau; ou bien on admet que ces amas correspondent aux chromidies et alors il n'y a que deux interprétations possibles: la cellule bactérienne représenterait une cellule malade ou bien avant de se prononcer on doit chercher l'étape dans l'évolution cellulaire où ces chromidies donnent lieu à un noyau bien distinct avant de la division cellulaire.

Mais l'une ou l'autre explication nous portent à admettre que désormais il n'y a pas de microbe sans noyau ou son équivalent physiologique. Les faits nous conduisent décidément à repousser le dogma de Haeckel sur l'existence d'organisme inférieur sans noyau ou son équivalent. En effet les études cytologiques les plus récentes mettent en lumière l'importance capitale qui a le noyau dans la fonction de la cellule vivante et dans la transmission des caractères de l'espèce.

Nous ne voulons pas répéter ici tout ce que la zoologie expérimentale à pu démontrer à ce sujet. Il suffit de citer les travaux de Boveri, de Giardina, de Wilson, de Hecker sur les chromosomes et l'hérédité.

En outre, le noyau aurait une fonction sur le métabolisme cellulaire, fonction très importante au point de vue de la vie de la cellule.

Cela établi, avons nous le matériel nécessaire pour établir une phylogénie du noyau?

Nous ne croyons pas pouvoir résoudre cette question avec nos connaissances actuelles.

Ainsi nous ne croyons pas de devoir insister et nous n'admettons pas pour les considérations faites plus haut que la condition chromidiale serait primitive. Il faut avant d'émettre cette hypothèse élucider trop de questions préliminaires.

Nachdruck verboten.

Micrococcus tetragenus als Erreger einer Meerschweinchenseuche.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut in Wien
(Hofrat Weichselbaum).]

Von Dr. F. Kaspar und Dr. W. Kern.

Mit 3 Tafeln und 1 Textfigur.

Die in gewissen Jahreszeiten unter dem Bilde einer Epizootie plötzlich einsetzende Sterblichkeit unserer gebräuchlichen Versuchstiere, welcher gelegentlich die gesamten Bestände einer Tiergattung verfallen können, ist eine wohl allen Tierexperimentatoren bekannte Tatsache. Die Ursachen solcher in ihrer Aetiologie nicht einheitlichen Tierseuchen sind zum Teil noch wenig und unvollständig erforscht, so daß es angebracht erscheint, im nachfolgenden Beobachtungen wiederzugeben, die wir im Herbste des verflossenen Jahres anlässlich einer solchen Epizootie unter unseren Meerschweinchen sammeln konnten. Das Studium derselben bot nicht allein in ätiologischer Beziehung, sondern auch in epidemiologischer

Richtung und nicht zuletzt durch die mannigfachen pathologisch-anatomischen Erscheinungsformen der Infektion ein gewisses Interesse. Die hierbei gesammelten Erfahrungen haben endlich auch gelehrt, daß der in der vorliegenden Arbeit festgestellte Erreger (*Micrococcus tetragenus*) sich zur Vornahme von Studien über Infektionswege im allgemeinen und über verwandte Fragen ganz besonders eignet.

Aus der uns zugänglich gewordenen Literatur seien als unter den Meerschweinchen spontan auftretenden Seuchen folgende spärliche Angaben angeführt:

Br. Galli-Valerio (1) berichtete über eine mit schweren Darmerscheinungen einhergehende Meerschweinchenseuche, als deren Erreger der Autor Flagellaten anspricht, die in die Klasse *Trichomonas* zu zählen sind. Perroncito (2) fand gelegentlich einer Meerschweinchenepezootie, die unter dem Bild einer hämorrhagischen Enteritis des Dickdarmes verlief, im Darminhalt rotgelbliche Körperchen, die er als Protozoen anspricht. Perroncito (3) erwähnt auch die Bedeutung von *Cercomonas pisiformis* und *Cercomonas globosus* bei Darmerkrankungen der Meerschweinchen, die unter denselben eine große Sterblichkeit bedingen. Eine bakterielle Lungenseuche der Meerschweinchen wurde von Strada und Traina (4) beschrieben, die durch ein gramnegatives ovales Bakterium von geringer Länge, nämlich das *Bacterium pneumoniae caviarum*, verursacht wird. Die Erkrankung bleibt lediglich auf die Lunge beschränkt und tritt in Form von pneumonischen Herden auf. Eine analoge, ebenfalls durch ein gramnegatives Stäbchen hervorgerufene Lungenerkrankung wurde weiter von Tartakovsky (5) beobachtet. Anschließend sei eine von Weber (6) studierte Meerschweinchenepezootie angeführt, bei welcher ein grampositiver *Diplococcus* mit mangelnder Kapselbildung nachgewiesen wurde, der ein sehr üppiges Wachstum auf allen gebräuchlichen Nährböden zeigte, lediglich Lungenaffektionen hervorrief und außer in den pneumonischen Herden, auch im Blute und dem Nasenschleim nachgewiesen werden konnte. Die Kenntnis von spontanen Infektionen mit *Diplococcus lanceolatus* Fränkel-Weichselbaum verdanken wir den Mitteilungen von Stefansky (7). Diese Infektionen, die vorzüglich in der kälteren Jahreszeit anzutreffen sind, treten unter dem Bilde einer Pneumonie, fibrinös-eitriger Entzündung der serösen Häute auf, mitunter kombiniert mit Vereiterung der peribronchialen Lymphdrüsen und Abszeßbildung in den Uterushörnern und führen zu degenerativen Veränderungen der inneren Organe. Der Erreger, der in seinem biologischen Verhalten vollkommen einem *Diplococcus lanceolatus* entspricht, ist außer in den verschiedenen Erkrankungsherden auch stets im Blut, in der Leber und Milz nachweisbar. Ferner liegen noch Berichte über Meerschweinchenepezootien durch Bacillen aus der *Coli*-Gruppe vor, so von Lochmann (8), durch den von ihm beschriebenen *Bacillus caseolyticus* und durch einen diesem nahestehenden *Coli*-Stamm von Kowarzik (9). Es sei endlich eine von Altana (10) beobachtete kontagiöse Meerschweinchenerkrankung erwähnt, die für die vorliegende Arbeit insofern von Interesse ist, als es sich hierbei um eine, allerdings nur wenige Tiere befallende, aber durch einen *Micrococcus tetragenus* hervorgerufene Infektion handelte. Morphologisch und zum Teil auch kulturell entsprach dieser Mikroorganismus, der aus dem Blut und der Leber der verendeten Tiere gezüchtet wurde, einem *Micrococcus tetragenus*. Mit Rücksicht auf das spärliche und langsame Wachstum, selbst bei höheren Temperaturen, und die fehlende Schleimbildung in Kulturen meinte Altana, seinen Stamm als eine besondere Art auffassen zu sollen und bezeichnete ihn als *Tetragenus tardissimus*. Allem Anschein nach dürfte es sich aber bei diesen vereinzelt Spontaninfektionen um eine analoge Erkrankung, wie bei der von uns beobachteten, umfangreichen Meerschweinchenseuche gehandelt haben.

Zur Orientierung über den Verlauf der Epizootie und den Charakter der Infektion möge folgendes dienen: Ungefähr 40 junge, ziemlich gleichaltrige Tiere wurden im Frühjahr 1910 zum Zwecke einer größeren Serie einheitlicher Tierversuche in den Stallungen des Institutes frisch eingestellt und zunächst in einer gemeinsamen Abteilung aufbewahrt. Ohne daß an den Tieren irgendwelche experimentelle Eingriffe gemacht worden wären, begann im folgenden Oktober die Seuche damit, daß fast jeden Morgen ein oder auch mehrere Tiere in ihrem Käfig tot aufgefunden wurden. Der Verdacht, daß es sich um eine kontagiöse, und zwar einheitliche Erkrankung der Tiere handelte, war um so naheliegender, als

einer von uns schon früher unter seinen Meerschweinchen gehäufte Spontaninfektionen, und zwar durch einen *Diplococcus lanceolatus*, beobachten konnte. Die Sektion der Meerschweinchen und die bakteriologische Untersuchung der Krankheitsherde ergab bei den nunmehr eingegangenen Tieren das Vorliegen einer durch einen grampositiven *Tetracoccus* verursachten Infektion. Während in den zwei dem Beginn der Epizootie sich unmittelbar anschließenden Monaten fast täglich ein oder auch mehrere Tiere verendeten, nahm die tägliche bzw. wöchentliche Sterblichkeitsziffer in den folgenden Monaten — die Epizootie erstreckte sich im ganzen auf 5 Monate — immer mehr ab, bis endlich aus dem ursprünglichen Bestand von 47 Meerschweinchen nur noch 4 Tiere am Leben blieben und bei Abschluß der Arbeit, ein Jahr nach Beginn der Seuche, noch in Beobachtung gehalten wurden.

Hand in Hand mit dem Abnehmen der Sterblichkeit ließ sich auch eine Aenderung des Krankheitsverlaufes feststellen. War dieser in der ersten Periode der Epizootie ein ungemein rascher, so verlängerte sich die Krankheitsdauer in den späteren Monaten immer mehr und es nahmen die Krankheitserscheinungen dementsprechend auch leichtere Formen an, bis endlich die letzten Tiere wohl deutliche Krankheitssymptome aufwiesen, ohne aber der Infektion zu erliegen. Endlich konnte auch eine wesentliche Aenderung der pathologischen Befunde bei den Tieren, die zu Anfang der Seuche eingingen, gegenüber jenen, die in den späteren Perioden derselben verendeten, festgestellt werden, so daß zwischen einer akuten und einer chronischen Form der Erkrankung unterschieden werden muß.

Die Erkrankungen der zu Anfang der Seuche akut erkrankten Tiere bestanden in starker schleimiger Sekretion aus der Nase, Nießanfällen, schweren Darmstörungen und Zittern am ganzen Körper, wobei die Tiere mit gestäubten Rückenhaaren in einem Winkel ruhig sich zusammenkauerten und in wenigen Tagen unter Krämpfen verendeten. Bei jenen Tieren, die erst im Verlaufe der späteren Monate eingingen, kam es lediglich zur Entwicklung von mitunter sehr umfangreichen Abszessen, die zum Teil innerhalb von Lymphdrüsen, zum Teil subkutan und intramuskulär gelagert waren, und zwar an verschiedenen Körperstellen. Sonst boten solche Tiere außer einer gelegentlichen Abmagerung keinerlei äußerlich erkennbare Krankheitssymptome, bis sie endlich nach mehrwöchentlicher Krankheitsdauer plötzlich unter septischen Erscheinungen eingingen. Bei einzelnen der Tiere kam es nach längerer Zeit zum Durchbruch der vereiterten Lymphdrüsen durch die Haut und damit zur spontanen Heilung. Daß Uebergänge zwischen diesen beiden Typen zu beobachten waren, braucht wohl kaum nachdrücklich betont zu werden. Da in allen Fällen mit Ausnahme von 3 Tieren (2 Infektionen mit einem gramnegativen nicht näher bestimmten *Bacillus* und einer Mischinfektion von *Micrococcus tetragenus* und *Diplococcus lanceolatus*) einwandfrei ein und derselbe *Tetracoccus* als Krankheitserreger nachgewiesen wurde, konnte in der vorliegenden Epizootie auch in klarer Weise erkannt werden, wie die Virulenz eines Bakteriums im Verlaufe einer Seuche immer mehr und endlich gänzlich erschöpft wird und damit auch der Krankheitsverlauf und vor allem die pathologischen Vorgänge im Gewebe eine eingreifende Aenderung erfahren können (s. auch pathologische Anatomie p. 16).

Andere Tiere, wie weiße Mäuse, Ratten, Kaninchen und Affen, die in derselben Stallabteilung gehalten wurden, blieben von der Seuche

verschont und erkrankten auch nicht vor dem Einsetzen unserer Meerschweinchenepizootie spontan an einer *Tetragenus*-Infektion. Umfangreichere Tierversuche mit *Micrococcus tetragenus* wurden seit Jahren nicht im Institute vorgenommen, so daß die Einschleppung des Krankheitskeimes durch ein infiziertes Experimentaltier in die Tierstallungen mit Bestimmtheit ausgeschlossen werden kann. Da die 40 Meerschweinchen bereits seit Monaten gemeinsam in einer geräumigen Kiste gehalten wurden, ohne daß eines der Tiere erkrankt wäre, sollte zunächst festgestellt werden, ob die Infektionskeime von außen etwa mit dem Futter eingeschleppt wurden. Die bakteriologische Prüfung des den Tieren verabreichten Grünfutters blieb indes ergebnislos, ebenso wie der Versuch, durch Aenderung der Nahrung die Infektion oder den Ausbruch der Erkrankung zu beeinflussen. Zu diesem Zwecke wurde einem Teil der Tiere durch einige Zeit ausschließlich nur Grünfutter, einem anderen Teil Grün- und Trockenfutter gemischt und endlich einer Reihe von Tieren lediglich Trockenfutter verabreicht. Diese Maßnahmen vermochten ebensowenig wie die frühzeitige Isolierung einzelner Tiere, in einer anderen Stallabteilung das Weiterschreiten der Seuche unter den Meerschweinchen aufzuhalten. Da somit eine Einschleppung der Infektionskeime von außen nicht aufgedeckt werden konnte, gewinnt die Annahme, den Infektionsherd in den Tieren selbst zu suchen, eine gewisse Berechtigung. Es müßte ebenso wie in anderen Fällen angenommen werden, daß ein oder das andere Tier die Rolle eines Kokkenträgers spielte, von welchem sodann, aus allerdings nicht erkennbarer Ursache, die Verseuchung der übrigen Tiere stattfand. Da aus dem bereits Gesagten hervorgeht, daß einzelne Tiere eine Infektion überstehen können, und im nachfolgenden ausgeführt werden wird, daß die Kokken stets im Nasensekret auffindbar sind, wohin sie vermutlich auf lympho- oder hämatogenem Wege ausgeschieden werden, dürften gerade solche Tiere die Rolle von Kokkenträgern spielen, in welchen die im Verlaufe der Epizootie erkennbar abgeschwächten Stämme saprophytisch fortleben und nach einer längeren oder kürzeren Erholungspause wieder ihre ursprüngliche Virulenz erlangen.

Der bakteriologische Nachweis des Krankheitserregers wurde naturgemäß stets mit der mikroskopischen und kulturellen Untersuchung der Krankheitsherde begonnen, diese Untersuchungen aber später auf die verschiedenartigsten Organe, das Blut und verschiedene Sekrete und Exkrete, ausgedehnt, worauf wir später (anatomischer Teil p. 16) noch eingehender zu sprechen kommen werden. Das Ergebnis dieser umfangreichen Untersuchungen war stets wiederkehrend der Nachweis eines einheitlichen Bakteriums, dessen Eigenschaften im folgenden charakterisiert sind: Morphologisch handelt es sich um einen gramfesten, ziemlich großen, runden oder querovalen Coccus, der vorzüglich zu viert, seltener zu Zweit angeordnet, somit als *Tetracoccus* anzusprechen ist. Im tierischen Organismus wird er stets von einer breiten, scharf abgegrenzten Kapsel eingeschlossen, die schon bei gewöhnlicher Nachfärbung mit verdünntem alkoholischen Fuchsin im Grampräparat leicht und deutlich darzustellen ist. Im Tierkörper und wohl auch in den ersten Kulturgenerationen auf festen und flüssigen Nährböden fällt eine ungemein reichliche Schleimproduktion auf, die zur Bildung umfänglicher Zoogloehaufen führt. Bei fortgesetzter Züchtung auf festen Nährböden erfolgte etwa von der 20. Generation ab die Tetradenbildung nicht mehr so

regelmäßig und wird in den weiteren Generationen immer undeutlicher. An ihre Stelle tritt die Anordnung der Kokken in kurzen Ketten, Kokkentafern und unregelmäßigen Haufen. Auch ist eine Kapsel in einem solchen Untersuchungsmaterial nicht mehr darstellbar. Andererseits fiel eine reichliche Kapselbildung in einer 8-monatigen Bouillonkultur, die durchweg bei 37° C gehalten wurde, auf, wozu noch bemerkt sei, daß die färberische Darstellung der Kapseln gegenüber Ausstrichen aus frischem Eiter nur in geringem Grade beeinträchtigt war. Erwähnt sei ferner, daß bei Züchtung des Bakteriums in Heudekokten, trotz wiederholter Prüfung, die Bildung von Paketformen niemals beobachtet werden konnte. Es muß dies bemerkt werden, da nach den Angaben von Lehmann-Neumann (11) und von Migula (12) der *Micrococcus tetragenus* typische Sarcineformen bilden soll und Erstere als Synonym für *Micrococcus tetragenus* die Bezeichnung *Sarcina tetragena* in unsere Nomenklatur einzuführen bemüht sind. Eine Eigenbewegung der Kokken im hängenden Tropfen konnte nicht beobachtet werden, und dementsprechend gelang auch nicht die färberische Darstellung von Geißeln (nach der Methode von Zettnow).

Das Bakterium gedeiht auf allen gebräuchlichen Nährböden. Das Temperaturoptimum liegt bei 37° C, etwas langsamer geht das Wachstum bei Zimmertemperatur vor sich; doch kommt es auch unter diesen Bedingungen zur Entwicklung üppiger Kolonien. Die Züchtung gelingt endlich in gleicher Weise unter aëroben wie anaëroben Verhältnissen.

Agarplatten: Makroskopisch nach 24 Stunden kleine, hirsekorn-große, kreisrunde Kolonien, teils konfluierend, leicht erhaben, schleimig, saftig glänzend, undurchsichtig, glattrandig, mit Leimgeruch. Bei 50-facher Vergrößerung: Deutlich gekörnte, schmale Randzone. Aeltere Kolonien erreichen eine Größe bis zu 1 cm Durchmesser, sind weißlich-porzellan-artig, grob gelappt, konfluieren und erscheinen unter dem Mikroskope am Rande fein gekörnt.

Im Agarstich: Wachstum längs des Stichkanals fein bis grobkörnig, knopfförmiges Oberflächenwachstum.

Bouillon: Nach 24 Stunden diffuse Trübung, nach einigen Tagen Klärung der Bouillon, Bildung eines zopfförmigen, aufschüttelbaren Bodensatzes, ringförmiges Oberflächenwachstum.

Zuckerbouillon: Wachstum erfolgt wie in gewöhnlicher Bouillon, auch mit ringförmigem Oberflächenwachstum, Bodensatz mehr krümelig.

Peptonwasser: Ziemlich reichliches Wachstum, jedoch geringer wie in Bouillon; anfangs diffuse Trübung, dann Klärung, aufschüttelbarer, zopfartiger Bodensatz.

Milch: Bleibt dauernd unverändert. Koagulation fehlt auch nach mehrwöchentlicher Beobachtung.

Traubenzuckeragarstich: Wachstum wie im Agarstich, ohne Vergärung.

Gelatinestich: Wie im Agarstich, selbst nach 6-wöchentlicher Beobachtungsdauer keine Peptonisierung. Oberflächenwachstum wie im Agarstich.

Kartoffel: Bildung eines schleimigen, ziemlich scharf abgegrenzten Rasens von weißlicher Farbe.

Diesen Kulturversuchen auf den geläufigen Nährmedien schlossen wir noch eine eingehendere Prüfung des Verhaltens unseres Bakteriums auf verschiedenen kohlehydrathaltigen Nährböden an, in der Absicht,

vielleicht auf diesem Wege eine präzisere Abgrenzung der nahestehenden Kokkenformen zu erreichen.

Auf Lackmusnutrose-Milchzuckeragar trat nach 24-stündigem Wachstum deutliche Säurebildung ein, ebenso auf Lackmusmannitagar.

Lackmusmolke, die zunächst unverändert blieb, wurde nach ca. 1 Woche schwach angesäuert.

Auf Lackmusagarplatten mit Zusatz von Glukose, Fruktose, Saccharose und Maltose trat nach 24 Stunden starke Rötung, bei Laktosezusatz eine schwache, und eine ganz zarte Rötung auf Galaktose ein.

Die Prüfung derselben Nährböden bei Anwendung der Stichkultur ergab: Spärliches Wachstum nach 24 Stunden ohne Gasbildung, leichte Säuerung nach 3 Tagen und endlich deutliche Rötung und Aufhellung in den unteren Partien nach 14 Tagen bei Anwesenheit von Glukose, Fruktose, Saccharose, Maltose, Mannit und Laktose. Ein rein quantitativer Unterschied war demgegenüber in Galaktose zu erkennen, die ebenso, nur schwächer, gerötet wurde und im unteren Teil die stärkste Aufhellung zeigte.

Schließlich wurden noch Kulturversuche auf den nach Angabe J ehles¹⁾ hergestellten Nährböden mit den gleichen Zuckerzusätzen ausgeführt. Die Veränderungen der einzelnen Kulturmedien nach 4 Tagen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Laktose, Maltose schwache Rötung, Glukose, Galaktose, Mannit intensivere Rötung, Saccharose und Fruktose starke Rötung und Koagulation des Nährsubstrates. Bei weiterer Beobachtung stellte sich nach etwa 1 Woche wohl auch im Mannit, in der Glukose, Laktose und Maltose Gerinnung ein. Galaktose blieb jedoch unverändert flüssig, zeigte also auch in dieser Hinsicht unter den verwendeten Zuckerarten die geringste Beeinflussung durch den *Micrococcus tetragenus*. Gasbildung konnte in all diesen Nährmedien nicht beobachtet werden.

Hämolyse konnten wir nicht nachweisen.

Indolbildung, die in Kulturen verschiedener Altersstufen bis zu 7 und 8 Wochen Wachstumsdauer untersucht wurde, blieb aus.

Die wichtigsten Eigentümlichkeiten des Bakteriums sind somit: Grampositiver Coccus, der in jungen Generationen Tetraden- und Kapselbildung aufweist, welche Eigenschaften er bei fortgesetzter Züchtung zum Teil einbüßt, um sie bei neuerlicher Tierpassage wiederzuerlangen. Er zeichnet sich auf festen Nährmedien durch reichliche Schleimbildung und Entwicklung eines Leimgeruches aus; in Bouillon tritt nach vorausgegangener Trübung Klärung mit Bildung eines zopfartigen Bodensatzes ein; Milch läßt er unverändert. In Gelatine erfolgt keine Peptonisierung, auf Drigalski-Conradischem Nährboden und Lackmusmannit tritt nach 24 Stunden Säurebildung ein, die sich in der Lackmusmolke erst nach 1-wöchentlichem Wachstum in geringerem Grade einzustellen pflegt. Unter allen Zuckernährböden zeigt die Galaktose die geringste Beeinflussung durch das Bakterium. Auch ältere Stämme nach vielfacher Uebertragung zeigten dieselben biologischen Eigenschaften wie die jungen Generationen, nur daß sie, wie schon gesagt, die Merkmale der Tetraden-

1) Jehle-Charleton, Zeitschr. f. Heilk. 1905.

1 Teil Rinderblutserum und 4 Teile dest. Wasser

1 Proz. Zuckerzusatz

1-proz. Lackmualösung 5 Proz.

und Kapselbildung verloren, womit Hand in Hand auch die so charakteristische viszide Beschaffenheit der Kolonien verloren ging und diese eine weißliche Farbe und ein mehr trockenes, krümeliges Aussehen annahmen.

Zum Vergleiche mit diesem aus dem Meerschweinchenorganismus gezüchteten *Tetracoccus* wurden folgende vom Menschen gewonnene *Tetragenus*-Stämme herangezogen: 2 Institutsstämme von *Micrococcus tetragenus* (Stamm M und Stamm R), 2 Stämme von Prof. Král aus Prag, von welchen einer als echter *Tetragenus*-Stamm, der andere als sogenannte Sauerbecksche *Sarcina* geführt wird, und endlich ein Stamm, der von Herrn Dr. Bauer in der Prosektur der Poliklinik in Wien aus einer eitrigen Meningitis bei einem Kinde gezüchtet und uns gütigst zum Vergleich überlassen wurde. Bezüglich der zwei zuerst erwähnten Stämme sei bemerkt, daß sie schon lange Zeit auf künstlichen Nährböden kultiviert wurden und dementsprechend die Eigenschaft der Kapselbildung verloren hatten, die indessen durch Tierpassage wiederzuerhalten war. Kulturell zeigten der Stamm R sowie der Králsche Stamm von *Micrococcus tetragenus* mit den Stämmen der Meerschweinchenseuche eine volle Uebereinstimmung, während der *Tetragenus*-Stamm M als kleine Abweichung auf Lackmusmannitagar keine Säuerung, der Stamm von Bauer und die sogenannte Sauerbecksche *Sarcina* von Král die Lackmusmolke unverändert ließen, sonst aber in allen anderen Punkten sich mit unserem Stamme gleich verhielten.

Nach dem Gesagten kann es somit kaum einem Zweifel unterliegen, daß der von uns beobachtete Erreger der besprochenen Meerschweinchenseuche als ein *Micrococcus tetragenus* anzusprechen ist. Er ist identisch mit dem von Koch und Gaffky (13) aus dem Phthisikersputum isolierten *Micrococcus tetragenus* und dem von Boutron (14) als *Micrococcus tetragenus septicus* bezeichneten Coccus, sowie mit der sogenannten *Sarcina tetragena* Lehmann-Neumann (11).

Hinsichtlich des von Altana (10) beschriebenen *Micrococcus tetragenus tardissimus* sei an dieser Stelle folgendes bemerkt. Die Kapselbildung des *Micrococcus tetragenus* ist eine Eigenschaft, die nicht konstant auftritt, die — wie auch in unserem Falle — bei fortgesetzter Kultivierung verloren gehen kann (vgl. Lehmann-Neumann), ja die selbst im tierischen Organismus nicht immer angetroffen wird. Ein kümmerliches und langsames Wachstum wird bei echten *Tetragenus*-Stämmen gelegentlich beobachtet und auch wir konnten bei einzelnen unserer Stämme, die infolge fortgesetzter Züchtung schon etwas abgeschwächt waren, ähnliches beobachten, so daß diese von Altana angeführten Eigentümlichkeiten nicht zur Abgrenzung einer besonderen *Tetragenus*-Art hinreichen, vielmehr als der Ausdruck einer Abschwächung der betreffenden Stämme anzusehen sein dürften. Vermutlich dürfte es sich daher bei den von Altana beobachteten spontanen Meerschweinkerkrankungen ebenfalls um echte *Tetragenus*-Infektionen gehandelt haben.

Der Nachweis einer Toxinbildung in der Kultur durch unsere Stämme ist bisher nicht gelungen. Zu diesen Versuchen wurde eine Bouillon verwendet, zu der nur $\frac{2}{6}$ resp. $\frac{5}{6}$ der zur völligen Neutralisierung notwendigen Menge Normallauge zugesetzt wurde¹⁾. 3—4 Wochen alte

¹⁾ Vgl. Neisser u. Wechsberg, Ueber Staphylotoxin. (Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 36.)

Bouillonkulturen in Erlenmeyer-Kolben wurden durch Reichelt-Filter filtriert, das Filtrat auf Keimfreiheit geprüft und sodann in Mengen von 5 und 10 ccm Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Gleiche Versuche wurden mit älteren, bis zu 3 Monate alten Kulturen wiederholt und hiervon $\frac{1}{2}$ resp. 1 ccm weißen Mäusen, sowie 5 resp. 10 ccm Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Sämtliche Tiere blieben nach der Injektion in jeder Richtung vollkommen reaktionslos. Auf dem angedeuteten Wege ist somit die Darstellung eines Toxins nicht möglich.

Hinsichtlich der Tierpathogenität des *Micrococcus tetragenus* werden wohl allgemein die weißen Mäuse als ungemein empfänglich bezeichnet, während graue Mäuse sich gegenüber der Tetragenus-Infektion refraktär verhalten sollen. Demgegenüber berichtete Lode (15), daß die künstliche Infektion auch an grauen Mäusen gelingt. Ausführliche Untersuchungen über die Tierpathogenität liegen von Teissier (16), Boutron (14) und Bosc und Galavielle (17) vor. Teissier fand den Tetragenus für Meerschweinchen und weiße Mäuse pathogen, Boutron bei intraperitonealer Impfung für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen, bei subkutaner Infektion tödlich für die ersten beiden Tierarten, Kaninchen zeigten sich widerstandsfähiger. Bosc und Galavielle fanden ihren Stamm für alle genannten Tiere und die Ratte pathogen, nur das Kaninchen zeigte sich resistenter, erlag aber bei höheren Dosen auch der Infektion. Die Taube zeigte nur lokale Reaktion. Ferner erwies sich der Tetragenus nach Karlinski (18) pathogen für Steinmarder und Vögel. Kolle-Hetsch (19) sowie Flügge (20) bezeichnen den *Micrococcus tetragenus* für weiße Mäuse sehr pathogen, für Meerschweinchen soll er viel weniger pathogen sein, meist lokale Eiterungen erzeugen und nur ausnahmsweise tödliche Allgemeininfektionen verursachen. Nach den meisten Autoren verhalten sich Kaninchen gegen den *Micrococcus tetragenus* refraktär.

Demgegenüber ergaben unsere Impfversuche an Kaninchen übereinstimmend mit den Erfahrungen von Müller (21), Boutron (14), Bosc und Galavielle (17) positive Resultate, sofern den Tieren große Mengen des Kulturmaterials injiziert wurden, auch erwies sich unser Stamm für weiße Mäuse ebenso pathogen wie für die wilde, die graue Maus (s. Tab. II). Wohl selbstverständlich ist es, daß von uns ausgedehnte Impfversuche an Meerschweinchen ausgeführt wurden, durch deren positiven Ausfall bei subkutaner, perkutaner und intraperitonealer Einverleibung des Virus dessen Bedeutung als Erreger der Seuche abermals festgestellt werden konnte, und dies um so mehr, als die hierbei zur Beobachtung gekommenen Krankheitsbilder und anatomischen Veränderungen sich vollkommen mit jenen deckten, die bei der Spontanerkrankung der Tiere festgestellt wurden.

Zu den Tierimpfungen (s. Tab. II) wurden durchwegs gleich dichte Aufschwemmungen 24-stündiger Agarkulturen in Bouillon verwendet. Kleine Meerschweinchen mit 1 ccm einer Bakterienaufschwemmung, von der Konzentration von 5 Normalösen in 5 ccm Bouillon, subkutan geimpft, erlagen der Infektion nach 7 Tagen. Die Sektion der Tiere ergab an der Impfstelle einen subkutanen Abszeß, im Dünndarm dünnflüssigen schleimigen, im Dickdarm dünnflüssigen hämorrhagischen Inhalt, submuköse Abszesse im Darmtrakt und einen Milztumor. Aus dem Blute, dem Gallenblaseninhalte und der Milz konnte *Micrococcus tetragenus* in Reinkultur gezüchtet werden. Die Ausstriche vom Abszeß-

inhalt, vom Nasen-Rachensekret¹⁾, Dünn- und Dickdarminhalt enthielten in großer Zahl den *Tetragenus*. 1 ccm derselben Bakterienaufschwemmung einem Meerschweinchen intraperitoneal einverleibt, tötete das Tier nach 3 Tagen. Bei Oeffnung der Kadaver fand sich eine schleimige Exsudation in die Peritonealhöhle, dünnflüssiger, hämorrhagischer, schleimiger Inhalt in Dünn- und Dickdarm und submuköse Abszesse im Dünndarm. Reinzüchtung des *Micrococcus tetragenus* gelang aus dem Blute, dem peritonealen Exsudat und der Milz. Auch hier fand sich in den Ausstrichpräparaten aus dem Peritonealexsudat einzig und allein *Micrococcus tetragenus*, im Dünn- und Dickdarminhalte, desgleichen im Nasensekret neben anderen Bakterien.

Wurde die Konzentration der Emulsion auf 10 Normalösen und 5 ccm Bouillon gesteigert, so verendeten die Versuchstiere bei subkutaner Impfung mit 1 ccm dieser Suspension nach 6 Tagen. Der Sektionsbefund und die bakteriologische Untersuchung ergaben das gleiche Resultat wie bei dem vorher angeführten subkutan geimpften Tier. Nach intraperitonealer Injektion von 1 ccm Aufschwemmung der Konzentration 10:5 erfolgte der Tod des Meerschweinchens nach 2 Tagen. Sektionsbefund: Im Abdomen reichlich schleimiges Exsudat, Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt, Milztumor. Reinkultur von *Micrococcus tetragenus* aus Blut, Milz und peritonealem Exsudat. Die Ausstriche aus dem peritonealen Exsudat und dem Dünn- und Dickdarminhalt ergaben dieselben Befunde wie bei den vorgenannten Tieren.

Aus dem Vergleich mit den im nachfolgenden wiedergegebenen Sektionsergebnissen bei den spontan erkrankten und verendeten Meerschweinchen ist im wesentlichen eine volle Uebereinstimmung der pathologischen Veränderungen zu erkennen. Besonders sei hervorgehoben, daß die Tetrakokken bei den subkutan oder intraperitoneal geimpften Tieren im Nasensekret in reichlicher Menge aufgefunden wurden, wohin sie wohl erst sekundär gelangt sein können. Es geht somit aus diesen Versuchen gleichzeitig hervor, daß eine Ausscheidung des Bakteriums in den Nasen-Rachenraum stattfindet, ein Umstand, der in epidemiologischer Beziehung von Bedeutung ist.

Weisse Mäuse, mit $\frac{1}{2}$ ccm einer Bakteriensuspension von 5 Normalösen in 5 ccm Bouillon subkutan infiziert, gingen nach 3 Tagen, intraperitoneal geimpft, nach 36 Stunden ein. $\frac{1}{2}$ ccm der stärkeren Konzentration (10 Oesen in 5 ccm Bouillon) tötete von der Bauchhöhle aus weisse Mäuse nach 30 Stunden.

Graue Mäuse, bei denen wir bis 20 Normalösen in 5 ccm Bouillon anstiegen, erlagen der Infektion bei intraperitonealer Impfung von $\frac{1}{2}$ ccm nach 48 Stunden, bei Einbringung der doppelten Menge schon nach 36 Stunden. Sektionsbefunde und bakteriologische Untersuchungsergebnisse deckten sich vollkommen mit jenen bei weissen Mäusen und Meerschweinchen.

Gegen gering konzentrierte Bakterienaufschwemmungen, wie 5 Normalösen in 5 ccm Bouillon, verhielten sich Kaninchen, denen 2 ccm in die Bauchhöhle injiziert wurden, refraktär; wurden hingegen Bakteriensuspensionen von 30 und 40 Normalösen in 5 ccm Bouillon verwendet und diese in Mengen von 3 und 4 ccm intraperitoneal injiziert, so gingen

1) Es sei bemerkt, daß bei Entnahme des Nasensekretes mit der Oese bis in den Pharynx eingegangen wurde.

die Kaninchen nach 48 Stunden ein. Sektionsbefunde und Kulturergebnisse waren wieder übereinstimmend mit jenen bei den vorgenannten Versuchstieren.

Endlich sei noch erwähnt, daß vereinzelt Versuche, durch Einträufelung geringer Mengen von Bakterienaufschwemmungen in die Nasenhöhle beim Meerschweinchen eine Infektion zu erreichen, ergebnislos verliefen.

Zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit und der Virulenzdauer des *Micrococcus tetragenus* (s. Tab. II) wurden Meerschweinchen und Mäuse und andere mit einer Aufschwemmung einer mehrere Wochen alten Agarkultur der 4. Generation geimpft. 3 Normalösen dieses Stammes in 5 ccm Bouillon aufgeschwemmt, wurden in der Menge von 1 ccm Meerschweinchen intraperitoneal eingebracht, worauf die Tiere nach 3 Tagen verendeten. Bei der Sektion fand sich an der Impfstelle ein Abszeß, Peritonitis mit serös-schleimiger Exsudation, im Dünn- und Dickdarm die charakteristischen katarrhalischen Erscheinungen. Aus der Milz, dem Peritonealexsudat und dem Herzblute ging der *Micrococcus tetragenus* in Reinkultur auf. Weiße Mäuse wurden mit $\frac{1}{2}$ ccm derselben Bakterienaufschwemmung subkutan geimpft. Die Tiere gingen nach 5 Tagen zugrunde. Ferner erwiesen sich zwei Stämme, die in gewöhnlicher Bouillon gut verschlossen bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, selbst noch nach Ablauf eines Jahres lebensfähig und entwickelten sich, auf Nähragar übertragen, zu kräftigen, schleimigen Kolonien. Zur Feststellung der Resistenz gegen die Einwirkung höherer Temperaturen wurde eingedickter Eiter, der aus vereiterten Lymphdrüsen stammte, und sich als besonders infektiös erwiesen hatte, mit Bouillon etwas verdünnt und durch 10 Minuten auf 60° C erwärmt. 1 ccm dieser Aufschwemmung wurde einem Meerschweinchen subkutan injiziert, das 12 Tage nach der Impfung einging. An der Injektionsstelle fand sich ein subkutaner Abszeß, Milztumor. Im Herzblute und Milz wurden durch Kultur reichlich Tetrakokken nachgewiesen. Endlich wurde Eiter derselben Provenienz im Verhältnis 1:4 mit Antiformin versetzt und nach 24 Stunden davon 1 ccm einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingebracht. Das Tier ging nach 20 Tagen zugrunde mit den Zeichen einer chronischen *Tetragenus*-Infektion.

Die Resistenz unseres Bakteriums gegen Austrocknung, Erwärmung, sowie gegen die Einwirkung von Antiformin ist somit eine relativ hohe. Die Pathogenität bleibt auch in alten Kulturen lange Zeit erhalten.

Die Mannigfaltigkeit der anatomischen Veränderungen bei den spontan erkrankten und verendeten Tieren, welche zum Teil von der Art und Weise der Verschleppung des Bakteriums im infizierten Organismus, zum Teil von dem Umstände abhängt, ob die Erkrankung einen akuten oder aber einen chronischen Verlauf annimmt, wurde zu Beginn dieser Mitteilungen bereits erwähnt. Unter den wohl am häufigsten wiederkehrenden Veränderungen sind jene hervorzuheben, welche den Darmtrakt betreffen, sei es daß diese (bei 15 Tieren) die hauptsächlichsten makroskopisch erkennbaren Veränderungen darstellten, sei es daß sie neben anderen für die *Tetragenus*-Infektion mehr oder weniger charakteristischen Organveränderungen auftraten. Der Sitz dieser Darmaffektion war vorzüglich das unterste Ileum und der obere Dickdarm. Zumeist war das Coecum, in geringerem Maße das Colon ascendens der Sitz der schwersten Veränderungen. Die befallenen Darmabschnitte

Tabelle I.
A. Spontan infizierte Meerschweinchen.

| Tier | Wichtigste Sektionsbefunde | Ausstriche | Kultur |
|---------------|---|---|---------------------------------------|
| I Weibchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | A. Spontan verendete Tiere. 1) Dünnd.: ziemlich reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. | |
| II Weibchen | Rechtes Uterushorn mit blutig-schleimigem Sekret | 1) Uterushorn i.: ausschließlich M. t. 2) Nase: reichlich M. t. + Bg. | R. Uterushorn: Reinkultur von M. t. |
| III Männchen | Peritonitis Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt Samenblasen groß und prall gefüllt | 1) Dickd.: reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: reichlich M. t. + Bg. 3) Peritonitis } ausschließlich und reichlich 4) Samenblase } M. t. | Blut: Reinkultur von M. t. |
| IV Weibchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit blutig-schleimigem Inhalt | 1) Dickd.: reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: wenig M. t. + Bg. 3) Magen: wenig M. t. + Bg. | |
| V Weibchen | Rechtes und linkes Uterushorn entzündlich verändert | 1) Dünnd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 3) Uterus: ausschließlich und reichlich M. t. 4) Nase: wenig M. t. + Bg. | Milz } Blut } Reinkultur von M. t. |
| VI Weibchen | Dickdarmkatarrh mit blutig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd.: reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 3) Nase: ziemlich reichlich M. t. + Bg. | |
| VII Weibchen | Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd.: reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 3) Nase: ziemlich reichlich M. t. + Bg. | |
| VIII Weibchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit schleimigem Inhalt | 1) Dünnd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: spärlich M. t. + Bg. 3) Nase: spärlich M. t. + Bg. | |
| IX Männchen | Beiderseitig fibrinöse-itrige Pleuritis Lobulärpneumonie Fibrinöse-itrige Pericarditis | 1) Pleuritis } ausschließlich und reichlich 2) Pneumonie } M. t. 3) Nase: reichlich M. t. + Bg. | Blut } Milz } Reinkultur von M. t. |

1) Dünnd. = Dünndarm; 2) M. t. = *Micrococcus tetragenus*; 3) Bg. = Bakterienmenge; 4) Dickd. = Dickdarm.

| Tier | Wichtigste Sektionsbefunde | Ausstriche | Kultur |
|------------------|--|--|---|
| X Weibchen | Fibrinös-eitrige Pleuritis } beiderseits Pneumonie Fibrinös-eitrige Pericarditis Subphrenischer Abszeß links Multiple Leberabszesse Hämorrhagische Cystitis Dünn- u. Dickdarmkatarrh m. blutig-schleim. Inhalt | 1) Dünnd. } sehr reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd. } 3) Pneumonie } ausschließlich und reichlich 4) Pleuritis } M. t. 5) Leberabszeß } 6) Blaseninhalt } | Pleura } Reinkultur von Lunge } M. t. Milz } Leberabszeß } Blaseninhalt } |
| XI Männchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd. } reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd. } 3) Magen } reichlich M. t. + Bg. 4) Nase } | |
| XII Weibchen | Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd.: spärlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: zahlreich M. t. + Bg. 3) Nase: vereinzelt M. t. + Bg. | |
| XIII Männchen | Fibrinös-eitrige Pleuritis Fibrinös-eitrige Pericarditis Multiple Abszesse in der Dünn- und Dickdarmwand Dünn- und Dickdarmkatarrh | 1) Dünnd. } sehr reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd. } 3) Magen: mäßig viel M. t. + Bg. 4) Pleuritis } ausschließlich u. reich- 5) Darmwandabszeß } lich M. t. 6) Nase: reichlich M. t. + Bg. | Nase: M. t. + Staphylokokk. |
| XIV Männchen | Dickdarmkatarrh mit blutig-schleimigem Inhalt | 1) Dickd.: reichlich M. t. + Bg. 2) Nase: reichlich M. t. + Bg. | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } |
| XV Männchen | Katarrh im oberen Dickdarm mit blutig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 2) Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 3) Magen: ziemlich reichlich M. t. + Bg. | Blut: Reinkultur von M. t. |
| XVI Weibchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt Hyperämie des rechten Uterushornes | 1) Dünnd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 2) Oberer Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. 3) R. Uterushorn: ausschließl. u. reichl. M. t. | |
| XVII Männchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit blutig-schleimigem Inhalt, speziell im Dünn darm Fibrinös-eitrige Peritonitis Hämorrhagische Cystitis | 1) Nase: spärlich M. t. + Bg. 2) Dünnd. } ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 3) Dickd. } 4) Peritonitis } ausschließl. u. reichl. M. t. 5) Blaseninhalt } | Blut } Reinkultur von Blaseninhalt } M. t. Gallenblase } Peritonitis } |

Fibrinöse-eitrige Peritonitis hämorrhagische Cynitis } Dickd. } ziemlich zahlreichen M. t. + Bg. } Gallenblase } M. t.
 hämorrhagisch } ausschließl. u. reichl. M. t. } Peritonitis }

| Tier | Wichtigste Sektionsbefunde | Ausstriche | Kultur |
|-------------------|--|--|---|
| XVIII Weibchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit breit-schleimigem Inhalt Leberabszeß | 1) Nase: ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 2) Bronchus: vereinzelt M. t. + Bg. 3) Obere Trachea: zahlreich M. t. + Bg. 4) Magen: vereinzelt M. t. + Bg. 5) Dünnd.: reichlich M. t. + Bg. 6) Oberer Dickd.: reichlich M. t. + Bg. | Milz } Reinkultur von M. t. Blut } |
| XIX Männchen | Dünn- u. Dickdarm m. dünnflüssig-schleimigem Inhalt Submuköse Abszesse im oberen Dickdarm Leberabszeß | 1) Nase: spärlich M. t. + Bg. 2) Dünnd.: ziemlich reichlich M. t. + Bg. 3) Leberabszeß: ausschließlich u. reichlich M. t. | Milz } Reinkultur von M. t. Blut } |
| XX Weibchen | Dünn- u. Dickdarmkatarrh mit schleimigem Inhalt Durchblutete, vergrößerte Lymphdrüse | 1) Nase: ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 2) Dünndarm } spärlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickdarm } 4) Lymphdrüse: ausschließl. u. reichl. M. t. | Milz } Reinkultur von M. t. Blut } |
| XXI Weibchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt Pleuritis Pneumonie Peritonitis mit serös-schleimigem Exsudat | 1) Nase: reichlich M. t. + Bg. 2) Pleuritis } ausschließlich u. reichlich M. t. 3) Lunge } 4) Peritonitis } 5) Dünnd. } ziemlich zahlreich M. t. 6) Oberer Dickd. } Unterer Dickd. } | Blut } Reinkultur von M. t. Pericarditis } |
| XXII Weibchen | Dünn- u. Dickdarmkatarrh m. dünnfl.-schleim. Inhalt Pneumonie mit Lungenabszeß Serös-hämorrhagische Pericarditis | 1) Nase: ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 2) Pericarditis: ausschließl. u. reichlich M. t. | Blut } Reinkultur von M. t. Pericarditis } |
| XXIII Weibchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Nase: ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 2) Dünnd. } reichlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickd. } | Blut: Reinkultur von M. t. |
| XXIV Weibchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd. } spärlich M. t. + Bg. 2) Oberer Dickd. } | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } |
| XXV Weibchen | Dünndarmkatarrh mit schleimig-hämorrhagischem Inhalt Pleuritis Pneumonie Serös-hämorrhagische Pericarditis | 1) Nase: reichlich M. t. + Bg. 2) Pleuritis } ausschließlich u. reichl. M. t. 3) Pneumonie } 4) Magen: spärlich M. t. + Bg. 5) Dünnd.: zahlreich M. t. + Bg. 6) Pericarditis: ausschließlich u. reichlich M. t. | Pericarditiseksudat: Reinkultur von M. t. |

| Tier | Wichtigste Sektionsbefunde | Austriche | Kultur |
|--------------------|---|--|---|
| XXVI Weibchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh des oberen Dickdarmes mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Nase: reichlich M. t. + Bg. 2) Dünnd. } reichlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickd. } | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } |
| XXVII Weibchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt Gravider Uterus mit schleimigem Sekret | 1) Nase: spärlich M. t. + Bg. 2) Dünnd.: spärlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickd.: reichlich M. t. + Bg. 4) Uterus: ausschließlich und reichlich M. t. | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } Uterus } |
| XXVIII Männchen | Sepsis mit einem kleinen gramnegativen Bacillus | Nase: reichlich M. t. + Bg. | Blut: gramnegat. Kurzstäbchen |
| XXIX Männchen | Sepsis mit einem kleinen gramnegativen Bacillus | Nase: reichlich M. t. + Bg. | Blut: gramnegat. Kurzstäbchen |
| XXX Weibchen | Dünn- und Dickdarmkatarrh mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt Rechtes Uterushorn: Schleimhaut hyperämisch und ödematös | 1) Nase: reichlich M. t. + Bg. 2) Dünnd.: reichlich M. t. + Bg. 3) Dickd.: spärlich M. t. + Bg. 4) Uterus: ausschließlich und reichlich M. t. | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } Uterus } |
| XXXI Männchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt Beiderseitige Pleuritis Beiderseitige Lungenabszesse Submuköse Abszesse des Dünn- und Dickdarmes Eitrige Orchitis | 1) Nase: ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 2) Dünnd.: reichlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickd.: vereinzelt M. t. + Bg. 4) Pleuritis } ausschließlich u. reichlich M. t. 5) Orchitis } | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } |
| XXXII Männchen | Katarrh im oberen Dickdarm Submuköse Abszesse im oberen Dickdarm | 1) Nase: ziemlich reichlich M. t. + Bg. 2) Dünnd.: spärlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickd.: sehr reichlich M. t. + Bg. | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } |
| XXXIII Männchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Nase: ziemlich zahlreich M. t. + Bg. 2) Dünnd. } spärlich M. t. + Bg. 3) Oberer Dickd. } | Blut } Reinkultur von M. t. Milz } |
| XXXIV Weibchen | Hämorrhagisch-fibrinöse Pleuritis Hämorrhagisch-fibrinöse Pericarditis Beiderseitige Pneumonie Nierenabszeß links Halslymphdrüsen vergrößert | 1) Nase: reichlich M. t. + Bg. 2) Pleuritis: reichlich M. t. + Pneumokokken 3) Nierenabszeß } ausschließlich und reich- 4) Halslymphdrüse } lich M. t. | Milz } Reinkultur von Halsdrüsen } M. t. |

| | | | Blut Milz Peritonitis | Reinkultur von M. t. |
|---------------------|--|---|--|-------------------------|
| XXXV Männchen | Peritonitis mit schleimig-eitrigem Exsudat Nierenabszeß Halslymphdrüse taubeneigröß Intramuskulärer Bauchdeckenabszeß } mit käsig-eitrigem Inhalt Retroperitoneale Drüse taubeneigröß | 1) Nase: ziemlich reichlich M. t. + Bg. 2) Peritonitis } ausschließlic 3) Retroperitoneale Drüse } reichlich M. t. 4) Bauchdeckenabszeß } 5) Nierenabszeß } | | |
| XXXVI Männchen | Dünndarmkatarrh und Katarrh im oberen Dickdarm mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Dünnd. } reichlich M. t. + Bg. 2) ob. Dickd. } | | |
| XXXVII Männchen | Rechter Hoden teilweise vereitert, haselnußgroß Samenblasen beiderseits entzündlich verändert mit stechnadelkopfgroßen Eiterherden Cystitis Untere retroperitoneale Lymphdrüse vereitert, kastaniengroß Inguinale Lymphdrüsen erbsengroß, rechts < links | 1) Samenblase } ausschließlic 2) Hoden } reichlich M. t. 3) Retroperit. Drüse } 4) Blase: reichlich M. t. + spärlich andere 5) Urethra: reichlich M. t. + spärlich andere 6) Bakterienflora 7) Bakterienflora | | |
| XXXVIII Männchen | Leberabszeß Myokard: 2 linsen- bis hirsekorngroße intramuskuläre Abszesse Linke Cervicallymphdrüse kastanien- bis bohnengröß Linke supraclaviculare Lymphdrüse mit eitrig-käsigem Inhalt haselnußgroß, mit Muskulatur verwachsen L. axillare Lymphdrüse bohnengröß In der abdominalen Muskulatur ein erbsen- bis haselnußgroße Neben der Wirbelsäule in der Höhe der rechten Niere ein Abszesse | Im Inhalt der Abszesse u. der ver- kästen Lymph- drüsen | | |
| XXXIX Männchen | Haselnußgroße Halslymphdrüse Fibrinöse-eitrige Pericarditis Fibrinöse-eitrige Pleuritis | 1) Halslymphdrüse: ausschließlich und reichlich M. t. 2) Pleuritis } Diplococcus pneumoniae 3) Pericarditis } | Lymphdrüse: Reinkultur von M. t. Milz: Pneumokokken | |
| XL Männchen | Taubeneigröße, verkäste Halslymphdrüse Fibrinöse-eitrige Pleuritis Pneumonie | 1) Nase: spärlich M. t. + Bg. 2) Halslymphdrüse } ausschließlic 3) Pleuritis } reichlich M. t. 4) Pneumonie } | Milz } Reinkultur von M. t. Pleuritis } | |
| XLI Männchen | Multiple bis haselnußgroße Leberabszesse | Leberabszeß: ausschließlich u. reichlich M. t. | Blut } Reinkultur von Leberabszeß } M. t. | |

| Tier | Wichtigste Sektionsbefunde | Ausstriche | Kultur |
|-----------------------------------|--|---|-------------------------|
| Weibliches Meerschweinchen No. 78 | B. Getötete Tiere mit Lymphdrüsenanschwellungen. 2 taubeneigroße, verkäste Halslymphdrüsen Sont ohne wesentliche Veränderungen | Halsdrüse: ausschließlich M. t. Tuberkelbacillenfärbung: negativ | Blut } steril Milz } |
| Weibliches Meerschweinchen No. 98 | 3 haselnußgroße, verkäste Halslymphdrüsen, nebst bohnen- und erbsengroßen subkulenten Lymphdrüsen | Halsdrüsen: reichlich M. t. und Bakterien vom Typus des Pseudodiphtheriebacillus Nase: keine M. t. | Blut } steril Milz } |

Tabelle II.

Experimentell infizierte Tiere.

| Tier | Impfstelle | Dosis in ccm | Ein- gegangen nach | Wichtigste Sektionsbefunde | Ausstriche | Kultur |
|--|----------------------|--------------|--------------------------|--|---|--|
| A. Stamm 27, II. Generation (5 Normalösen in 5 ccm Bouillon). | | | | | | |
| Meerschw. 8 | subkutan | 1 | 7 Tagen | Subkutane Abszesse an der Impfstelle Dünn.: dünnfl.-schleimiger Inhalt Dickd.: dünnfl.-schleimiger Inhalt Submuköse Abszesse im Dünn- u. 4) ob. Dickd.: sehr reichlich M. t. Dickd. Milztumor | Subkut. Abszeß: ausschl. M. t. Nase: reichlich M. t. Dünn.: sehr reichlich M. t. Dünn.: sehr reichlich M. t. ob. Dickd.: sehr reichlich M. t. | Blut } Reinkultur Milz } Gallenblase } Peritoneum } |
| Meerschw. 85 | intra- peritoneal | 1 | 3 Tagen | Schleimiges Exsudat im Peritoneum Dünn. } dünnfl.-häorrhagischer, ob. Dickd. } schleimiger Inhalt Submuköse Abszesse im Dünn. | 1) Nase: spärlich M. t. 2) Peritoneum: ausschließlich M. t. 3) Dünn.: sehr reichlich M. t. + Bg. 4) Dickd.: spärlich M. t. + Bg. | Blut } Reinkultur Milz } Peritoneum } |
| Weißer Maus | subkutan | 1/2 | 72 Std. | Subkutaner Abszeß Sont keine wesentl. Veränderungen | 1) Nase } kein M. t. 2) Peritoneum } | Blut } Reinkultur Peritoneum } |
| Weißer Maus | intra- peritoneal | 1/2 | 36 Std. | Im Peritoneum schleimiges Exsudat Dünn.: schleimiger Inhalt | 1) Nase: keine M. t. 2) Peritoneum: ausschließlich M. t. | Blut } Reinkultur Peritoneum } |
| Kaninchen | intra- peritoneal | 2 | 14 Tagen | Keine wesentlichen Veränderungen | — | Blut: steril |

| Kaninchen | | 2 | | 14 Tagen | | Keine wesentlichen Veränderungen | | Blut: steril | |
|--|----------------------|--------------|--------------------------|--|---|--|--|--------------|--|
| Tier | Impfstelle | Dosis in ccm | Ein- gegangen nach | Wichtigste Sektionsbefunde | Anstriche | Kultur | | | |
| B. Stamm 24, II. Generation (20 Normalböden in 5 ccm Peptonwasser). | | | | | | | | | |
| Graue Maus | intra- peritoneal | 1/2 | 48 Stdn. | Im Peritoneum schleimiges Exsudat | Im Peritoneum ausschließlich M. t. | Blut: Reinkultur | | | |
| Graue Maus | intra- peritoneal | 1 | 36 Stdn. | Im Peritoneum schleimiges Exsudat | Im Peritoneum ausschließlich M. t. | Blut: Reinkultur Milz | | | |
| C. Stamm 26, II. Generation (10 Normalböden in 5 ccm Bouillon). | | | | | | | | | |
| Meerschw. 34 | subkutan | 1 | 6 Tagen | Enteritis; Dünnd. und Dickd. mit: 1) dünnflüssig-schleimigem Inhalt Subkutane Abszesse an der Impfstelle | 1) Nase: zieml. zahlr. M. t. + Bg. 2) Subkut. Abszeß: ausschl. M. t. 3) Dünnd.: reichlich M. t. + Bg. 4) Dickd.: reichlich M. t. + Bg. | Blut } Reinkultur Milz } Peritoneum: vereinzelte Kolonien von M. t. | | | |
| Meerschw. 89 | intra- peritoneal | 1 | 50 Stdn. | Subkutane Abszesse an der Impfstelle Im Abdomen reichlich schleimiges Exsudat Enteritis; Dünnd. und Dickd. ob. dünnflüssig-schleimiger Inhalt Milztumor | 1) Nase: spärlich M. t. + Bg. 2) Subkut. Abszeß: ausschl. M. t. 3) Peritoneum: ausschließlich M. t. 4) Dünnd. } reichlich M. t. + Bg. 5) Dickd. } | Blut } Milz } Reinkultur Peritoneum } | | | |
| Weißer Maus | intra- peritoneal | 1/2 | 30 Std. | Im Abdomen reichlich schleimiges Exsudat | Peritoneum: ausschließlich M. t. | Blut } Peritoneum } Reinkultur | | | |
| Weißer Maus | intra- peritoneal | 1/2 | 30 Std. | Im Abdomen reichlich schleimiges Exsudat | Peritoneum: ausschließlich M. t. | Blut } Peritoneum } Reinkultur | | | |
| D. Stamm 17, IV. Generation (3 Normalböden in 5 ccm Bouillon). | | | | | | | | | |
| Meerschw. 61 | intra- peritoneal | 1 | 3 Tagen | Abszeß an der Impfstelle Im Abdomen schleimiges Exsudat Enteritis; Dünnd. und ob. Dickd. mit dünnflüssig-schleimigem Inhalt | 1) Abszeß } 2) Peritoneum } ausschließlich M. t. 3) Dünnd. } sehr reichlich M. t. 4) ob. Dickd. } + Bg. | Blut } Milz } Reinkultur Peritoneum } | | | |
| Weißer Maus | subkutan | 1/2 | 5 Tagen | Subkutaner Abszeß an der Impfstelle Milzabszesse | 1) Abszeß: ausschließlich M. t. 2) Dünnd.: spärlich M. t. + Bg. 3) Milz: ausschließlich M. t. | Blut: Reinkultur | | | |

waren aufgebläht, der Serosaüberzug des Dünndarms stark injiziert, die Schleimhaut in Dünn- und Dickdarm aufgelockert, hyperämisch und der Inhalt dieser Darmpartien dünnflüssig, schleimig und häufig von blutiger Beschaffenheit. Magen, Jejunum und oberes Ileum waren zumeist frei von Veränderungen oder in vereinzelt Fällen nur in ganz untergeordneter Weise von solchen betroffen. Die unteren Partien des Dickdarms, sowie das Rectum zeigten ebenfalls keine mit freiem Auge erkennbare Läsionen, sie waren leer und kontrahiert. Die Intensität der Veränderungen war bei den einzelnen Tieren eine verschiedene.

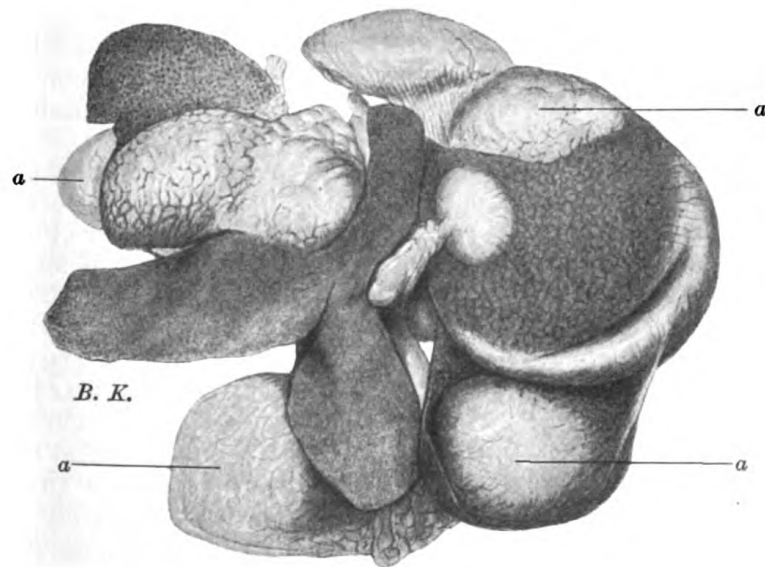
Von Interesse dürfte es sein, an dieser Stelle einen Ueberblick über die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen des Verdauungsapparates zu geben. Zunächst muß hervorgehoben werden, daß wohl in allen Fällen von Spontaninfektion (und ebenso auch bei künstlich infizierten Tieren) der Tetracoccus, und zwar zumeist in reichlicher Menge, im Sekret des Nasen-Rachenraumes nachgewiesen werden konnte. Im Mageninhalt und den oberen Dünndarmabschnitten waren die Tetrakokken zumeist nur in spärlicher Zahl, mitunter auch gar nicht nachzuweisen. Hingegen fanden sie sich bei Tieren mit den geschilderten Darmprozessen stets in ungeheurer Menge im untersten Dünndarm und im erkrankten Colon, wobei in letzterem Abschnitt die übrige Darmflora mehr oder weniger verdrängt erschien. Die tieferen, nicht erkrankten Dickdarmpartien, sowie das Rectum enthielten wiederum in ganz auffälliger Weise wenig Tetrakokken, und diese spärlichen Kokken boten im Ausstrichpräparat die Zeichen starker Degeneration. Fügen wir noch, dem Gang der Auseinandersetzungen vorgreifend, hinzu, daß die Darmwand selbst im Bereich der schwersten anatomischen Veränderungen im untersten Ileum und oberen Dickdarm von Tetrakokken in überreichlichem Maße durchsetzt war, so drängt sich wohl von selbst der Schluß auf, daß die Infektion der genannten Darmabschnitte auf hämatogenem Wege stattfindet und das Verschlucken der Kokken mit abfließendem Nasensekret keine nennenswerte Rolle bei der Darminfektion spielen dürfte. Aus dem Herzblut und der Milz solcher Tiere konnte ja stets der *Micrococcus tetragenus* reingezüchtet werden.

In weiteren 8 Fällen ergab die Sektion der Tiere Erkrankungen der Brusteingeweide, und zwar in 4 Fällen ausschließlich nur konfluierende Lobulärpneumonie mit fibrinös-eitriger Pleuritis und serös-hämorrhagischer Pericarditis, darunter einmal mit Abszedierung in den Lungen, in 4 weiteren Fällen analoge Veränderungen neben anderweitigen Organerkrankungen infolge der *Tetragenus*-Infektion.

Nicht unerwähnt seien noch neben Lymphdrüenschwellungen, die sich bei den akuten Darmprozessen namentlich auf die mesenterialen Drüsen erstreckten, und unbedeutender Schwellung der Milz die degenerativen Veränderungen der Leber und Nieren im Sinne parenchymatöser und fettiger Degeneration sowohl in akuten als auch in chronischen Fällen.

Als seltenere Lokalisationen der Infektion seien folgende Beobachtungen angeführt. Bei einem Tier (Fall 21, Weibchen) kam es ausschließlich zu Erkrankung der serösen Häute, ausgenommen des Pericards, und zwar unter reichlicher Exsudatbildung, somit zu einer Krankheitsform, die als Polyserositis bezeichnet werden könnte. Bei 4 weiblichen Tieren fanden sich akut entzündliche Veränderungen der Uterushörner. Die Schleimhaut war stark geschwellt, hyperämisch, das Cavum uteri infolge Ansammlung reichlicher Mengen eines schleimig-eitrigen, kokkenreichen Exsudates stark erweitert. Ebenso konnte auch gelegentlich bei männ-

lichen Tieren ein Mitergriffensein der Genitaldrüsen beobachtet werden. So waren bei Tier 3 neben einer Peritonitis und der früher geschilderten Darminfektion beide Samenblasen erkrankt, ohne daß die übrigen Teile des uropoetischen Systems ergriffen gewesen wären. Andererseits bestand in Fall 30 eine isolierte eitrige Orchitis, während sich bei einem dritten Tier (Meerschweinchen 36) das gesamte Genitale mit *Micrococcus tetragenus* infiziert erwies. Beide Samenblasen waren entzündlich verändert, die Wand mit stecknadelkopfgroßen Eiterherden durchsetzt, überdies der rechte Hoden teilweise verkäst, desgleichen die Harnblasenschleimhaut im Zustande akuter Entzündung. Hämorrhagische Cystitiden ließen sich noch bei zwei weiteren Tieren nachweisen, so bei Tier 10 neben multiplen Leberabszessen und einem subphrenischen Abszeß in



Leber mit multiplen Abszessen. a = Abszesse.

Verbindung mit einer fibrinös-eitrigen Pleuritis und Pneumonie. Bei Tier 17 sei neben der hämorrhagischen Cystitis der kulturelle Nachweis von *Micrococcus tetragenus* in der Gallenblase hervorgehoben. Peritonitiden waren mit Rücksicht auf die Darmbefunde relativ selten anzutreffen. Endlich kamen noch in 3 Fällen Darmwandabszesse, in 5 Fällen Leberabszesse, 2mal Nierenabszesse und in einem einzigen Falle ein Herzwandabszeß zur Beobachtung.

Im Gegensatz zu diesen durchweg akuten Veränderungen kann als Charakteristikum der unter einem chronisch verlaufenden Erkrankungstypus verendeten Tiere eine bald isolierte, bald generalisierte Lymphdrüsenkrankung bezeichnet werden. Waren zu Beginn der Erkrankung nur einzelne Drüsen oder Drüsengruppen, zumeist die Halslymphdrüsen, leicht vergrößert, und wuchsen diese in späteren Stadien bis zu Haselnuß- oder selbst Kastaniengröße heran, so erkrankten in der Folge auch die übrigen, die retroperitonealen, inguinalen, supraclavicularen und retrosternalen Lymphdrüsen in gleicher Weise; dazu gesellte sich endlich in einzelnen Fällen umfängliche Abszeßbildung im Unterhautzellgewebe, der Skelettmuskulatur oder im Hoden, den Nieren, Samenblasen, der Harnblase, Leber (vide Textfig.) und einmal im Periost und Knochen, wobei

der Abszeßinhalt in gleicher Weise wie die Lymphdrüsen eine eigentümlich trockene, an verkäste tuberkulöse Drüsen erinnernde Beschaffenheit zeigte¹⁾.

Nachdem die Entwicklung dieser Prozesse durch Wochen hindurch verfolgt werden konnte, gingen einzelne der Tiere plötzlich ein, wobei neben diesen Zeichen chronischer Infektion auch solche einer akuten Erkrankung im früher geschilderten Sinne zu erkennen waren. Offenbar kam es in solchen Fällen zum Einbruch alter Eiterherde in die Blutbahn und damit erst in einem späteren Stadium der Infektion zur Propagation des Bakteriums im gesamten tierischen Organismus.

Zur histologischen Untersuchung wurden nahezu von allen Tieren jene Organe, die irgendwelche anatomische Veränderungen aufwiesen, in vielen Fällen aber auch solche Organe, die makroskopisch wenigstens nicht wesentlich verändert schienen, verwendet. Die Gewebe wurden in möglichst frischem Zustande eingelegt, so daß eine Verwechslung gewisser, später zu erörternder histologischer Befunde mit postmortalen Veränderungen ausgeschlossen werden kann. Die Untersuchungen erstreckten sich nicht nur auf die spontan zugrunde gegangenen Meerschweinchen, sondern auch auf die absichtlich infizierten Experimentaltiere. Die Organe wurden zum Teil in Müller-Formol, zum Teil in Formol-Alkohol fixiert und mit Ausnahme der Knochenschnitte in Paraffin eingebettet. Der in allen Fällen ausgeführten Hämalaun-Eosinfärbung wurden wiederholt spezifische Färbungen, wie Färbung nach van Gieson, Mallory, Elasticafärbung nach Weigert, spezifische Schleim- und Fibrinfärbung, endlich Gram-Weigert-Methylenblaufärbung und Färbung auf Kapseln im Schnitt angeschlossen. Als eine sehr bedeutende Vereinfachung des Bakteriennachweises in Schnitten muß es bezeichnet werden, daß sich der *Micrococcus tetragenus* mit Hämalaun deutlich färbt, ja oftmals viel intensiver gefärbt erscheint als einzelne Zellkerne, welcher Umstand allerdings in einer Reihe der Fälle eine Vernachlässigung der Gram-Weigert-Färbung nicht hätte rechtfertigen können. Einen weiteren Anhaltspunkt für die Erkennung des *Micrococcus tetragenus* im Gewebe bietet auch folgendes eigentümliche Verhalten, welches gleich an dieser Stelle hervorgehoben werden soll. Trifft man nämlich Bakterien in einzelnen Gruppen von 2 oder 4 Individuen in noch nicht sehr stark destruierten Gewebepartien, so werden solche Gruppen stets von einem hellen, gänzlich ungefärbten, längsovalen Hof eingeschlossen, der sich von dem umliegenden Gewebe scharf abgrenzt. Das gleiche findet man auch, wenn Kokken innerhalb von Phagocyten oder fixen Gewebszellen eingeschlossen liegen, nur erscheint hier der Hof für gewöhnlich nicht so hell und vom Zellplasma nicht so scharf abgegrenzt. Obzwar eine Tinktion dieser Höfe in Schnittpräparaten mittels spezifischer Kapselfärbungen nicht zu erreichen war, ist doch kaum zu zweifeln, daß diese stets wiederkehrenden, regelmäßigen und gut abgegrenzten Höfe den mächtigen Bakterienkapseln

1) Obwohl morphologisch wie kulturell im eingedickten, käseähnlichen Drüsen- und Abszeßinhalt stets Tetrakokken nachgewiesen werden konnten, wurden dennoch, um eine Verwechslung mit einer tuberkulösen oder pseudotuberkulösen Infektion der Tiere sicher ausschließen zu können, Deckglaspräparate nach der Weichselbaum'schen Tuberkelbacillenfärbung und der Methode von Much gefärbt, sowie mit Antiformin behandeltes Material zur Färbung und Tierimpfungen verwendet. Diese Kontrolluntersuchungen ergaben jedoch durchweg bezüglich einer Tuberkuloseinfektion ein negatives Resultat.

entsprechen, welche in Deckglausstrichpräparaten aus dem Tier konstant anzutreffen waren. Die in den Erkrankungsherden stets reichlich vorhandenen Kokken waren zum Teil unregelmäßig im Gewebe zerstreut, zum Teil innerhalb von Rundzellen verschiedener Art eingeschlossen, und zwar hatte es den Anschein, wie wenn die intracelluläre Lagerung der Bakterien mit zunehmender Dauer des Krankheitsprozesses eine wesentlich reichere würde. Infolge der reichlichen Hüllenbildung erhielten solche mit Kokken erfüllte Zellen ein geblähtes Aussehen, das Protoplasma war nahezu vollkommen verdrängt, der Kern unregelmäßig gelagert. kurz es entstanden Bilder, die ganz ungemein an die Mikulicz'schen Zellen bei Rhinosklerom erinnerten. Erwähnt sei, daß die im nachfolgenden geschilderten histologischen Veränderungen der einzelnen Organe in gleicher Weise bei den spontan erkrankten wie bei den künstlich infizierten Tieren zu beobachten waren und daß zwischen diesen beiden Tiergruppen nur graduelle Unterschiede in der Ausbildung der pathologischen Vorgänge bestanden.

Die Veränderungen innerhalb des Darmtraktes, die auch bei den Experimentaltieren zu den konstantesten Befunden zählten, betreffen in hervorragendem Maße die lymphoiden Elemente der Schleimhaut, sei es daß hiermit die Follikel oder die lymphatischen diffusen Einlagerungen in der Schleimhaut gemeint sind. Diese weisen in allen Fällen und oftmals sogar die tiefgreifendsten Veränderungen auf. Wir meinen nicht fehlzugehen, wenn wir vermuten, daß jene Vorliebe des *Micr. tetragenus*, das unterste Ileum und das Coecum aufzusuchen, in dem Reichtum der genannten Darmabschnitte an lymphatischem Gewebe ihre Erklärung findet. Die Schleimhaut des Magens enthielt nur äußerst selten kleine Anhäufungen von Bakterien, war aber sonst beinahe unverändert und zeigte niemals jene schweren Veränderungen, wie sie im untersten Dünndarm und obersten Dickdarm angetroffen werden. Dasselbe gilt für die unteren Teile des Dickdarms und des Rectums, die nur in ganz spärlichen Fällen und hier meistens bei experimentell infizierten Meerschweinchen, die eigentlich die akutesten Infektionen repräsentierten, einige Kokkenhaufen in der Tunica propria aufwiesen, bei sonst nahezu völlig intakter Mucosa. Diese histologischen Ergebnisse decken sich völlig mit den makroskopischen Befunden und den bakteriologischen Untersuchungsergebnissen. War der Prozeß innerhalb der Follikel noch wenig vorgeschritten, so waren an ihnen makroskopisch noch keine abnormen Befunde zu erheben und sie zeigten außer vereinzelt Bakterien histologisch keine Veränderungen. Hatte der Prozeß schon einen etwas höheren Grad erreicht, so erschienen die Follikel schon für das freie Auge vergrößert und man konnte histologisch nur mehr die äußerste Begrenzung vorfinden; entsprechend dem Keimzentrum sah man ein zartes, unregelmäßiges Netzwerk oder parallel verlaufende Stränge, zwischen welchen reichlich Mikrokokken eingestreut waren. Bei spezifischer Bindegewebsfärbung sowie bei Schleim- oder Fibrinfärbung blieb dieses Netzwerk ungefärbt. War der Prozeß innerhalb der Follikel schließlich noch weiter fortgeschritten, so daß sie gänzlich von den pathologischen Vorgängen in Mitleidenschaft gezogen waren, dann fiel es noch leichter, solche Veränderungen mit unbewaffnetem Auge zu erkennen. Sie imponierten noch bei uneröffnetem Darm wie ungefähr stecknadelkopfgroße, weißliche, durch die Serosa deutlich durchschimmernde und diese teilweise vorwölbende Abszesse, was auch die histologische Untersuchung bestätigte. Auch von der Schleimhautseite aus waren sie leicht

auffindbar. Gelingt es, den untersten Dünndarm oder den sich daran schließenden Dickdarm in einem Frühstadium der Infektion zur Untersuchung zu bekommen oder handelt es sich um Meerschweinchen, bei welchen die Erkrankung einen chronischen Verlauf angenommen hat, so stößt man nicht selten in den histologischen Schnitten des Darmes auf noch nahezu völlig unveränderte Schleimhaut, in der sich nur hier oder dort kleine Ansammlungen von Mikrokokken auffinden lassen. Die Bakterien sind hierbei derart angeordnet, daß immer je 2 oder 4 beieinanderliegende Individuen in gleichen Abständen voneinander angeordnet sind, ebenso wie auch solche Kokkenhaufen von dem umgebenden Gewebe stets durch einen hellen regelmäßigen Saum getrennt werden. Man gewinnt den Eindruck, als ob diese Bakterien in eine Lücke des Gewebes eingestreut wären. In der Umgebung ist keine oder zum mindesten keine schwere Zellvermehrung als Zeichen einer entzündlichen Reaktion bemerkbar. In anderen Fällen vermißt man auch derartige Bakterienhäufchen in der Schleimhaut, findet dann aber Mikrokokkenpaare innerhalb des mesenterialen Fettgewebes entweder diffus in den Lücken des Fettgewebes verteilt oder in rundlichen, zweifellos präformierten Räumen, die einige Male von Endothel ausgekleidet waren, also Lymphgefäße vorstellen dürften. Sonst ist aber auch in derartigen Gewebspartieen die entzündliche Reaktion oftmals ausschließlich auf eine mäßige Leukocytose innerhalb der Gefäße beschränkt. Ist der Prozeß weiter fortgeschritten, so wiederholt sich dasselbe Bild, aber in verstärktem Maße. Dann sieht man reichlichere Ansammlungen von Bakterien nicht nur in der Schleimhaut, in der vor allem die Darmzotten des Dünndarms befallen sind, sondern auch zwischen Muscularis mucosae und Muskulatur, in den Saftspalten der äußeren Muskulatur und im Bereiche des Peritoneums, das von fibrinös-eitrigem Exsudat bedeckt und dessen Endothel zum Teil blasig aufgequollen, zum Teil zugrunde gegangen ist. Ein derartiges Stadium ist zur Abbildung gebracht worden (s. Taf. I, Fig. 1). Wir haben Dünndarm mit dem mesenterialen Fettgewebe vor uns. Die einzelnen Zotten und die übrigen Teile der Schleimhaut sind noch gut erkennbar. In den zentralen Partieen der Zotten finden sich große, mehr oder minder unregelmäßige Räume, die zum größten Teil von Kokken, sowie von spärlichen Rundzellen mit unregelmäßigen oder auch mehreren Kernen erfüllt sind, außerdem noch einzelne, sehr blaß gefärbte Balken, die offenbar den Gewebsresten der Tunica propria entsprechen. Ein Streifen derselben ist noch vorhanden, dann folgen wieder vereinzelt Hohlräume mit Mikrokokken, die das Epithel wegzudrängen scheinen.

Das Epithel selbst enthält auch schon stellenweise Bakterien, erscheint aber im allgemeinen wenig beeinflusst. In gleicher Weise trifft man mit Kokken erfüllte Lücken zwischen der Muscularis mucosae und der Ringmuskulatur. Die beiden Schleimhautschichten erscheinen einandergedrängt. An Stellen, welche wohl nicht in der Abbildung wiedergegeben sind, trifft man abermals auf rundliche oder längliche, mit Kokken erfüllte Räume zwischen Quer- und Längsmuskelschicht, die erweiterten Lymphkapillaren entsprechen dürften. Im Fettgewebe bemerkt man zwei rundliche, von Mikrokokken und zarten, rosa gefärbten, unregelmäßigen Massen erfüllte Hohlräume, vermutlich abermals zwei mit Kokken vollkommen erfüllte und stark erweiterte Lymphgefäße; ein Endothel konnte in denselben nicht mehr gefunden werden. Im übrigen Fettgewebe war innerhalb der Gefäße die Zahl der Leukocyten vermehrt, im Darmlumen selbst waren zahlreiche Tetrakokken auffindbar.

Infiltrate fehlten durchweg sowohl in der Schleimhaut als auch in der Muskulatur und im Fettgewebe. Der Dickdarm bedarf keiner besonderen Beschreibung, er weist ganz analoge Veränderungen auf. Es soll nur hinzugefügt werden, daß die Drüenschläuche nicht selten durch die starke Schleimproduktion des Epithels ausgezeichnet und in vereinzelt Fällen cystisch erweitert waren. In einem weiteren Stadium ist die Begrenzung der einzelnen Darmzotten nur mehr mühsam erkennbar (s. Taf. II, Fig. 2). In der Abbildung ist die frühere Konfiguration der Dünndarmzotten eben noch zu erkennen, das Epithel ist nahezu vollkommen abgestoßen. In den äußeren Schichten der Tunica propria finden sich zum Teil in mäßiger Menge mehrkernige Leukocyten und Kokken, zum Teil sind diese Schichten in ein lokeres Netzwerk mit reichlich dazwischen gelagerten Kokken umgewandelt, während die zentralen Abschnitte nahezu vollkommen geschwunden zu sein scheinen. In den der Muscularis mucosae angrenzenden Teilen ist ein schmaler, noch erhaltener Streifen der Tunica propria mit stark gefüllten Gefäßen sichtbar. An Stelle der Submucosa sind nur einzelne netzartige Stränge mit wenigen Tetrakokken vorhanden, vermutlich ist der größte Teil der Bakterien bei der Fixation oder dem Schneiden der Präparate ausgefallen, so daß die Muscularis mucosae von der äußeren Muskulatur wie durch einen Spalt getrennt zu sein scheint. Ganz eigenartig sieht das Darmlumen aus; dasselbe enthält namentlich an den peripheren Partien eine ungeheure Zahl von zum Teil noch gut erhaltenen, freiliegenden Epithelzellen, entweder vereinzelt oder in den ursprünglichen Zellverbänden, die dann eine vollständig abgehobene Epitheldecke darstellen, oder ganze, wohlerhaltene, große Stücke von Darmdrüsen, endlich auch Reste aller Schleimhautschichten. Zwischen diesen Zellen und Gewebsrudimenten sind reichlich Mikrokokken eingestreut.

Ist in einem derartigen Stadium noch so viel von der Submucosa vorhanden, daß die Begrenzung der Follikel noch erkennbar ist, so entsprechen die Veränderungen in diesen zumeist den auf p. 27 beschriebenen mittelschweren Prozessen. In solchen Fällen sind die dazwischen liegenden Schleimhautpartien zellig infiltriert, viele Infiltratzellen im Zustande des Zerfalls. Schreitet dieser Zerstörungsprozeß noch weiter fort, so bleibt von der Schleimhaut kaum mehr als ein schmaler Rest der Muscularis mucosae und der Submucosa bestehen, gleichgültig, ob die Schleimhaut des Dün- oder Dickdarms von diesen Veränderungen befallen wurde. Die äußere Muskulatur zeigt sich stets am widerstandsfähigsten; ist sie auch in einzelnen Fällen von zahlreichen Bakterienhaufen durchsetzt, so bleiben von ihr dennoch mehrere Schichten wohl erhalten, worauf es offenbar zurückzuführen ist, daß es trotz der tiefgreifenden Darmwandzerstörungen niemals zu einer Perforation des Darmes gekommen ist. Peritonitiden bei Fällen von Spontanerkrankungen werden daher zum Teil als Durchwanderungsperitonitis, zum Teil als hämatogene, wohl auch als lymphogene Infektionen anzusehen sein. Auch in diesem vorgeschritteneren Stadium finden sich im Darmlumen reichlich abgestoßene, zum Teil nekrotische Epithelzellen oder Schleimhautfetzen. Hierbei kommt es zur Ausscheidung eines fibrinösen Exsudates über der Darmserosa. Die geschilderten Darmveränderungen nehmen vom oberen Colon angefangen nach unten und ebenso vom untersten Dünndarm nach aufwärts immer mehr ab. Der geringgradigen Vorgänge, die sich im Magen und Rectum abspielen, ist schon Erwähnung getan worden. Die Art der histologischen Veränderungen, die wir bisher

in der Darmwand beobachten konnten, erwecken den Eindruck, daß das Zugrundegehen des Gewebes in erster Linie auf einer rein mechanischen Wirkung beruht, daß das Gewebe durch die vielen angesiedelten Bakterien und vor allem durch deren überreichliche Kapselbildung sozusagen zersprengt wird. Bei der folgenden Erörterung der Präparate aus verschiedenen anderen Organen wird anlässlich ähnlicher Bilder davon noch die Rede sein.

Im Gegensatz zu diesen hochgradigen Veränderungen im Darmtrakt und den zahlreichen übrigen gleichfalls befallenen Organen, steht die geringe Vergrößerung der Milz. Wir haben bezüglich der Reaktion dieses Organes insofern zahlreiche Anhaltspunkte, als wir Gelegenheit hatten, jahrelang Infektionen an Meerschweinchen mit Tuberkulose und Pneumokokken zu verfolgen. Gegenüber den oftmals bedeutenden Milztumoren bei diesen beiden Infektionen erscheint die Milz bei einer *Tetragenus*-Infektion bezüglich ihrer Dimensionen fast normal. Diese mäßige Größenzunahme erwies sich überdies in vielen Fällen histologisch durch Blutstauung bedingt. Wir waren daher jedesmal, wenn die Milz mehr als sonst vergrößert schien, schon bei makroskopischer Untersuchung in der Lage, eine andersartige Infektion (zweimal handelte es sich um nicht näher bestimmte gramnegative Bacillen) oder zumindest eine Mischinfektion anzunehmen, und die Richtigkeit dieser Annahme hat sich stets bestätigt. In jenen Fällen, in denen die Milz selbst Bakterien enthielt, hatten sich dieselben, wenn der Prozeß noch nicht zu weit gediehen war, fast ausschließlich in den Follikeln angesiedelt, Bilder, wie wir sie von den Darmfollikeln her zu sehen gewohnt sind. In einem Falle allerschwerster Veränderungen waren aber merkwürdigerweise gerade die Follikel noch am verhältnismäßig besten erhalten, während das Pulpagewebe durch ein Netzwerk ersetzt war, in dessen Lücken sich Mikrokokkenpaare oder Mikrokokken in Tetraden vorfanden. Bei näherer Betrachtung zeigte es sich, daß dieses Netzwerk aus Zellen bestand, deren Kerne verschieden stark tingiert erschienen und die mannigfaltigsten Formen angenommen hatten, nicht selten sichelförmig aussahen, und deren Protoplasma beiderseits in schmale, dünne, anscheinend miteinander zusammenhängende Enden auslief, als ob dasselbe von beiden Seiten zusammengedrückt worden wäre. Stellenweise lagen Bakterien auch innerhalb der Zellen. Die Zellen waren in diesem Falle vergrößert, die Kokken von reichlichen lichten Höfen umgeben, die Zellkerne plattgedrückt und zur Seite gedrängt. Am besten hatte sich das Pulpagewebe unter der Milzkapsel erhalten; die Blutgefäße waren stark gefüllt. Ferner waren zahlreiche Phagozyten und Blutpigment enthaltende Zellen in der Pulpa zu sehen. Solche Bilder wurden vorzüglich in der Milz jener Tiere gefunden, die von der Bauchhöhle aus künstlich infiziert wurden, und traten stark in den Hintergrund oder fehlten überhaupt bei den spontan erkrankten Meerschweinchen oder Tieren, die künstlich, aber in anderer Weise geimpft wurden. Bei Spontanerkrankungen waren Kokken in der Milz nur in sehr wenigen Fällen nachweisbar. Frische oder ältere perisplenitische Veränderungen zählten nicht zu den Seltenheiten und es unterlag keiner Schwierigkeit in den frischeren fibrinösen Auflagerungen ebenso wie in älterem Granulationsgewebe Kokkenhaufen nachzuweisen. Wie schon hervorgehoben wurde, handelte es sich öfter um reine Stauungsmilzen. Zwischen den verdickten Trabekeln lag die stark reduzierte Milzpulpa mit zahlreichen Phagozyten, blutpigmenthaltenden Zellen und Zellen mit Kernzerfall. In einigen Fällen fielen

eigentümliche große, protoplasmareiche Gebilde auf, die unregelmäßig geformte Kerntrümmer enthielten, vermutlich der Gruppe der Makrophagen angehörige Elemente. Wo keine Stauung vorhanden war, konnte man vorzüglich nur erweiterte, von Erythrocyten und Phagocyten erfüllte Gefäße bei sonst nicht wesentlich geschädigter Pulpa wahrnehmen, also einfache Hyperämie. In einem Falle war es zu ausgebreiteten Hämorrhagien gekommen.

Bemerkenswerte Vorgänge spielten sich bei einigen Tieren in der Leber ab. In einer Reihe der Fälle fanden sich herdförmige, zur Konfluenz neigende Zellhaufen und mächtige Lückenbildungen (s. Taf. II, Fig. 3). Die Zellansammlungen, welche aus großen, unregelmäßig geformten Zellen mit höchst verschieden gestalteten und verschieden großen Kernen zusammengesetzt sind, scheinen gegen die Peripherie zu eine rein intraacinöse Anordnung zu besitzen, zwischen sich einerseits mehr oder weniger stark komprimierte Leberzellbalken, andererseits umfangreiche, helle Lücken mit Tetrakokken einzuschließen, welche letztere Lücken stellenweise miteinander konfluieren, so daß es den Anschein hat, wie wenn eine den Kapillaren folgende Zellwucherung, sowie die durch Kokkenansammlung bedingte Lückenbildung das Leberparenchym durch Druck nach und nach zum Schwunde bringen würde. Am intensivsten sind Zellansammlung und Lückenbildung im Zentrum der Herde, woselbst sich wohl auch an einzelnen Stellen eine Kolliquation des Leberparenchyms erkennen läßt. Die angrenzenden Gefäße sind stark gefüllt und durch eine mäßige Leukocytose ausgezeichnet. Das übrige Parenchym weist keine besonders bemerkenswerten Veränderungen auf; es besteht nur eine geringgradige zentrale und intermediäre Stauung mit mäßiger Fettinfiltration, keine merkliche Degeneration der Leberzellen. In anderen Präparaten, von welchen wir eine Abbildung (s. Taf. III, Fig. 4) bringen, finden sich herdförmige Erkrankungen, deren Mitte von einem Konglomerat von nekrotisierten Zellen, deren Begrenzung noch eine entfernte Aehnlichkeit mit Parenchymzellen erkennen läßt, gebildet wird. In den Lücken zwischen diesen sind Mikrokokkenpaare eingeschlossen. Der nekrotische Herd ist von einer Zone von Rundzellen, epitheloiden Zellen und Kerntrümmern, sowie vereinzelt Leberzellen umgeben, und an diese schließt sich ein verhältnismäßig breiter Saum von Granulationsgewebe mit teilweise schon parallel gestellten Fibroblasten, reiferen Bindegewebszellen und jungen neugebildeten Gefäßen an. An der Grenze von Granulationsgewebe und Lebergewebe zeigen sich Regenerationserscheinungen in Form von Gallengangswucherung. Sonst sind von dieser Leber ähnlich dem vorhergehenden Präparat mäßige Stauung, Ablagerung von Gallenpigment und im periacinösen Bindegewebe vereinzelte perivaskuläre und um die Gallengänge gelegene Infiltrate (letztere oft um Gefäße mit Leukocytose) zu vermerken. Noch ausgebreitetere Nekrosen konnten wir in der Leber eines der zuletzt eingegangenen Meerschweinchen feststellen, und zwar waren in einigen Schnitten die nekrotischen Bezirke nicht in Form regelmäßiger rundlicher Herde angeordnet, sondern von ganz unregelmäßiger Begrenzung und oftmals miteinander konfluierend. Im allgemeinen lagen sie vornehmlich in der Nähe der Glissonschen Kapsel; die angrenzenden intravenösen Felder sind durch Rundzellenanhäufung und beträchtliche Gallengangswucherung charakterisiert. Es scheint, als ob die nekrotisierenden Prozesse vom Zentrum des Acinus aus ihren Ausgang genommen hätten und von da weiter gegen die Peripherie fortgeschritten und schließlich ineinander

übergegangen wären. Die Zentralvene ist noch fast durchweg kenntlich, ob sie nun zum Teil oder vollständig vom abgestorbenen Gewebe umgeben ist. Schönere, mehr herdförmige Anordnung dieser Prozesse, zentrale Nekrose, sich daran schließende Rundzellenanhäufungen und peripher, wenn auch sehr spärliche Bindegewebswucherung, fanden wir in anderen Schnitten desselben Organes. Auch hier waren die Veränderungen durchweg unterhalb der Glissonschen Kapsel zu bemerken. Nebst einer geringen Stauung und Fettinfiltration, fiel es auf, daß die Leberzellbalken in der Umgebung der beschriebenen Herde weiter als normal voneinander abstehen, ein Umstand, der möglicherweise mit einer Lympfstauung in Zusammenhang zu bringen ist. Zum Unterschied von dem vorhergehenden Präparat waren innerhalb der Nekrosen keine Mikrokokken zu sehen, nur an einer einzigen Stelle konnten wir in der Umgebung eines nekrotischen Bezirkes kleine Ansammlungen von Mikrokokken wahrnehmen.

Daß trotzdem dem *Micrococcus tetragenus* eine ätiologische Rolle bei diesen Vorgängen zufällt, kann nicht geleugnet werden, dies vor allem deshalb nicht, weil wir wiederholt Bakterien in der Mitte solcher zugrundegegangener Zellkonglomerate nachweisen konnten.

Ein wohl vereinzelter, aber höchst bemerkenswerter Befund konnte an Leberpräparaten eines in den ersten Wochen nach Ausbruch der Epizootie spontan verendeten Tieres erhoben werden. Die Leberacini sind zum größten Teil vollkommen zugrunde gegangen. An ihre Stelle sind unregelmäßige nekrotische Massen getreten, die von einem lockeren, vielfach von Rundzellen durchsetzten, stellenweise neugebildeten Bindegewebe eingeschlossen werden. Lebhaftere Regenerationserscheinungen in Form von Gallengangswucherungen vervollständigen das Bild. Diese Veränderungen sind sehr ausgebreitet; man kann über große Partien, vornehmlich nur Nekrosen, junges Bindegewebe mit Rundzellen und Gallengangswucherungen, von einem ursprünglichen Parenchym jedoch kaum viel vorfinden. Wo dieses sich erhalten hat, sind die intraacinosen Kapillaren stark gefüllt, die Leberzellbalken vielfach komprimiert, oder es ist, wie in Fällen höchstgradiger Stauung, der zentrale Teil des Acinus durch dilatierte Gefäße, andernfalls durch Blutungen substituiert. Aber auch in diesem Leberanteil ist von einer regelmäßigen Acinusstruktur nicht mehr die Rede. Allenthalben ist es zu geringgradiger Fettinfiltration und Ablagerung von Blut und Gallenpigment, namentlich innerhalb des Bindegewebes gekommen. Von irgendwelchen Bakterien war nirgends etwas, auch nicht in nach Gram-Weigert gefärbten Schnitten zu sehen. Es bedarf wohl keiner weiteren Erörterung, daß sich hier Vorgänge abgespielt haben, denen eine gewisse Ähnlichkeit mit cirrhotischen Veränderungen der Leber nicht abzusprechen ist. Diese Befunde decken sich völlig mit den von Störk in seiner Arbeit „Ueber experimentelle Lebercirrhose auf tuberkulöser Basis (22)“ beschriebenen Bildern. Störk nimmt an, daß in seinen Fällen die Noxe auf dem Wege der Pfortader in die Leber gelangt ist, und daß die Nekrosen auf Gefäßverschlüsse im Bereiche der Pfortaderverzweigungen, durch spezifisch tuberkulöse Neubildungen hervorgerufen, zurückzuführen seien. Wichtig scheint uns die Ansicht Störks zu sein, daß vermutlich eine Reihe von verschiedenartigen toxischen Schädigungen zu dem gleichen Endresultat in der Leber führen kann. Die Richtigkeit dieser Ansicht Störks scheint nun tatsächlich durch unsere Beobachtung bewiesen zu sein, da in unserem Falle das Bestehen einer Infektion mit Tuberkulose

mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann. Auch der *Micrococcus tetragenus* oder seine Stoffwechselprodukte vermögen bei spontan erkrankten Meerschweinchen cirrhotische oder zu mindestens an Cirrhose ungemein erinnernde Leberveränderungen hervorzurufen. Das Fehlen des *Tetragenus* in diesem Falle ist dadurch zu erklären, daß der Prozeß offenbar schon länger gedauert hatte und die Mikrokokken im Gewebe bereits zugrunde gegangen oder nicht mehr nachweisbar waren. Nur können wir eine bestimmte Angabe über die Dauer des Prozesses nicht geben.

In Fällen, in welchen tiefgreifende Leberveränderungen fehlen, findet sich relativ häufig Fettinfiltration, und zwar mit Vorliebe im Bereiche der zentralen Acinuspartieen. Intermediär tritt dieselbe vornehmlich dann auf, wenn zugleich zentrale Stauung besteht. In solchen Fällen ist häufig eine charakteristische Stauungsleber zur Ausbildung gekommen. Als Zeichen von Entzündung können für einige wenige Fälle perivaskuläre Infiltrate in interacinösen Bezirken, geringe Rundzellenansammlungen um die peripheren Gallengänge und hie und da eine mäßige Leukocytose der interlobären Gefäße angesprochen werden. In einem einzigen Falle sahen wir Hämorrhagien. Auffallend bleibt schließlich, daß nahezu immer die Degeneration der Leberzellen gegenüber den anderen Veränderungen des Organs stark in den Hintergrund tritt.

Nicht gerade selten waren die Nieren an dem septisch-pyämischen Prozeß beteiligt. Entweder kam es zur Abszeßbildung oder zu einer reichlichen Bakterienansammlung innerhalb der Glomeruli, in einigen Fällen auch innerhalb der intertubulären Kapillaren. Der Eigenheit des *Micrococcus tetragenus* entsprechend, sieht man aber nicht einzelne dicht aneinanderliegende Individuen, die eine Art Ausguß des Gefäßes darstellen, wie wir dies beispielsweise von Streptokokkenembolien her gewohnt sind, sondern mitten in den Gefäßschlingen einige in gleichen Abständen voneinander liegende Kokkenpaare, die von den bekannten lichten ungefärbten Höfen umsäumt sind. Exsudatansammlung innerhalb der Glomerulusräume konnte nur selten beobachtet werden, die Glomeruluskapsel selbst war niemals verdickt. In vorgeschritteneren Fällen kommt es zum partiellen Schwund der Glomeruli, und schließlich erscheint wieder das schon vom Darm her bekannte Bild: ein zartes Netzwerk aus Zellresten bestehend und in den einzelnen Lücken Mikrokokkenpaare. Die Glomeruluskapsel blieb fast durchweg erhalten. Der Zerstörungsvorgang scheint dort Halt zu machen. In der Umgebung der verödeten Glomeruli finden sich nur vereinzelt Anhäufungen von mono- und polynukleären Rundzellen. Innerhalb der Bowman'schen Kapsel konnte man manchenmal Blutungen feststellen. In solchen Fällen enthalten auch die Tubuli contorti und recti reichlich rote Blutkörperchen. Auch Mikrokokken können sich im Lumen der Tubuli contorti und recti ansiedeln, jedoch anscheinend nur dann, wenn die intertubulären Kapillaren vorher infiziert waren. Es gelingt dann leicht, verschiedene Stadien der bakteriellen Invasion in die Harnkanälchen zu Gesicht zu bekommen. Zuerst werden die Tubuli von den in den angrenzenden Gefäßluminis befindlichen und diese stark erweiternden Bakterienmassen von außen komprimiert, während an anderen Stellen die Bakterien bereits zwischen die Epithelien der Harnkanälchen eingedrungen sind, um schließlich im Lumen der Tubuli zu ausgedehnten Bakterienhaufen anzuwachsen, in welchen auch polynukleäre Leukocyten eingestreut liegen. Eine derart geschädigte Niere ist noch durch starke Hyperämie der Gefäße, kleine, überall auftretende

intertubuläre Infiltrate, vereinzelte hyaline Zylinder und eine beträchtliche parenchymatöse Degeneration der Epithelien gekennzeichnet. In Nieren, die keine Bakterien enthielten, beschränkten sich die Veränderungen auf eine in verschiedenem Grade vorgeschrittene parenchymatöse Degeneration, die stets die Rinde betraf und nur selten bis in das Mark reichte, sowie auf eine mäßige Hyperämie oder Stauung. Nekrotische Herde waren niemals auffindbar. In jenen Fällen, in welchen eine Exsudation in den Kapselraum und periglomeruläre oder intertubuläre Infiltrate als Zeichen der Entzündung vorhanden waren, glauben wir von einer Nephritis, und zwar von einer hämorrhagischen Nephritis sprechen zu dürfen. Diese Prozesse müßten aber jedenfalls als akute aufgefaßt werden, weil es niemals zu einer Verdickung der Kapsel, zu einer Verödung der Glomeruli im landläufigen Sinne und zu einer Bindegewebsvermehrung im übrigen Nierenparenchym gekommen ist.

Eine von dieser vollkommen verschiedene Form der Nierenaffektion tritt unter dem Bilde multipler, zum Teil umfänglicher Abszeßbildung auf. Anlässlich der makroskopischen Beschreibung, ist bereits ihrer beträchtlichen Ausdehnung sowie der eigentümlichen dicklichen trockenen Beschaffenheit des Inhaltes gedacht worden. Hierbei handelt es sich stets um Tiere, die erst in einem späteren Zeitpunkt der Infektion erlegen sind. Die Abszesse bevorzugen die Rindensubstanz, so daß ihre hämatogene Entstehung außer Zweifel steht. In dem histologischen Bild kommt das Alter des Prozesses durch die dicke, vielfach schon aus vollentwickeltem Bindegewebe zusammengesetzte Abszeßmembran zum Ausdruck. Innerhalb der letzteren sind noch einzelne Nierenelemente erhalten. Gegen das Mark zu findet man auch in solchen Nieren einige Glomeruluschlingen von Mikrokokken, sowie einzelne Tubuli von polynukleären Zellen und Mikrokokkenhaufen erfüllt. Das Nierenparenchym zeigt abermals parenchymatöse Degeneration mit Ausnahme der innersten Marksubstanz, die Gefäße sind stark gefüllt. Der Inhalt der Abszesse besteht teils aus mononukleären, teils aus polynukleären Rundzellen, die in den Randpartien noch gut erhalten, gegen das Zentrum zu zum Teil in Zerfall begriffen sind. Mikrokokken sind über den ganzen Abszeß verstreut, sie liegen bald außerhalb der Zellen, bald in solche, und zwar sowohl in Leukocyten als auch in fixe Gewebszellen des Granulationswalles eingeschlossen.

In den Nebennieren wurden niemals Bakterien gefunden. Außer mäßiger Hyperämie und einigen Hämorrhagien in einem vereinzelt Falle, ließen diese Organe nichts Pathologisches erkennen.

Bemerkenswerter sind die pathologischen Prozesse, die im Genitalapparat männlicher und weiblicher Meerschweinchen vor sich gehen, vor allem die Veränderungen im Uterus. In keinem anderen Organ konnte in so deutlicher Weise der fast völlige Schwund des Gewebes in der Umgebung der Kokkenansiedlungen beobachtet werden. In mehreren Gesichtsfeldern erblickt man an Stelle des Muskelgewebes ausschließlich nur Bakterien, und unregelmäßige oder strangförmig angeordnete Zellkonglomerate mit blassen, verschieden geformten oder mehreren Kernen. Dazwischen trifft man wieder dort und da auf gut erhaltene Gefäße oder Reste gut erhaltener Muskelzellen. Aber auch innerhalb ausgedehnter mehr oder weniger intakter Muskelkomplexe erscheinen jene so charakteristischen Lücken, in deren Umgebung kaum irgendwelche Rundzellenanhäufungen zu bemerken sind, während innerhalb der Lücken neben spärlichen Gewebsresten Zellen vorwiegend vom Typus der Phagocyten in mäßiger

Menge vorhanden sind. Das Gewebe scheint streckenweise völlig verschwunden zu sein, ohne daß es in der Umgebung solcher Partien zu einer entzündlichen Reaktion gekommen wäre, wenn man von einer sehr geringgradigen Hyperämie mit spärlicher Leukocytose absieht. In einem einzigen Falle war das Gewebe um einen kleinen Herd von Mikrokokken, der sich innerhalb nekrotischer Detritusmassen befand, als stärker zellreich zu bezeichnen. Es entstehen dergestalt Bilder, die abermals den Eindruck erwecken, daß der Gewebsschwund fast ausschließlich durch eine mechanische Wirkung herbeigeführt wird, etwa in der Weise, daß sich innerhalb der Muskulatur, an verschiedenen Stellen Mikrokokken angesammelt und bei fortgesetzter Vermehrung und reichlicher Gallertbildung das Gewebe verdrängt und komprimiert haben. Es kommt somit zur Druckatrophie der verschiedenen Gewebelemente, von welchen die am meisten widerstandsfähigen hier noch als zarte Stränge eines Netzwerkes erkennbar sind. Bis zu einem gewissen Grade könnten wohl auch toxische Einflüsse herangezogen werden, schon aus dem Grunde, weil, wie erwähnt, in einzelnen wenigen Fällen es immerhin zu einer mäßigen Zellinfiltration mit zum Teil polynukleären Zellen gekommen ist. Nach Weigert gefärbte Schnitte ließen Fibrin innerhalb der Muskulatur vermissen. Hingegen waren fibrinös-zellige Exsudate mit reichlichen Mikrokokken im Uteruscavum selbst nichts Seltenes. Die Schleimhaut kann in solchen Fällen zum Teil des Epithels beraubt sein, sich im Zustande der Hyperämie befinden und in der Tunica propria gewucherte, eng aneinanderliegende Drüsen enthalten, wie wir dies in Fällen von Endometritis glandularis ähnlich antreffen. Gravidität im Verein mit solchen Prozessen war nur einmal festzustellen. Diese Veränderungen können den gesamten Uterus betreffen oder auch nur auf das Corpus uteri und ein Uterushorn beschränkt bleiben. Makroskopisch erschienen die befallenen Uterusabschnitte als hyperämisch und ödematös. Obgleich auch in histologischen Schnitten die Muskelbündel voneinander abstehen und wie durch Oedem auseinander gedrängt erscheinen, so muß doch die Größenzunahme des Organs vorwiegend auf die früher beschriebenen großen Lücken innerhalb der Muskulatur infolge Bakterienansiedelung zurückgeführt werden.

Auch die Hoden lassen oft Schädigungen zweifacher Art erkennen. Einerseits kommt es, und zwar mit Vorliebe in Fällen von älteren Infektionen, fast ausschließlich zur Abszeßbildung im Hodenparenchym. Der Inhalt der Abszesse hatte, ähnlich wie in den Nierenabszessen, eine eigentümlich dicke, trockene Beschaffenheit. Im histologischen Präparate fanden sich in großer Menge mononukleäre und polynukleäre Leukocyten mit zum Teil intracellulär gelagerten Mikrokokken. Gegen die Umgebung sind die Abszesse durch eine derbe Bindegewebskapsel abgeschlossen. In den dazu gehörigen Schnitten der ableitenden Samenwege zeigte es sich, daß dieselben fast durchweg Eitermassen mit Bakterien enthielten und des Epithels größtenteils verlustig gegangen waren. Auffallend ist, daß sich in einem Präparat zwischen den zirkulären Lagen der glatten Muskulatur der Ductuli efferentes und um die Gefäße sehr reichlich Rundzellen angesammelt hatten. Andererseits fand sich auch in diesem Organ eine Wiederholung der früher geschilderten Bilder: Kleine Anhäufungen von Mikrokokken in noch verhältnismäßig unverändertem Gewebe, dann größere Ansammlungen von Bakterien, zwischen denen das Gewebe in Form der bekannten Stränge hindurchzieht, wodurch wieder die oben erörterten netzartigen Bilder entstehen. Endlich stößt man auf Herde,

die aus Mikrokokken und überwiegend polynukleären Leukocyten bestehen und in deren Mitte alle Uebergänge von Kernzerfall bis zur Nekrose zu finden sind. Die bemerkenswertesten Partien stellen jene dar, die in einer gewissen Analogie mit Veränderungen in der Leber stehen, nämlich unregelmäßige oder mehr rundliche Herde, in deren Mitte Zellen epitheloiden Charakters mit Rundzellen abwechseln (nicht selten sind auch Gefäße vorhanden) und um die ein dichter Wall von Rundzellen und mehrkernigen Leukocyten gezogen ist. Mikrokokken sind in den inneren und äußeren Schichten gelegen. Reaktive Bindegewebswucherung ist zumeist am intensivsten am Rande der vorwiegend eitrigen Prozesse aufgetreten und zeigt dann die Merkmale eines längeren Bestehens. Die angrenzenden Partien sind teilweise komprimiert, andere haben das Epithel stellenweise eingebüßt und sind von Eitermassen erfüllt.

Die Harnblase zeigte in einigen wenigen Fällen außer leichten Erscheinungen von Entzündung, wie Hyperämie und mäßige diffuse Rundzelleninfiltration der Schleimhaut, keinerlei bemerkenswerte Veränderungen.

Innerhalb der Lungen wiederholte sich abermals das schon öfters beschriebene Bild der Höhlenbildung mit zartem Retikulum, in welchem die Tetrakokken in Abständen voneinander eingelagert waren. Diese Höhlen waren vorwiegend im peribronchialen und perivaskulären Bindegewebe eingelagert, wobei manche Bronchialäste oder Blutgefäße von einem Kranz solcher Höhlen, zwischen welchen sich Rundzellen fanden, umschlossen waren.

Im Lumen der Gefäße selbst waren wohl reichlich Leukocyten, jedoch niemals Mikrokokken anzutreffen. In einzelnen Fällen schloß sich an die geschilderten Veränderungen um die Gefäße und kleineren Bronchialäste eine beträchtliche Bindegewebswucherung an, die zur sekundären Schrumpfung und zur partiellen Induration der Lunge führte.

Neben diesen für die Tetragenus-Infektion spezifischen Lungenveränderungen finden sich im mikroskopischen Präparate einer Reihe der Fälle auch Veränderungen im Sinne einer Lobulärpneumonie. Die Alveolen enthielten abgestoßene Epithelien, Leukocyten und rote Blutkörperchen, die Gefäße waren stark gefüllt, die Septen zum Teil ödematös, und den entzündlichen Prozeß vervollständigten perivaskuläre und peribronchiale Infiltrate. Bronchiolitis bestand recht oft, namentlich in jenen Bronchioli, die von Mikrokokkenhaufen umschlossen waren.

In einem Fall war das Exsudat innerhalb der kleineren Bronchialäste und der Alveolen ein vorwiegend eitriges; außerdem war stellenweise im Lungengewebe umfangreichere Nekrose mit Kernzerfall zu bemerken. Da aber im Ausstrich nur Bakterien vom Typus des *Diplococcus pneumoniae* (sonst hatten wir eine zweifellose Infektion mit *Micrococcus tetragenus* vor uns) zu finden waren und ein derartiger Befund (Nekrose in der Lunge) ganz vereinzelt geblieben ist, so mag es unentschieden bleiben, ob dieser auf eine reine Diplokokkeninfektion oder aber auf die Wirkung des *Micrococcus tetragenus* zu beziehen ist.

Bei Mitbeteiligung der Pleura konnte man entweder ein vorwiegend zelliges Exsudat, in das zahlreiche Mikrokokken eingestreut waren oder schon ältere Prozesse wahrnehmen, wie Meerschweinchen No. 25 zeigte. In diesem Falle war an Stelle der Pleura pulmonalis und costalis ein ödematöses, noch teilweise gefäßhaltiges Bindegewebe zu sehen. In demselben fanden sich ziemlich zahlreiche und scharf abgegrenzte Herde von Mikrokokken, zwischen welchen Netzstränge anscheinend aus Rundzellen

und Zellen mit ungleichmäßig gefärbten Kernen durchzogen, Tetrakokkenherde, um welche kaum irgendeine entzündliche Reaktion zu bemerken war. In nicht geringem Umfange aber war die Pleura bereits in derbes altes Bindegewebe umgewandelt, das reichlich Kalkeinlagerungen enthielt und in vielfachen Zügen in das anstoßende Lungengewebe einstrahlte, so daß dieses als induriert imponierte. An anderen Stellen wies das Lungenparenchym den Typus der lobulären Pneumonie auf. Tetrakokken waren in den histologischen Schnitten nicht sichtbar, hingegen in den Ausstrichpräparaten in großer Zahl vorhanden. Ob die alten Veränderungen der serösen Häute durch den *Micrococcus tetragenus* hervorgerufen waren, kann nicht mehr mit Bestimmtheit behauptet werden. Jedenfalls haben wir in den beschriebenen Herden auch frischere Prozesse vor uns, die vielleicht erst sekundär hinzukamen. Wichtig hierbei ist vor allem wieder die nahezu völlige Reaktionslosigkeit des anstoßenden Bindegewebes. Erwähnenswert ist noch, daß die Lungen und das Myocard die einzigen Organe sind, welche bei experimenteller Infektion stets frei von Veränderungen blieben.

In 3 Fällen spontaner Infektion kam es im Myocard zur Entwicklung pathologischer Vorgänge. In einem Falle handelte es sich um eine relativ frische Infektion. Die Mikrokokken waren entweder in Form kleiner rundlicher oder unregelmäßiger Häufchen angeordnet oder waren reihenförmig, zum Teil schleifenförmig zwischen den einzelnen Muskelbündeln eingestreut. Die Muskelbündel erschienen durch die Kokkenhaufen vielfach unterbrochen oder auseinandergedrängt. Innerhalb der Bakterienansammlungen fehlten auch hier Zellelemente nahezu vollkommen, und in der Umgebung bemerkte man nur ganz vereinzelte Zellen mit unregelmäßig geformten Kernen. Die Muskelbündel zeigten keine besonderen Zeichen von Degeneration. Die geschilderte Anordnung der Mikrokokken in Reihen legt den Gedanken nahe, daß dieselben in den Lymphspalten bzw. bei Häufchenbildung innerhalb von Lymph- oder Blutkapillaren eingelagert sind. Ein zweiter Typus der Myocardaffektionen war durch Bildung multipler älterer Abszesse mit zahlreichen Bakterien charakterisiert. Die angrenzenden Muskelzellen ließen zumeist eine deutliche Struktur vermissen. Intramuskuläre Rundzelleninfiltrate sind meist um die Gefäße gelagert, innerhalb welcher das Blut etwas leukocytenreicher erscheint. Die Muskelbündel erscheinen fast durchweg voneinander abgedrängt, sei es durch einfache Auflagerung des Bindegewebes in der Umgebung des primären Infiltrates, sei es durch eine Vermehrung des Bindegewebes selbst. In einem dritten Falle war endlich als Ergänzung der eben geschilderten Bilder ein noch weiter vorgeschrittenes Stadium zu beobachten, insofern als hier wiederum ein großer von Bindegewebe abgekapselter Abszeß sich vorfand, in dessen Innerem meistens nekrotische Zellmassen mit reichlichen Mikrokokken enthalten waren. Die Struktur der Herzmuskelzellen außerhalb des Abszesses erschien auffallend gut erhalten, die einzelnen Muskelzüge jedoch aufgelockert, wie durch Oedem auseinander gedrängt. Das Epicard war verdickt, ödematös und von mononukleären Leukocyten durchsetzt.

Von selteneren Lokalisationen des *Micrococcus tetragenus* sollen endlich erwähnt werden: die äußere Haut, die Muskulatur und das Knochengewebe. Diese Veränderungen waren durchweg bei den zu Ende der Epizootie verendeten Meerschweinchen anzutreffen. In der Haut und Muskulatur wiesen die Abszesse stets eine dicklich-käsige Inhaltsmasse auf. Im Einklang mit dem Alter der Prozesse

stehen die ausgebreiteten Nekrosen sowie eine derbe breite Bindegewebskapsel, die in die weitere Umgebung zwischen die Muskelbündel ausstrahlt. Im Inneren der Abszesse sind an der Peripherie der nekrotischen Zellmassen ausschließlich Zellen vom Typus der mononukleären und polynukleären Leukocyten vorhanden. Demgegenüber sind die lokalen Abszesse bei experimenteller Infektion durch die Zeichen frischerer Entzündung gekennzeichnet, also vor allem dadurch, daß eine pyogenetische Membran nur partiell zur Ausbildung gekommen ist, durch die umgebenden Infiltrate und endlich dadurch, daß im Inneren der Abszesse noch keine Nekrosen, dagegen noch zahlreiche Gewebsreste in Form von Strängen auffindbar sind.

Eine allerdings tiefgreifende Knocheninfektion konnte nur in einem einzigen Falle beobachtet werden; sie betraf beide unteren Extremitäten und zwar auf der einen Seite die unteren Fußwurzelknochen, auf der anderen Seite die Mitte der Tibia. An den entsprechenden Stellen war der Knochen aufgetrieben und mit einer fistelartigen Oeffnung versehen, aus der sich ein dicklicher Eiter entleerte, der reichlich und ausschließlich den *Micrococcus tetragenus* enthielt. An Querschnitten durch die Tibia ist der Markraum fast ausschließlich mit Eiterkörperchen erfüllt, die von der Spongiosa durch eine breite Schicht von zell- und gefäßreichem Bindegewebe getrennt sind. Auf der Oberfläche des Knochens sieht man stehende Knochenbälkchen, welche nach außen ebenfalls von einer breiten Bindegewebsschicht umgeben sind. Der Knochen der Corticalis ist nur an einer der Fistel entsprechenden Stelle unterbrochen, so daß hier das endostale Bindegewebe mit der periostalen Knochenwucherung in Verbindung tritt. An die beiden Enden des corticalen Knochens sind in Lakunen große mehrkernige Zellen, Osteoklasten, angelagert. Ebenso hat an dieser Stelle im Bereiche des neugebildeten periostalen Knochens ein Abbauprozess von innen nach außen stattgefunden, so daß dieser reduziert erscheint und wieder an der der Markhöhle zugekehrten Seite Zellen vom Typus der Osteoklasten aufweist. Die Fibula enthält noch normales zellreiches Mark, ist aber gleichfalls durch deutliche periostale Neubildung ausgezeichnet, in geringerem Maße (wie dies auch bei der Tibia der Fall ist) dort, wo beide Knochen einander zugewendet sind. Aehnliche Veränderungen zeigen die Präparate, welche von den Fußwurzelknochen der anderen Extremität angefertigt wurden.

Es wurde bereits mehrfach, wie gelegentlich der Besprechung des Darmtraktes oder der Lungen, darauf hingewiesen, daß der lymphatische Apparat einen der Hauptangriffspunkte des *Micrococcus tetragenus* darstellt. Es ist daher auch nicht verwunderlich, wenn die Lymphdrüsen selbst zumeist tiefgreifende histologische Veränderungen aufweisen. Dabei geben gerade die Lymphdrüsen die beste Gelegenheit, wie bei keinem anderen Organ nach dem histologischen Bild die Schwere und Dauer der Infektion abzuschätzen. Kurz charakterisiert sind die Lymphdrüsenveränderungen wieder durch die ungemein reichliche Bakterienansammlung und den konsekutiven Gewebsschwund, infolge der mächtigen Kapselbildung der Kokken. Betrachtet man eine frisch erkrankte Drüse, so sind die Mikrokokken noch ausschließlich in den der Kapsel zunächst liegenden Gewebsanteilen angehäuft, und zwar in jenen Räumen, die dem äußeren Lymphsinus entsprechen. Bei vorgeschrittener Infektion kann man leicht verfolgen, wie die Bakterien weiter in die inneren Lymphsinuse fortgeschleppt worden sind, also in das retikuläre

Gerüst zu beiden Seiten der Markstränge zu liegen gekommen sind. Die Drüsen sind im übrigen in diesem Stadium wenig verändert, meist nur hyperämisch, das Retikulum durch Oedem auseinander gedrängt. Im weiteren Verlaufe wird das gesamte adenoide Gewebe mit Bakterien überschwemmt und geht zum Teil zugrunde, so daß wieder weitmaschige Lücken entstehen, während die Trabekel mit den Blutgefäßen noch erhalten bleiben. Dadurch kommt ein sehr charakteristisches Bild zustande (s. Taf. III, Fig. 5). In Fällen allerschwerster Drüsenerkrankungen schwinden Rinden- und Marksubstanz fast vollständig, wenigstens stellenweise, so daß von dem ursprünglichen Lymphdrüsengewebe dann nur mehr einige Haufen und Verbände von Zellen zurückbleiben. Solche stets vergrößerte Drüsen sind fast ausschließlich von reichlichsten Kokken und deren Kapseln zusammengesetzt, zwischen welchen hie und da ein Trabekel mit dazu gehörigem Blutgefäß verläuft. Ein noch weit auffälligeres Bild boten jene Drüsen, die von Tieren stammten, deren Infektion einige Monate zurückliegt, wobei die ersteren oft bis Nußgröße erreichten. Ihrer käseartigen trockenen Inhaltsmasse und ihres makroskopisch zum Teil an verkäste tuberkulöse Drüsen erinnernden Aussehens wurde bereits Erwähnung getan. Für solche Drüsen ist mikroskopisch ausgebreiteter Kernzerfall und Nekrose charakteristisch, sei es nun, daß das Parenchym herdförmig nekrotische Massen enthält, oder daß das gesamte Drüsengewebe durch nekrotische Zellkonglomerate bis auf die Bindegewebskapsel substituiert ist. Mikrokokken sind stets reichlich zu finden.

In Ergänzung unserer histologischen Untersuchungen möchten wir nicht unerwähnt lassen, daß wir bei einigen Tieren, die vor dem Exitus Reizsymptome von seiten des Nervensystems aufwiesen (starker Bewegungstrieb, Drehen im Kreis) Gehirn und Rückenmark untersuchten, aber weder makroskopisch noch mikroskopisch irgendwelche nennenswerte Veränderungen fanden. Ferner wurden bei einer Anzahl von Mäusen, die vorwiegend zur Feststellung der Pathogenität des *Micrococcus* infiziert worden waren, der Darmtrakt, die mesenterialen Drüsen, die Milz, Leber und Niere histologisch untersucht. Hierbei deckten sich die Bilder im wesentlichen mit den Veränderungen im Meerschweinchenorganismus.

Ueberblickt man die gesamten histologischen Untersuchungsergebnisse, so fällt vor allem auf, daß in einer ganzen Reihe von Organen die entzündliche Reaktion des Gewebes um einen Mikrokokkenherd als eine geringe zu bezeichnen ist, ja in einigen Organen nahezu vollständig ausbleibt. Dies gilt natürlich nur für frische Prozesse. Dazu kommt noch, daß in einigen Fällen eine Degeneration des Parenchyms selbst in der Umgebung von Bakterienansammlungen zu vermissen war und endlich Hämorrhagien zu den Seltenheiten gezählt werden müssen. Würde man sich auf Grund der eben angeführten Tatsachen aus den histologischen Befunden einen Schluß erlauben, so müßte man annehmen, daß die toxische Wirkung des *Micr. tetragenus* keine erhebliche sein dürfte. Demgegenüber scheinen sich Vorgänge im Gewebe abzuspielen, die, wie bereits hervorgehoben, auf mechanische Weise zum Teil zu erklären wären, das ist Druckatrophie des Gewebes infolge reichlicher Bakterienansammlung und umfangreicher Kapselbildung durch die Tetrakokken. Einzelne der zutage tretenden Veränderungen müssen allerdings auf eine toxische Wirkung des *Micrococcus* bezogen werden, wie vor allem jene Organalterationen, bei welchen es zur Nekrose und Abszeß-

bildungen kommt. Eine weitere Eigentümlichkeit des *Micrococcus tetragenus* besteht darin, daß Exsudate, soweit es zur Ausscheidung solcher kommt, vorwiegend aus zelligen Elementen und fast gar nicht aus Fibrin zusammengesetzt sind. Schließlich erinnern wir noch an jene eigenartigen herdförmigen Gewebsveränderungen, wie sie namentlich in der Leber auftreten, die durch eine zentrale Nekrose einen diese umgebenden Leukocytenwall und eine äußere Bindegewebskapsel charakterisiert sind, Veränderungen, die eine oberflächliche Aehnlichkeit mit tuberkulösen Prozessen aufweisen.

Die Ansichten über die pathogenetische Bedeutung des *Micrococcus tetragenus* für den Menschen stimmen auch heute noch nicht völlig überein. Wenn auch von einzelnen Seiten seine Bedeutung als Krankheitserreger beim Menschen geleugnet wird, so sind andererseits die durch ihn beim Menschen erzeugten Krankheitsformen so mannigfach und in ihrer Variation so übereinstimmend mit den Befunden, die wir beim Tiere in der vorliegenden Epizootie beobachten konnten, daß anhangsweise eine knappe Zusammenstellung der beschriebenen Tetragenus-Infektionen des Menschen eingeschaltet werden möge.

So wurde ausschließlich *Micr. tetragenus* in Fällen von Septikämie nachgewiesen [Looten und Qui Dui (23), Chauffard et F. Ramond (24), Fornaca (25), Kurt Ziegler (26), Deleard (28), Brugnola (28)]. Bei einer weiteren Gruppe war die Infektion besonders in der Mund- und Rachenhöhle lokalisiert [A. J. Lartigian (29), Karlinski (18), Viquerat (30), Kapper (31), Steinhaus (32)]. Von Tetragenuskrankungen im Pleuraraum und in den Lungen berichten Kopfstein (33), Netter (34), Carrière (35), Bosc und Galavielle (17). Peritonitiden, die durch den *Micr. tetragenus* verursacht waren, beobachteten Pane (36), R. Müller (21). Farisans et la Damany (37) züchteten *Micr. tetragenus* aus dem Blut in Reinkultur bei einer tuberkulösen Pleuritis, ebenso Mattiolo (38) in 3 Fällen von Lungentuberkulose, C. J. White (39) aus pustulösen Hautaffektionen, Pende (40) bei einer Meningitis aus der Cerebrospinalflüssigkeit, und Arullani (41) fand *Micr. tetragenus* im Blut, im Harn und der Milz in Reinkultur bei einer mit Fieber und Durchfällen letal verlaufenden Anämie. — Unter Mischinfektionen mit *Micr. tetragenus* und solchen Fällen, in denen der *Micr. tetragenus* bakteriologisch nicht sicher gestellt ist, seien die Arbeiten von Levy und Schrader (42), Apert (43), Meltza (44), Park und Boswell (45), Boni (46), Berteau (47), Greiwe und Fachler, Mitchell und Hellmann (48), Bennoit (49), Boschi und Belley (50), und Sewer Sterling (51) u. a. angeführt.

Das im Vorausgehenden geschilderte Verhalten der Lymphfollikel in den verschiedenen Organen, sowie der einzelnen Lymphdrüsengruppen ist wohl geeignet, die Verbreitungsweise des *Micr. tetragenus* im tierischen Organismus zu beleuchten. Wohl muß vorausgeschickt werden, daß das Blut der spontan verendeten Tiere stets bakterienhaltig gefunden wurde, daß somit bei den Tieren eine ausgesprochene Bakteriämie bestand, wofür übrigens auch die Ansiedelung der Kokken in den verschiedensten Organen spricht. Andererseits scheint aber die Verschleppung der Kokken im Tierkörper nicht aller Orten oder zumindest nicht in jeder Phase der Infektion ausschließlich auf dem Blutwege stattzufinden. So wäre schon die Lokalisation der Erkrankungsherde innerhalb der Lungen als höchst auffällig zu bezeichnen (vgl. p. 36). Diese deuten wohl darauf hin, daß hier die Bakterien auf lymphogenem Wege verschleppt wurden und schließlich in die perivaskulären oder peribronchialen Lymphgefäße oder Lymphfollikel gelangten. Diese Form der Bakterieninvasion ließ sich in jeder Lunge, die den *Micr. tetragenus* enthielt, wiederfinden, und nur einmal waren sehr spärlich Mikrokokken innerhalb der Bronchioli und einzelner Alveolen vorhanden. Ein noch

eindringlicheres Bild von der Art der Infektion bieten die Veränderungen an den Lymphdrüsen. Bei allen Tieren, die der Spontaninfektion innerhalb der ersten Woche erlagen, fanden sich entsprechend den schweren, im Vordergrund stehenden Darmprozessen die mesenterialen Drüsen in hohem Grade im Sinne der im histologischen Teil ausführlich beschriebenen schweren Drüsenveränderungen geschädigt. Waren wie bei Tier 20 die sich im Darm abspielenden Prozesse von geringerer Stärke, so waren dementsprechend die mesenterialen Lymphdrüsen weniger in Mitleidenschaft gezogen oder wie bei Tier 38 oder 42 bei unverändertem Darmtraktus als normal zu bezeichnen. Dieser Parallelismus zwischen den Veränderungen im Darm und den dazugehörigen Drüsen tritt auch bei jenen Tieren zutage, die am längsten der Infektion Widerstand leisteten, bei denen vorwiegend die Hals- oder Submaxillardrüsen betroffen waren, der Dünn- und Dickdarm aber verschont blieb und die mesenterialen Lymphdrüsen sich als vollkommen unverändert erwiesen. (Beispielsweise Tier 33 und 34.) Untersuchungen, die diese beim spontan verendeten Tier gemachten Beobachtungen speziell verfolgen sollten, ergaben eine volle Bestätigung des Angeführten. So wurde ein spontan erkranktes Meerschweinchen No. 78, das nekrotische Drüsen am Hals aufwies, frühzeitig getötet; der Darm zeigte keine Veränderungen spezifischer Art, ebensowenig die dazugehörigen Drüsen. Hingegen wies bei 2 subkutan infizierten Meerschweinchen der Darm bereits schwere Veränderungen auf und desgleichen die mesenterialen Lymphdrüsen, nur daß bei einem derselben auch noch die retroperitonealen Lymphdrüsen ergriffen waren.

Bevor wir nun in unserer Betrachtung fortfahren, möge ein prinzipieller Unterschied hervorgehoben werden, den wir zwischen denjenigen Drüsen, die das charakteristische Bild (mehr oder weniger stark veränderte Rinden- oder Marksubstanz bis zu den schwersten Veränderungen) aufwiesen und denjenigen Drüsen, bei denen sich Bakterien erst im Lymphsinus vorfanden, machten. In Anlehnung an Versuche, die Albrecht und Ghon (52) an Meerschweinchen mit Pestbacillen anstellten, haben wir die Drüsen mit den erstgenannten Veränderungen den primären Bubonen und die Drüsen zweiter Art den sogenannten sekundären Bubonen an die Seite gestellt. Dies darum, weil sich in einer Reihe von Versuchen folgendes gezeigt hat: Infiziert man ein Meerschweinchen mit dem *Micr. tetragenus* in der Weise, daß man Kulturmateriale auf der rasierten, aber sonst unverletzten Haut fest einreibt, so zeigt es sich, daß diejenigen nächsten Drüsen, in deren Bereich die Infektion stattgefunden hat, stets den ersten Typus der Drüsenveränderungen repräsentieren, und die Schwere des Prozesses je nach der Entfernung der Drüsen von der betreffenden Impfstelle in gradueller Weise abnimmt. Hierfür mögen folgende Beispiele dienen:

Meerschweinchen (72) kutan infiziert, nach 6 Tagen eingegangen, die Einreibungsstelle befand sich innerhalb des linken unteren Bauchquadranten.

Drüsenbefund: Die äußeren linken inguinalen und inneren linken inguinalen Drüsen am schwersten verändert; die unteren und oberen retroperitonealen Drüsen der linken Seite schwerstgradig verändert; die äußeren rechten inguinalen Drüsen enthalten reichlich *Micr. tetragenus*, vor allem unter der Kapsel; die mesenterialen Lymphdrüsen (der Darm enthielt gleichfalls Mikrokokken) enthalten reichlich *Micr. tetragenus*, aber ausschließlich unter der Kapsel; die rechten und linken axillaren Drüsen: reichlich *Micr. tetragenus*, ebenfalls ausschließlich unter der Kapsel; die tiefen Halslymphdrüsen: vereinzelt *Micr. tetragenus* unter der Kapsel.

Meerschweinchen (24) kutan infiziert, nach 6 Tagen eingegangen, die Einreibungsstelle befand sich zwischen den beiden unteren Bauchquadranten.

Drüsenbefund: Die linken und rechten äußeren inguinalen Drüsen am schwersten

verändert; die rechten und linken inneren Inguinaldrüsen: schwerstgradig verändert, rechts etwas geringer; die linken unteren und mittleren retroperitonealen Drüsen: geringer, aber noch schwer verändert; die linken oberen retroperitonealen Drüsen: *Micr. tetragenus* reichlich, ausschließlich nur unter der Kapsel; die axillaren Drüsen: *Micr. tetragenus* spärlich unter der Kapsel; Darm und mesenteriale Drüsen ohne spezifische Veränderungen.

Meerschweinchen (8) kutan infiziert, nach 5 Tagen getötet, Einreibungsstelle befand sich im linken unteren Bauchquadranten.

Drüsenbefund: Die linken unteren inguinalen und retroperitonealen Drüsen schwer verändert, die retroperitonealen etwas geringer; die rechten unteren inguinalen Drüsen geringgradig verändert; die mesenterialen Drüsen (es fanden sich spezifische Darmabszesse) schwerstgradig verändert; die linken axillaren Drüsen geringgradig verändert.

Weitere Versuche, bei welchen wir zu denselben Resultaten gelangten, bedürfen aus diesem Grunde keiner besonderen Anführung. Diese Darlegungen bestätigen vor allem weiter die engen Beziehungen, die zwischen den Prozessen im Darmtraktus und den mesenterialen Drüsen bestehen, zeigen aber auch, daß wir mit Hilfe des *Micr. tetragenus* in bequemer Weise die Verteilung des Lymphgefäßsystems im tierischen Körper studieren können. Aus dem ersten angeführten Versuch geht hervor, daß das Gebiet des linken unteren Bauchquadranten der äußeren inguinalen Drüse derselben Seite angehört, dasselbe beweist Meerschweinchen 8, während der zweite Versuch eine Variante bildet, und zwar insofern, als wir in der Mittellinie unterhalb des Nabels die Infektion vornahmen und dementsprechend beide äußeren inguinalen Drüsen in gleicher Weise betroffen fanden. Die Infektion schreitet dann mit dem Lymphstrom zu den Drüsen der 2. und 3. Station weiter, die um so geringer verändert sind, je weiter die betreffende Drüse von dem ursprünglichen Infektionsort entfernt liegt. In den axillaren, tiefen Halslymphdrüsen und mesenterialen Drüsen hatten sich bei sonst noch verhältnismäßig intaktem Parenchym Bakterien erst im äußeren Lymphsinus angesiedelt, bei den letztgenannten Drüsen natürlich nur in nicht zu weit vorgeschrittenen Darmprozessen. Die Halslymphdrüsen, axillaren und mesenterialen Drüsen dürften bei diesen Versuchen der subkutanen Infektion von der Bauchhaut aus erst infiziert worden sein, nachdem Bakterien in das Blut gelangt sind und dann sekundär in das lymphatische Gewebe ausgeschieden werden. Dies würde sich tatsächlich mit dem Begriff eines sekundären Bubo decken.

Die angeführten experimentellen Untersuchungen sollten auch Aufschluß bringen, in welcher Zeit nach der stattgehabten Infektion die Kokken von der Impfstelle in die regionären Lymphdrüsen resp. in das Blut und von hier aus sekundär in die übrigen Lymphdrüsen gelangen. Zu diesem Zwecke wurden die Tiere einer Versuchsreihe spontan verenden gelassen, die Tiere der zweiten Serie wurden in Intervallen, und zwar innerhalb der 6. bis 12. Stunde nach der Infektion getötet. Von den etappenweise getöteten Tieren sei ein Meerschweinchen hervorgehoben, an dem sich die kürzeste Zeit feststellen ließ, in der der *Micr. tetragenus* von der Infektionsstelle zu den regionären Drüsen, d. i. zu den äußeren Inguinaldrüsen, gelangte. Das Tier wurde am 4. Tage getötet, die inneren inguinalen und retroperitonealen, sowie alle übrigen Drüsen waren makroskopisch und mikroskopisch noch völlig intakt, das Blut steril. Bei einem weiteren am 6. Tag nach der Impfung getöteten Tier war die Infektion schon bis zu den Drüsen der nächsten Station, nämlich zu den retroperitonealen Drüsen, fortgeschritten, bei noch unveränderten mesenterialen und axillaren Lymphdrüsen und ohne daß sich

im Blut *Micr. tetragenus* nachweisen ließ. Zwei Tiere dieser Reihe gingen vor der beabsichtigten künstlichen Unterbrechung des Versuches spontan ein, das eine Tier bereits am 4. Tag, das zweite Tier am 5. Tag nach der Infektion. Bei beiden Tieren waren bereits sämtliche Drüsen infiziert, beim zweiten entsprechend dem Vorhandensein von Darmabszessen die mesenterialen Drüsen, und zwar schon in hohem Grade. Das Blut enthielt in beiden Fällen reichlich *Micr. tetragenus*. Zu dem ersterwähnten Tier ist noch besonders zu bemerken, daß durch Einreibung von Tetrakokken in die Haut mitunter schon am 4. Tag eine allgemeine Infektion sich einstellen kann, also zu einer Zeit, zu der in anderen Fällen erst die regionären Lymphdrüsen erster Ordnung betroffen sind. Von den Tieren der zweiten Gruppe, die nach der Infektion spontan eingingen, seien zwei Meerschweinchen angeführt, welche mit einem vermutlich noch stark tierpathogenen Stamm aus der ersten Kulturgeneration kutan infiziert worden waren, aber erst am 6. Tag, allerdings mit durchweg befallenen Drüsen und reichlich Bakterien im Blut der Infektion erlagen. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Bakterium, nachdem es von der Haut auf lymphogenem Wege in die Lymphdrüsen 1. und 2. Ordnung gelangt ist, in die Blutbahn einbricht und von da zu einer zumeist tödlich verlaufenden Allgemeininfektion führt.

Zum Schlusse erübrigt es noch, mit wenigen Worten auf die Frage der Eintrittspforten des *Micr. tetragenus* in den Organismus einzugehen. Für den Menschen werden als solche hauptsächlich der Nasenrachenraum, die oberen Respirationswege, zum Teil der Verdauungstraktus und die Hautoberfläche angenommen. Bei Sichtung der am spontan erkrankten Meerschweinchen gemachten Beobachtungen in dieser Richtung dürfte man zu ähnlichen Annahmen kommen. Zunächst muß nochmals hervorgehoben werden, daß bei allen Tieren, auch bei den künstlich von der Haut oder Bauchhöhle aus infizierten Tieren, die Tetrakokken stets und in reichlicher Menge im Nasenrachenraum angetroffen wurden. Für die Experimentaltiere muß mit Bestimmtheit angenommen werden, daß die Kokken dortselbst sekundär ausgeschieden wurden. Bei den spontan erkrankten Tieren können die Kokken sowohl primär (Inhalation oder Schmierinfektion) als auch sekundär (Ausscheidung) dahin gelangt sein. Da bei der Beobachtung der chronisch verlaufenden Fälle zuerst die Lymphdrüsenanschwellungen am Hals festgestellt werden konnten, wird man bei Berücksichtigung der Verbreitungsweise des Virus im Tierexperiment dieses primäre Befallensein der Halslymphdrüsen so deuten müssen, daß die Infektion im Quellgebiet dieser Drüsen, somit im Nasenrachenraum, stattgefunden hat. Eine enterogene Infektion wird bei den Tieren wohl nicht vollkommen auszuschließen sein, doch haben wir schon früher darauf hingewiesen, daß die anatomischen, histologischen und bakteriologischen Untersuchungsergebnisse des Digestionstraktes eher für eine sekundäre, auf hämatogenem Wege entstandene Infektion desselben sprechen. Die perkutane Infektion dagegen, welche voraussichtlich zumeist eine lokale, seltener zum Tode führende Infektion repräsentieren dürfte, hat größere Wahrscheinlichkeit für die Fälle isolierter Hautabszesse. Nach diesen Ueberlegungen nehmen wir für das Meerschweinchen als den häufigsten spontanen Infektionstypus die Infektion vom Nasenrachenraum an. Dieser an Wahrscheinlichkeit zunächststehend, wäre die Infektion von der Haut aus und als eine nicht aus dem Bereiche der

Möglichkeit absolut auszuschließende, aber doch recht fragliche, wäre die enterogene Infektion anzusehen.

Aus der Gesamtheit der Beobachtungen möchten wir weiter noch der Vermutung Raum geben, daß der akute, absolut tödliche Krankheits-typus mit dem frühzeitigen Einbruch der Kokken in die Blutbahn etwa schon innerhalb der Tonsillen zusammenfällt, während der chronische Typus mit Lymphdrüsenerkrankungen bei anfänglich ausschließlichem Fortschreiten der Krankheitserreger entlang der Lymphwege und gleichzeitiger Abschwächung der Virulenz zur Entwicklung kommt. Der letztere Typus stellt eine chronische Infektionsform dar, die sich über mehrere Monate erstrecken kann, entweder zur Spontanheilung oder aber in einem späten Stadium der Erkrankung abermals infolge Einbruchs nekrotischer Lymphdrüsen in die Blutbahn endlich zu einer akuten Exazerbation führt, der die Tiere dann in kürzester Zeit erliegen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Galli-Valerio, Br., Notes des parasitologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. 1900. No. 9.)
- 2) Perroncito, Di un nuovo protozoa dell' uomo e di talune spezie animali. (Giorn. d. R. Accad. d. Med. d. Torino. 1899. No. 1.)
- 3) — Ueber die Art der Verbreitung des *Cercomonas intestinalis*. (R. Accad. d. Med. Turin. Sitz. 24. Febr. 1888.)
- 4) Strada und Traina, Ueber eine neue Form von infektiöser Lungenkrankheit der Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900.)
- 5) Tartakovsky, Pneumonie contagieuse des cobayes. Nouvelle maladie infectieuse. (Arch. d. Sc. Biol. T. 6. 1898.)
- 6) Weber, Ueber eine Pneumonieepizootie unter den Meerschweinchen. (Arch. f. Hyg. Bd. 39. H. 3.)
- 7) Stefansky, W. K., Ueber eine durch *Streptococcus lanceolatus* hervorgerufene Epizootie bei Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901.)
- 8) Lochmann, Ein neuer, der Gruppe des *Bact. coli communis* verwandter, für Mäuse und Meerschweinchen pathogener Mikroorganismus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902.)
- 9) Kovárzik, Karl, Meerschweinchenepizootie durch eine Varietät des *Coli-Bacillus* verursacht. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903.)
- 10) Altana, Ueber einen von Meerschweinchen isolierten *Tetragenus*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48.)
- 11) Lehmann-Neumann, Atlas und Grundriß. Lehmanns Handatlanten. T. II.
- 12) Migula, zit. von Lehmann-Neumann.
- 13) Koch und Gaffky, Mitteil. a. d. Kais. Ges.-Amt Bd. 2. — Langenbecks Archiv. Bd. 28. p. 500.
- 14) Boutron, Recherches sur le *Micr. tetrag. septicus* et quelques espèces voisines. [Thèse.] Paris.
- 15) Lode, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. p. 298.
- 16) Teissier, Contribution à l'étude du tétragène. (Arch. d. méd. expérim. et d'anat. pathol. T. 8. 1896.)
- 17) Bosc et Galsvielle, Recherches sur le *Micr. tetrag. a* l'occasion d'un tétragène virulent reculli chez l'homme. (Arch. d. méd. expér. et d'anat. pathol. T. 11. 1896. No. 1.)
- 18) Karlinski, Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890.)
- 19) Kolle-Hetsch, Lehrbuch der experim. Bakteriologie und der Infektionskrankheiten.
- 20) Flügge, Die Mikroorganismen. 1896.
- 21) Müller, R., Wien. klin. Wochenschr. 1904. p. 815.
- 22) Stoerk, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 28, 34, 35.
- 23) Looten et Qui Dui, Infection puerpérale prolongée. Infection à tétragènes. (Ann. d. Gyn. et d'Obst. 1909.)
- 24) Chauffard et Ramond, F., Deux cas mortels de septicémie tetrag. (Arch. d. méd. expérim. 1896. No. 3.)
- 25) Fornaca, Contributo allo studio della setticemia da micrococco tetrageno nell'uomo. (Riform. med. 1903. No. 12.)
- 26) Ziegler, Kurt, Münch. med. Wochenschr. 1908.

- 27) Deleard, *Gaz. hebd. de méd.* No. 54. p. 637.
- 28) Brugnola, A., *Riform. med.* 1906. No. 35.
- 29) Lartigau, A. J., *Philadelphia Med. Journ.* Vol. 3. 1899.
- 30) Viquerat, *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 18.
- 31) Kapper, *Wien. med. Presse.* 1890. No. 27.
- 32) Steinhaus, *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 5. H. 3.
- 33) Kopfstein, *Ueber das Brusthöhlenempyem.* 1895.
- 34) Netter, *Bull. et Mém. Soc. méd. d. Hosp. d. Paris.* 1890.
- 35) Carrière, *Presse méd.* 1898. No. 88.
- 36) Pane, *Riform. med.* T. 3. No. 32.
- 37) Farisans et la Damany, *Semaine méd.* 1897.
- 38) Mattiolo, *La Clin. med. ital.* 1903. No. 7.
- 39) White, C. J., *Boston Med. a. Surg. Journ.* Vol. 141. 1899.
- 40) Pende, N., *Policlinico. Sez. Prat.* 1907. No. 27.
- 41) Arullani, P. J., *Gazz. d. Osped. e d. Clin.* 1905. No. 85.
- 42) Levy und Schrader, *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak.* Bd. 26. 1899.
- 43) Apert, *Sem. méd.* 1898.
- 44) Meltzer, *Münch. med. Wochenschr.* 1910. No. 14.
- 45) Park und Boswell, *Med. News.* Vol. 53. 1888.
- 46) Boni, *Gazz. Osped. e Clin.* 1906. No. 72.
- 47) Bertaux, *Bull. de méd. d. Prat. de Lille.* 1897.
- 48) Greiwe, Fächler, Mitchell and Hellmann, *Philadelph. Monthl. Med. Journ.* Vol. 1. 1899.
- 49) Bennoit, *Gaz. hebd. de méd.* 1898. No. 3.
- 50) Boschi und Belley, *Bull. d. sc. med. d. Bologna. Serie 7.* Vol. 8. 1897.
- 51) Sterling, S., *Centralbl. f. Bakt. Abt. I.* Bd. 19.
- 52) Albrecht und Ghon, *Ueber die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897.* (Denkschrift d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien. Bd. 66. T. III.)

Erklärung der Abbildungen.

I. Dünndarm.

- a) Zentrale Partien der Zotten mit Kokken und spärlichen Zellen.
- b) Spaltförmige Lücke zwischen Epithel und Tunica propria, reichlich Kokken enthaltend (beginnende Abhebung).
- c) Lückenbildung zwischen Muscularis mucosae und äußerer Muskulatur durch Kokkenansammlung.
- d) Zwei mit Kokken erfüllte Hohlräume (Lymphgefäße) im mesenterialen Fettgewebe.

II. Dünndarmschleimhaut in einem weiter vorgeschrittenen Stadium; Epithel zum größten Teil zugrunde gegangen.

- a) Vereinzelte erhaltene, aber degenerierte Epithelfetzen im freien Darmlumen.
- b) Freiliegende Darmdrüsen im Darmlumen.
- c) Verbreiterte äußere Schicht der Tunica propria mit Kernvermehrung und eingestreuten Kokken.
- d) Tunica propria ausschließlich aus einem zarten Netzwerk mit Kokken bestehend.
- e) Nahezu vollkommen geschwundene zentrale Anteile der Zotten.
- f) Abhebung der Muscularis mucosae von der Ringmuskulatur.

III. Leber.

- a) Helle Lücken mit Mikrokokken.
- b) Diffuse Zellansammlungen mit vorgeschrittener Atrophie der Leberzellbalken.
- c) Intraacinosöse Zellwucherung.

IV. Leber.

- a) Nekrotische Zellen mit dazwischen gelagerten Mikrokokken.
- b) Rundzellen, epitheloide Zellen, vereinzelte Leberzellen und Kerntrümmer.
- c) Granulationsgewebe.
- d) Gallengangswucherung.

V. Lymphdrüse mit schweren Veränderungen (Partie aus dem Hilus).

- a) Reste von erhaltenem adenoidem Gewebe um die Blutpforte.
- b) Helles zartes Netzwerk mit spärlichen Zellen und reichlichen Mikrokokken an Stelle des geschwundenen adenoiden Gewebes.
- c) Erhaltene Trabekel.

Nachdruck verboten.

Ueber das Bacterium metatyphi.

[Aus der I. med. Klinik der Universität München
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. v. Bauer).]

Von Dr. **M. Mandelbaum.**

Mit 4 Figuren.

Im Jahre 1907 habe ich in der Münchener medizinischen Wochenschrift von Krankheitsfällen berichtet, die klinisch das charakteristische Bild des Typhus abdominalis darboten und bei denen die serologischen Untersuchungsmethoden diese Diagnose bestätigten. Aus dem Blute sowohl als auch aus den Fäkalien dieser Patienten wurde von mir damals ein Bakterium isoliert, das ich als nahe verwandt mit dem Eberth-Gaffky'schen Bacillus bezeichnete. Wegen einiger von mir damals gefundener Abweichungen von dem echten Typhusbacillus habe ich das gefundene Stäbchen als artverschieden von eben diesem Krankheitserreger betrachtet und ihm zur Unterscheidung den Namen Metatyphusbacillus gegeben. Es handelte sich damals um etwa 12 Fälle, bei denen der Metatyphusbacillus gefunden wurde. Ich hatte damals schon meiner Vermutung Ausdruck gegeben, daß die Infektionsquelle für diese Erkrankungen eine gemeinsame sein mußte. In der der Publikation folgenden Zeit häuften sich nun die Typhusfälle, und es gelang mir in über 50 Fällen, aus dem Blute bzw. den Faeces der erkrankten Personen eben wieder diesen Metatyphusbacillus zu züchten. Auch der Herd der damaligen Typhusendemie wurde von mir ausfindig gemacht; es handelte sich um eine benachbarte Stadt Münchens, von der aus infizierte Milch hierher geliefert wurde, und es gelang Herrn Obermedizinalrat v. Gruber, bei einer Melkerin des von mir als verdächtig bezeichneten Gehöftes Metatyphusbacillen nachzuweisen. Diese Melkerin wurde als Dauerausscheiderin erkannt, und es ist zweifellos, daß alle Erkrankungen an Metatyphus auf diese Person zurückzuführen waren.

Es hat sich also das von mir als Metatyphusbacillus bezeichnete Stäbchen als äußerst infektiös erwiesen. Die Infektion ging zweifellos so vor sich, daß die Melkerin die Milch mit den in ihrem Darmschmarotzenden Metatyphusbacillen infizierte und Personen, die eben dieses infizierte Nahrungsmittel in ungekochtem Zustande zu sich nahmen, an Metatyphus erkrankten. Hervorheben will ich, daß bei der Pflege ihres durch Trinken von roher Milch an Metatyphus erkrankten Kindes eine Mutter sich ebenfalls diese Infektion zuzog, daß diese dann ihre erwachsene Tochter, die nun ihre Pflege übernahm, ebenfalls infizierte und von dieser wieder der Bruder die Infektion an derselben Erkrankung sich zuzog. Bei all diesen Patienten wurde der Metatyphusbacillus gezüchtet und als das krankmachende Agens erkannt. Durch 4 Passagen also hatte dieses Mikrobium seine Virulenz bewahrt, ohne daß sich die charakteristischen Eigenschaften, auf die ich später noch zu sprechen komme, änderten.

Es ist nicht uninteressant und für die Entstehung, sagen wir, dieser Typhusabart von Bedeutung, daß in den Faeces der oben erwähnten Melkerin neben den Metatyphusbacillen echte Eberth-Gaffkysche Bacillen gefunden wurden. Es muß hervorgehoben werden, daß die Personen, die durch den Genuß der rohen ungekochten Milch sich den

Typhus zuzogen, fast alle an Metatyphus erkrankten; d. h. aus dem Blute und den Faeces dieser Personen wurde ausschließlich nur der Metatyphusbacillus gezüchtet. Obwohl also die Bacillenträgerin zweifellos Typhusbacillen und Metatyphusbacillen in die Milch hineinbrachte, so führte der Genuß dieser doch meistens zu Erkrankungen, bei denen nur der Metatyphusbacillus isoliert wurde. Es hat sich also in diesen Fällen diese „Abart“ als infektionstüchtiger erwiesen als der gewöhnliche Typhusbacillus, sein Stammvater.

Bei meiner ersten Publikation (München. med. Wochenschr. 1907. No. 36) ist mir leider ein Versehen unterlaufen dadurch, daß es mir unbekannt war, daß im Laboratorium der I. med. Klinik nur Glycerinagar verwandt wurde. Es muß also in der Publikation stets statt „Agars bzw. Blutagars“ „Glycerinagar bzw. Blutglycerinagar“ gesetzt werden. Als ich damals die Wichtigkeit des Glycerins zur Differenzierung des Typhus- und Metatyphusbacillus erkannte, habe ich sofort brieflich all denen, die Stämme von mir verlangt hatten, hiervon Mitteilung gemacht und darauf hingewiesen, daß der Typhusbacillus bei Gegenwart von Glycerin Säure, der Metatyphusbacillus dagegen Alkali bildet. Es geht dies ja aus der Arbeit von Nieter ohne weiteres hervor. In einer weiteren Publikation (Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 48) habe ich nochmals ausdrücklich auf diesen Sachverhalt hingewiesen. Die Angaben über die Differenzen zwischen Typhus- und Metatyphusbacillus von Huber und Schottmüller sind also nach dieser Seite hin richtigzustellen.

Des weiteren erübrigt sich infolgedessen, näher auf die Arbeit von E. Müller „Variieren Typhusbacillen?“ einzugehen, da derselbe niemals Glycerinagar zu seinen Untersuchungen benutzte.

Ich will nun auf die in meiner ersten Publikation beschriebenen Abweichungen des Metatyphusbacillus von dem echten Eberth-Gaffky'schen Bacillus näher eingehen. Ich hebe nochmals hervor, daß das charakteristische Unterscheidungsmerkmal zwischen diesen beiden Mikroorganismen darin besteht, daß der Metatyphusbacillus bei Gegenwart von Glycerin Alkali, der Typhusbacillus dagegen Säure bildet. Hierauf sind alle von mir damals beschriebenen Erscheinungen zurückzuführen:

1) Beim Wachstum des Typhusbacillus auf Glycerinblutagar entsteht eine grünlich- bis braunschwarze Verfärbung des roten Blutfarbstoffes unmittelbar unterhalb der Kolonien des Oberflächenausstriches und in deren nächster Umgebung. Diese Verfärbung setzt sich proportional der Zeit auf die ganze Platte fort. Demgegenüber läßt der Metatyphusbacillus, oberflächlich auf eine Glycerinblutagarplatte ausgestrichen, den roten Blutfarbstoff der Erythrocyten unverändert in der Farbe. Es beruht dieser Unterschied, wie bereits erwähnt, darauf, daß der Typhusbacillus Säure bildet, die dann den roten Blutfarbstoff in der oben angegebenen Weise verändert, der Metatyphusbacillus dagegen Alkali, das den Farbenton des Hämoglobins unverändert läßt.

Auf einer gewöhnlichen Blutagarplatte, also ohne Zusatz von Glycerin oberflächlich ausgestrichen, bilden beide Stämme, Typhus- sowohl wie Metatyphusbacillus, Alkali, lassen also den roten Blutfarbstoff in bezug auf Farbe unverändert.

Nebenbei sei bemerkt, daß Coli und Paratyphus sich genau ebenso verhalten. Es ist also die Angabe von Huber, daß Paratyphusbacillen, auf der Blutagarplatte ausgestrichen, den Blutfarbstoff verändern, nicht richtig. Des weiteren ist es mir aus den oben angegebenen Gründen

unverständlich, daß bei den Untersuchungen von Dittborn und Luerssen so viele Typhus- bzw. Coli-Stämme beim Wachstum auf der Blutagarplatte so häufig den Blutfarbstoff verändert haben sollen. Ich habe in einer früheren Publikation schon darauf hingewiesen, daß die Verfärbung des Blutes beim Wachstum von Bakterien auf der Blutagarplatte auf Säurebildung beruht, während Alkalibildner den roten Blutfarbstoff in seiner Farbe unverändert lassen.

Ich habe dann weiterhin, um die Differenzen der Säure- bzw. Alkalibildung deutlich demonstrieren zu können, folgende Versuche gemacht:

2 Röhrchen 6-proz. Glycerinagars wurden flüssig gemacht, auf 50° C abgekühlt und nun zu denselben je 0,3 ccm einer 1-proz. alkoholischen Rosolsäurelösung zugefügt, durchgeschüttelt und zur Platte gegossen. Auf diesem Nährboden wachsen die Metatyphusbacillen dunkel, die Typhusbacillen hell (vgl. Fig. 1). Man kann ferner 2 Röhrchen Peptonwasser nehmen, hierzu Glycerin bringen und beide Röhrchen nun mit Typhus- bzw. Metatyphusbacillen beschicken. Nach mehrtägiger Bebrütung wird nun zu jedem Röhrchen 1 Tropfen Rosolsäurelösung hinzugefügt. Auch hier tritt deutlich die Differenz zwischen den beiden Mikroorganismen in Erscheinung, indem das eine Röhrchen einen roten Farbenton, das andere einen gelben deutlich erkennen läßt. Diese Eigenschaft des Typhusbacillus, bei Gegenwart von Glycerin Säure zu bilden, bleibt ebenso konstant wie die Fähigkeit des Metatyphusbacillus, bei Gegenwart dieses mehrwertigen Alkohols Alkali zu produzieren. Es sind jetzt 4 $\frac{1}{2}$ Jahre seit meiner ersten Publikation verstrichen. Seit dieser Zeit wurden einige Stämme des Metatyphusbacillus auf gewöhnlichem Agar im Laboratorium der I. med. Klinik weitergezüchtet. Die Stämme verhalten sich heute noch genau ebenso wie am Tage ihrer erstmaligen Züchtung.

Nieter, dem ich seinerzeit 3 Metatyphusstämmen auf Wunsch übersandte, hat in seiner im Jahre 1908 erfolgten Publikation diese charakteristische Differenz zwischen diesen beiden Mikroorganismen in vollem Umfange bestätigt. Die damals Herrn Stabsarzt Nieter zur Verfügung gestellten Stämme scheinen im Hygienischen Institute der Universität Halle fortgezüchtet worden zu sein; denn Stahr berichtet in einer Publikation aus dem Jahre 1910, daß er beim Wachstum der Metatyphusbacillen auf Glycerin-Rosolsäureagar ebenfalls die von mir für dieses Bakterium angegebene charakteristische Alkalibildung wahrgenommen hat. Also auch hier hat sich diese Eigenschaft als konstant erwiesen. Weiterhin entnehme ich aus einer Arbeit von Reiner Müller aus dem Jahre 1911 (Hygienisches Institut Kiel), der, wie er schreibt, 110 Typhusstämmen auf verschiedenen Nährböden prüfte, daß sich alle Stämme gleich verhielten, nur der sogenannte Metatyphus bildete auf Glycerin keine Säure, was alle anderen Stämme sehr ausgesprochen taten. Auch hier also war keine Aenderung in der chemischen Aktivität dieses Stäbchens nach 4 Jahren eingetreten. Es ist also an der Konstanz des Befundes, daß Typhusbacillen in der Gegenwart von Glycerin Säure, Metatyphusbacillen dagegen Alkali bilden, gar nicht zu rütteln. Es ist dies das Hauptunterscheidungsmerkmal dieser beiden Mikroorganismen.

2) Als weiteres Differenzierungsmerkmal habe ich mitgeteilt, daß beim Wachstum von Metatyphusbacillen auf Glycerinagar Kristalle in dem Nährboden ausfallen, während dieselben beim Beimpfen dieser Platte mit Typhusbacillen vermißt werden. Dieser Arbeit sind Diapositive solcher ausgefallenen Kristalle beigegeben. Auch heute noch ist der angegebene Befund jederzeit beim Wachstum des Metatyphusbacillus auf

Glycerinagar in unserem Laboratorium zu beobachten. Wieso es anderen Nachuntersuchern nicht geglückt ist, diese Kristalle zu erhalten, kann ich leider nicht angeben. Vielleicht liegt es an der Verschiedenheit des zur Herstellung der Nährböden benützten Wassers. Diese Kristallbildung ist jedoch ebenfalls wiederum darauf zurückzuführen, daß der Metatyphusbacillus auf Glycerin Alkali, der Typhusbacillus dagegen Säure bildet; denn benützt man statt Glycerinagar gewöhnlichen Agar, so lassen sowohl Typhusbacillen als auch Coli-Bacillen genau ebenso wie Metatyphusbacillen Kristalle aus dem Nährboden ausfallen. Die Kristallbildung beruht also auf Alkalibildung durch die Bakterien. Nicht uninteressant dürfte folgende Beobachtung sein:

Läßt man solche alkalibildende Kulturen lange Zeit stehen, und zwar so lange, daß eine Ueberimpfung dieser Kulturen nicht mehr angeht, mit anderen Worten, daß diese Mikroben abgestorben sind, und streicht nun diese toten Bakterienleiber auf eine sterile Platte aus, stellt sodann die Platte 24 Stunden in den Bruttofen, so findet man nach dieser Zeit längs des Impfstriches kein Bakterienwachstum, wohl aber eine ganze Reihe ausgefallener Kristalle. Es läßt dieser eigentümliche Befund doch wohl die Schlußfolgerung zu, daß es vielleicht nicht allein die Alkalibildung ist, die Veranlassung gibt zum Ausfallen der Kristalle, sondern daß in den Bakterienleibern selbst vielleicht eine Substanz vorhanden ist, die, in Berührung gebracht mit dem Nähragar, solche Kristalle ausfallen läßt. Die Kristallbildung ist also keine spezifische Eigenschaft des Metatyphusbacillus.

3) Ebenso wenig ist die Braunfärbung des vorher hellen Agars eine spezifische Eigentümlichkeit des Metatyphusbacillus, sondern es vermag

Erste Abt. Orig. Bd. 68.

Heft 1.

4



Fig. 2. Diapositive von ausgefallenen Kristallen.



Fig. 3. Diapositiv von ausgefallenen Kristallen.

genau so wie dieses Bakterium jeder andere Alkalibildner diese Umwandlung herbeizuführen. Die Tatsache also, daß der Metatyphusbacillus beim Wachstum auf Glycerinagar diesen braun verfärbt, der Typhusbacillus dagegen hell läßt, besteht zu Recht, beruht aber lediglich wiederum darauf, daß bei der chemischen Zersetzung des Glycerins der eine Alkali, der andere Säure bildet.

Es geht aus dem oben Gesagten unzweifelhaft hervor, daß sich der Metatyphusbacillus vom Typhusbacillus durch sein verschiedenes Verhalten dem Glycerin gegenüber abtrennen läßt. Die weitere Frage, die sich ergibt,

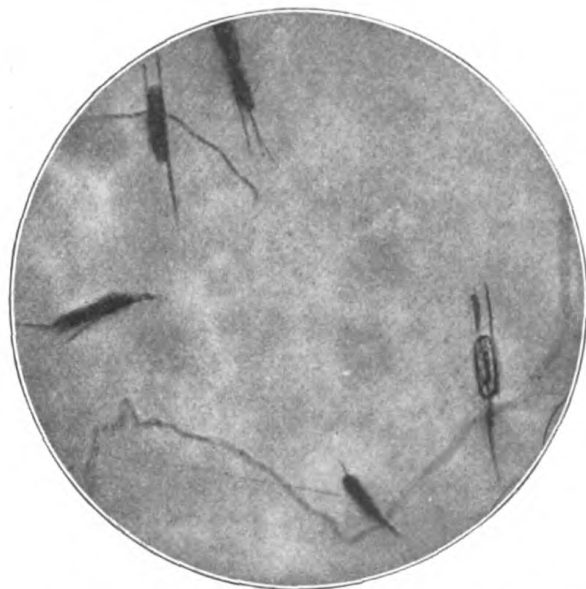


Fig. 4. Diapositiv von ausgefallenen Kristallen.

wäre folgende: In welchem Verhältnis steht der Metatyphusbacillus zum Typhusbacillus? Wenn man in Erwägung zieht, daß im Kote der oben genannten Typhusbacillenträgerin beide Mikroorganismen gefunden wurden, und daß es besonders der Metatyphusbacillus war, der in einer großen Anzahl zu Erkrankungen an Typhus abdominalis führte, so ergeben sich daraus zwei wichtige Schlußfolgerungen: Erstens wird dadurch ohne weiteres die Ansicht von Russowici widerlegt, der annimmt, daß sich beim Metatyphusbacillus um eine degenerative Form des Eberth-Gaffkyschen Bacillus handelt; denn der

Metatyphusbacillus war so wenig degeneriert, daß gerade er, obwohl doch Eberth-Gaffkysche Bacillen ebenfalls in den Faeces der Bacillenträgerin nachgewiesen werden konnten, zu den damaligen Erkrankungen führte, ja daß er sogar, wie wir oben schon erwähnt, bei einer Serie von 4 Personen die Ursache zu den schweren Typhen war.

Zweitens wird die Annahme nicht von der Hand zu weisen sein, daß es sich bei der Entstehung des Metatyphusbacillus um eine Mutation des echten Eberth-Gaffkyschen Bacillus im menschlichen Körper handelt. Es soll nochmals auf die Tatsache hingewiesen werden, daß es eine Bacillenträgerin war, von der aus diese Metatyphusepidemie ihren Ausgangspunkt nahm und daß in den Faeces dieser Person beide Mikrobenarten gefunden wurden. Es wäre also denkbar, daß der echte Eberth-Gaffkysche Bacillus bei seinem langen Verweilen im menschlichen Körper andere biologische Eigenschaften erworben und diese erworbenen Eigenschaften beibehalten hat. Was eigentlich zu dieser Mutation führt, ob bakterizide Körpersubstanzen oder aber antagonistische Einflüsse anderer Bakterien, kann nicht entschieden werden. Sicher ist aber, daß diese Aenderung einer früher vorhandenen Eigenschaft sich als konstant erwiesen hat. Des weiteren wäre noch folgende Beobachtung zu erwähnen: Einzelne Stämme des Metatyphusbacillus zeigen bei längerer Fortzucht auf Glycerinagar deutliche Bildung von Tochterkolonien, wie sie Reiner Müller für Typhusbacillen und andere Mikroorganismen

beschrieben. Untersucht man nun solche Tochterkolonien, so findet man, daß dieselben aus Bakterien bestehen, die sich in allen Punkten genau so verhalten wie Typhusbacillen. Es sind also aus den Metatyphusbacillen durch langes Wachstum auf Glycerinagar wieder Typhusbacillen entstanden. Es würde dieser Vorgang als Remutation zu bezeichnen sein. Die richtige echte Mutation, d. h. die Umwandlung von Typhusbacillen, die aus Glycerin Säure zu bilden vermögen, in eine Art, die bei Gegenwart von Glycerin Alkali bildet, war im menschlichen Körper vor sich gegangen. Diese mutierten Typhusbacillen, von mir Metatyphusbacillen genannt, behielten ihre Eigenschaft, aus Glycerin Alkali zu bilden, auch bei der Passage durch 4 weitere Menschenkörper, bei denen sie eine Infektion veranlaßten. Und auch heute noch, nach einer 4 $\frac{1}{2}$ -jährigen künstlichen Weiterzüchtung auf Agar, ist diese Eigenschaft noch vorhanden. Wenn also bei einzelnen Stäbchen von Metatyphusstämmen die Fähigkeit aus Glycerin Säure zu bilden, wiederum zum Durchbruch kommt, so ist dies nicht eine neue Mutation, sondern gewissermaßen ein Atavismus, d. h. eine früher bereits bestandene Eigenschaft ist wieder zum Vorschein gekommen. Es ist nun interessant, daß es gerade die sekundär sich bildenden Tochterkolonien von Metatyphusbacillen beim Wachstum auf Glycerinagar sind, welche diese Remutationserscheinungen aufweisen. Es legt diese Erscheinung den Gedanken nahe, ob nicht jede Bildung von Tochterkolonien nicht eine Mutation, sondern eine Remutation ist. Als ganz sicher möchte ich dies von den Tochterkolonien des *Bacterium coli mutabile* und von denen des *Bacterium typhi mutabile* behaupten; denn auch bei diesen beiden Mikroorganismen verhalten sich die Tochterkolonien so wie ihre Stammväter, das gewöhnliche *Bacterium coli* bzw. *Bacterium typhi*.

Der Metatyphusbacillus ist also nach meiner Ansicht der nächste Verwandte des Typhusbacillus, aus diesem durch Mutation im menschlichen Körper hervorgegangen. Er unterscheidet sich von ihm dadurch, daß er bei Gegenwart von Glycerin Alkali bildet. Ob man nun den Metatyphusbacillus, als besondere Species oder Abart oder Varietät oder Typ bezeichnen will, ist mir gleichgültig. Für den Praktiker ist die Erkrankung, hervorgerufen durch Metatyphusbacillus, eben ein Typhus abdominalis und soll es auch sein. Für den Bakteriologen jedoch ist es ein vom Typhusbacillus scharf zu unterscheidendes Stäbchen. Ich glaube also trotz Schottmüller auch heute noch Grund zu haben, den Metatyphusbacillus als Abart des Typhus zu bezeichnen.

Ich will noch kurz auf die Nomenklatur, die Lehmann besonderen Schmerz bereitet zu haben scheint, eingehen: Es ist wohl allgemein anerkannt, daß der Name Paratyphus nicht gerade glücklich gewählt war; denn der Paratyphusbacillus steht bekanntlich dem *Bacterium coli* in seiner morphologischen und epidemiologischen Beziehung näher als dem Typhusbacillus. Wie das *Bacterium coli* kommt er außer beim Menschen häufig als Erreger von Tierseuchen vor. Der Typhusbacillus dagegen vermehrt sich nur im menschlichen Körper. Wenn es nun von dem Standardtyp des Typhusbacillus, wie ihn seinerzeit Eberth-Gaffky beschrieben haben, und wie er bei den meisten Typhuserkrankungen gefunden wird, bei einer Anzahl von Fällen abweichende Arten gibt, so glaube ich, daß es „für bakteriologische Begriffe doch nicht so ganz unsinnig“ ist, wenn man diese Abarten dadurch kennzeichnet, daß man vor ihren Namen eine allerdings aus der Chemie herübergenommene Präposition wie Meta, Para setzt. Es bildet dann die konstante, am meisten vorkommende Art eben den Kern (Orthostellung — daß ich mit Ortho-

4*

typhus den bekannten Eberth-Gaffkyschen Bacillus, nicht eine neue Abart bezeichnete, scheint Lehmann übersehen zu haben), um den sich die von diesem Kern in Einzelheiten abweichenden Varietäten gruppieren, die eben dann durch Vorsetzung eines Meta oder Para mit dem dazu gehörigen Eigennamen als abweichend, aber gleichzeitig zur Gruppe gehörend, gekennzeichnet werden. Daß der Metatyphusbacillus sich serologisch von dem Typhusbacillus nicht trennen läßt, kann nicht weiter verwundern. Handelt es sich doch um ein direkt aus dem Typhusbacillus hervorgegangenes Stäbchen, das wie dieser nur beim Menschen parasitiert, also Wirtswechsel nicht durchmacht. Man darf hier keine Parallele ziehen zwischen den leicht veränderlichen agglutinogenen Eigenschaften des Paratyphusbacillus und den konstant bleibenden agglutinogenen Eigenschaften des Typhusbacillus; denn nur so ist es erklärlich, daß Bakterien, die sich kulturell und morphologisch genau so verhalten, wie der Paratyphusbacillus, sich serologisch von diesem trennen lassen, eben wegen der äußerst leichten Veränderlichkeit der agglutinogenen Eigenschaften der Paratyphusgruppe, und umgekehrt, daß eine biologisch vom Typhusbacillus zu trennende Abart, der Metatyphusbacillus, sich serologisch genau so verhält wie der Typhusbacillus eben wegen der Konstanz des agglutinogenen Verhaltens der Typhusgruppe.

Daß unter Umständen die Erkennung einer vielleicht an und für sich geringfügige Abart große praktische Bedeutung haben kann, lehrt gerade die Geschichte des Metatyphusbacillus. Denn dadurch, daß man bei jener Bacillenträgerin, die Veranlassung gab zu einer ungefähr 7 Jahre lang andauernden Typhusepidemie in München, eben wiederum den Metatyphusbacillus fand, der ja auch bei den während dieser Endemie erkrankten Personen gefunden wurde, war man zur vollen Sicherheit gekommen, hier die Infektionsquelle vor sich zu haben.

Es erübrigt jetzt nur noch, auf die Verbreitung des Metatyphusbacillus näher einzugehen. Daß ich diesen Mikroorganismus hier in München so häufig fand, ist kein Wunder, da die Erkrankungen auf ein und dieselbe Infektionsquelle zurückzuführen waren. Sonst scheint der Metatyphusbacillus nicht sehr häufig verbreitet zu sein. So hatte Reiner Müller unter seinen 110 daraufhin geprüften Typhusstämmen nur einen Metatyphus, der noch dazu aus dem hiesigen Institut bezogen war. Ferner konnte Nieter unter seinen Typhusstämmen keinen Metatyphus finden; dagegen berichtet Russowici, daß er unter 6 Stämmen einen gefunden, der die charakteristischen Merkmale des Metatyphus aufwies. Auch Ditthorn und Luerssen hatten zwei Stämme, die auf der Rosolsäureglyzerinagarplatte einen rosa bzw. roten Hof erkennen ließen. Diese Stämme hatten also ebenfalls aus Glycerin Alkali gebildet und sind zweifellos als Metatyphusstämmen anzusprechen. Daß es Stämme gibt, die in den ersten Tagen Alkali, später aber Säure bilden bei Gegenwart von Glycerin, ist nicht verwunderlich, es handelt sich eben hier um sogenannte Uebergangsstämme oder aber um Stämme, die, im Körper mutiert, auf der Glycerinagarplatte sich remutieren.

Zusammenfassung.

Der Metatyphusbacillus unterscheidet sich vom Typhusbacillus dadurch, daß er bei Gegenwart von Glycerin Alkali bildet. Er wächst also auf der Rosolsäureglyzerinagarplatte rot, der Typhusbacillus gelb; auf der Blutglyzerinagarplatte läßt er, oberflächlich ausgestrichen, den roten Blutfarbstoff unverändert, der Typhusbacillus dagegen bildet braune Höfe.

Der Metatyphusbacillus ist jedenfalls durch Mutation im Menschenkörper aus dem Typhusbacillus hervorgegangen. Einen Typhusbacillus in einen Metatyphusbacillus umzuwandeln, gelingt nicht. Der Metatyphusbacillus kann beim Wachstum auf Glycerinagar Tochterkolonien bilden, die sich wie Typhusbacillen verhalten, also remutiert wurden.

Der Metatyphusbacillus ist keine degenerierte Abart des Typhusbacillus, sondern vielleicht noch infektionstüchtiger als dieser.

Der Metatyphusbacillus scheint keine weitere Verbreitung zu haben. Es wäre darauf zu achten, ob er nicht häufiger bei chronischen Bacillenträgern zu finden ist.

Literatur.

- Mandelbaum, München. med. Wochenschr. 1907. No. 36.
 —, München. med. Wochenschr. 1909. No. 48.
 Nieter, München. med. Wochenschr. 1908. No. 17.
 Russowici, München. med. Wochenschr. 1908. p. 2507.
 Dithorn u. Luerßen, Centralbl. f. Bakf. Abt. I. Orig. Bd. 49. p. 558.
 Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. p. 97.
 Schottmüller, Lehrbuch f. innere Med. von Mohr u. Stähelin 1911.
 Lehmann u. Neumann, 1912. p. 348.
 Huber, Monographie über Paratyphus.
 Müller, E., Variieren Typhusbacillen? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. p. 209.)

Nachdruck verboten.

Observations sur les corpuscules de la vaccine.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par B. Galli-Valerio.

Avec 4 figures.

Les observations de Renaut¹⁾, de Van der Loeff²⁾ et de Pfeiffer³⁾, observations qui ont attiré l'attention sur des corpuscules particuliers qu'on peut rencontrer dans les affections vaccino-variéoleuses, ont été l'origine de l'importante découverte de Guarnieri⁴⁾, qui le premier a eu l'idée d'essayer la culture du virus de la vaccine et de la variole sur la cornée du lapin. Il a pu ainsi décrire exactement les corpuscules qu'il a appelé *Cytorhyctes vaccinae* et *C. variolae*, plus ordinairement connus sous la dénomination de corpuscules de Guarnieri. Cette découverte, confirmée tout de suite après par Monti⁵⁾ et par Piana et moi, non seulement pour la variole mais aussi pour la Horse-pox⁶⁾, l'a été ensuite par un très grand nombre d'observateurs. Mais tandis que pour les uns les corpuscules de Guarnieri étaient spécifiques des affections vaccino-variéoleuses, pour les autres ils pouvaient être déterminés par différentes substances irritantes,

1) Ann. de dermat. et syphil. 1881.

2) Monatsh. f. prakt. Dermat. 1887.

3) Corresp.-Blätter d. allg. Aerzte-Ver. v. Thüringen. 1887.

4) Arch. per le scienze med. 1892.

5) Rend. d. soc. med.-chir. di Pavia. 1894 et Berlin. med. Wochenschr. 1894.

6) Riforma med. No. 126. Giugno 1894 et Moderno Zooiatro 1894. Dans ces travaux, outre la description de corpuscules particuliers que nous avons trouvés dans ces pustules variéoleuses et considérés comme des formes probables des corps de Guarnieri, nous avons signalés dans les coupes des pustules colorées au carmin et à l'hématoxyline, la présence de corpuscules fortement colorés, en bonne partie endocellulaire.

agissant sur la cornée du lapin. Peu à peu pourtant, la nature spécifique de ces corpuscules recevait complète confirmation, surtout après l'important travail de von Wasielewski¹⁾; mais tandis que pour les uns ils représentaient un élément parasitaire, pour les autres ils n'étaient que des corpuscules spécifiques déterminés par le parasite encore inconnu des affections vaccino-varioleuses. Les choses en étaient là, lorsque parut un travail de Bosc²⁾ attirant l'attention sur des inclusions cellulaires, qu'il appelle formes d'apparence bactérienne ou corpuscules chromatiques, parfois tellement petites «qu'elles constituent un point à peine visible avec les plus forts grossissements mais qui est rendu plus facile à percevoir par la zone hyaline qui l'entoure». Ce sont ces corpuscules qui en se développant, vont, suivant Bosc, à constituer les corpuscules de Guarnieri, qui augmentent de dimension et mettent ensuite en liberté les corpuscules chromatiques. Les constatations de Bosc, ont été le point de départ des importantes recherches de v. Prowazek. Dans une série de travaux³⁾ cet observateur a décrit dans le virus de la variole et de la vaccine et surtout dans les pustules déterminées à la cornée du lapin avec ces virus, des corpuscules particuliers qu'il a appelé «Initialkörper».

Ce sont des corpuscules très petits ($1 \times \frac{1}{2} - 1 \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \mu$), légèrement ovoïdes, le plus souvent par deux, et entourés d'une auréole claire. Dans les pustules à la cornée du lapin, ils sont au début disséminés dans le protoplasma des cellules et parfois même dans le noyau; plus tard on peut en trouver dans les corpuscules de Guarnieri. Dans un travail successif⁴⁾, fait en collaboration avec de Beaurepaire Aragao, v. Prowazek a filtré sur un filtre en papier couvert d'agar, une émulsion de virus varioleux passée à travers une Berkefeld et ayant coloré les frottis faits avec le matériel resté sur le filtre, il y a trouvé des corpuscules colorés en rouge, plus petits que des microcoques et se multipliant par division.

Les observations de v. Prowazek ont été confirmées par Mühlens et Hartmann⁵⁾.

En même temps que v. Prowazek, d'autres observateurs faisaient des constatations analogues.

Ainsi Paschen⁶⁾ examinant la lymphe vaccinale recoltée sur l'enfant et sur la veau, y constatait la présence de corpuscules très nombreux et très petits, parfois disposés par deux et doués de mouvements très rapides. Ces corpuscules pouvaient être colorés, en les traitant par le procédé de Volpino-Levaditi. Plus tard Paschen⁷⁾ a trouvé ces corpuscules même dans la clavelée, où de petits corpuscules différents des corps de Guarnieri avaient déjà été signalés par Bosc⁸⁾ et, en même temps que par Paschen⁹⁾, par moi.

Casagrandi¹⁰⁾, traitant des pustules et de la pulpe vaccinale par

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 38. 1901. p. 212.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904. p. 39.

3) Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 19; Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 22. 1905 u. Bd. 26. 1907.

4) München. med. Wochenschr. 1908. No. 44.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 41.

6) München. med. Wochenschr. 1906. p. 2391.

7) München. med. Wochenschr. 1908. No. 48.

8) Arch. de méd. expér. T. 13. 1901. p. 253.

9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 31.

10) Ann. d'ig. sperim. Vol. 16. 1906. p. 577.

le Volpino-Levaditi et le Giemsa, y trouvait des granulations d'une finesse extrême, granulations qui passent à travers les Berkefeld W. Dans des coupes des pustules, colorées au Giemsa, il a trouvé ces corpuscules entre et dans les cellules.

Dans trois travaux successifs, Volpino¹⁾ étudiant à l'ultra-microscope les pustules vaccinales à la cornée du lapin, a trouvé dans des cellules gonflées, des corpuscules clairs, très mobiles, de $\frac{2}{10} \mu$ en amas ou disséminés dans le protoplasma.

On les trouve déjà après 30 heures, mais ils ne sont en amas qu'après 48 à 70 heures. Parfois, ils sont disposés en couronne autour des corps de Guarnieri, et parfois il y en a de libres dans les espaces intracellulaires. Colorés au Giemsa très dilué (1 goutte sur 15 c. c. d'eau) ils se colorent en rouge-violet et apparaissent un peu plus longs que larges, plusieurs disposés par deux. En les étudiant en goutte pendante, il les a vu garder leur mobilité pendant 8 à 12 jours et au 4^e-5^e jours les a vu apparaître dans des cellules jusqu'alors indemnes.

Bormans²⁾, a retrouvé les mêmes corpuscules décrits par Volpino dans le Horse-pox.

Avant de discuter la nature des corpuscules décrits par les différents observateurs à côté ou indépendamment des corps de Guarnieri, j'exposerai le résultat de mes recherches personnelles, faites au courant de ces dernières années, sur le vaccin de l'Institut vaccinogène de Lausanne, et sur les pustules déterminées à la cornée du lapin par l'inoculation de ce même vaccin³⁾.

I. Vaccin.

Une partie a été examinée telle quelle ou après trituration dans le triturateur Félix, diluée dans de la solution physiologique stérile. Une autre partie a été examinée après filtration sur bougie Silberschmidt, en suivant la technique de Negri⁴⁾.

a) Vaccin non filtré.

1) Examen direct à frais (ob. imm. hom. 2 mm, oc. comp. 12): Corpuscules ronds ou piriformes, réfringents, généralement plus petits que des microcoques (0,5—0,7—1 μ), à mouvements d'oscillation sur place. Ils sont isolés, mais surtout en petits amas, parfois à l'intérieur des cellules épithéliales. Par ci par là on trouve des corpuscules ronds ou ovoïdes, immobiles, qui contiennent 2—3—4 des corpuscules précédemment cités. Dans plusieurs cas, j'ai trouvé avec ces corpuscules, de petites masses protoplasmiques pâles, granuleuses. Elles présentaient des mouvements amiboïdes, à la température de la chambre (+ 17°). Ces corps amiboïdes, ont déjà été signalés par Piana et moi en 1894⁵⁾ dans des pustules varioleuses, et nous avons pensé à des formes de développement des corps de Guarnieri. Il est fort probable, qu'il ne s'agit que de masses protoplasmiques analogues aux Hémokonia.

2) Examen à frais à l'ultramicroscope: Très nombreuses granulations très brillantes sur fond noir, de 0,5—1 μ présentant de vifs mouvements d'oscillation. Plusieurs de ces granulations sont à l'intérieur de cellules épithéliales.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 46. 1908. p. 322; Bd. 49. 1909. p. 157; Bd. 51. 1909. p. 518.

2) Pathologica. Sept. 1909.

3) Le vaccin m'a été fourni par M. Félix, directeur de l'Institut vaccinogène de Lausanne, que je remercie vivement ici.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906. p. 327.

5) Travaux cités.

3) Examen à l'encre de chine (1:3): On voit se détacher de fines granulations brillantes sur fond noir.

4) Examen des frottis colorés: Les frottis de vaccin, fixés à l'alcool méthylique, ont été colorés soit au Leishman, soit au Giemsa (1 goutte dans 10 c. c. d'eau pendant 24 heures): Fines granulations, colorées en rouge, disséminées ou en amas. Elles se distinguent nettement des microcoques, qui sont plus gros et colorés en violet foncé.



Fig. 1. Gross. 1:1000.



Fig. 2. Gross. 1:2250.



Fig. 3. Gross. 1:2250.



Fig. 4. Gross. 1:2250.

Des frottis couverts de nitrate d'argent à 3% et laissés exposés à la lumière diffuse, présentent ces mêmes granulations en brun foncé.

b) Vaccin filtré.

J'ai trouvé dans le liquide passé à travers la bougie Silberschmidt, des granulations analogues à celles trouvées dans le vaccin non filtré, mais très peu nombreuses. L'inoculation à la cornée d'un lapin, pratiquée avec ce liquide, n'a pas déterminé de pustule.

II. Pustules vaccinales à la cornée du lapin.

1) Examen du raclage à frais à l'ultramicroscope: Innombrables corpuscules ronds et piriformes, brillants, à légers mouvements d'oscillation. Plusieurs grosses cellules épithéliales en contiennent un grand nombre (fig. 1). Ces corpuscules, surtout abondants au début de la pustulation, se font plus rares à la fin, où apparaissent de plus en plus nets les corpuscules de Guarnieri.

2) Examen des frottis colorés: Ces frottis, fixés et colorés comme les frottis de vaccin, présentent des fins corpuscules ronds ou piriformes colorés en rouge, se détachent nettement sur le protoplasma rosé de la cellule. Ils apparaissent presque toujours entourés d'une auréole claire (fig. 2). Dans plusieurs cellules on trouve ces corpuscules à l'intérieur de corps de Guarnieri, colorés en rouge plus pâle (fig. 3). Dans des cellules contenant des corps de Guarnieri très gros, on constate parfois encore dans ceux-ci la présence de très fines granulations à coloration plus foncée (fig. 4).

Des examens identiques, faits en raclant la cornée normale de lapins, et dans un cas, la cornée qui avait été inoculée sans résultat avec le vaccin filtré, ne m'ont jamais rien montré d'analogue aux corpuscules que je viens de décrire.

Mes recherches donc, confirment celles des précédents observateurs, sur la présence dans la vaccine de petits corpuscules qui semblent précéder et accompagner la formation des corps de Guarnieri. Mais qu'elle est l'interprétation que nous devons donner de ces corpuscules, qu'on ferait bien d'englober sous la dénomination d'«Initialkörper» proposée par v. Prowazek?

Pour v. Prowazek, les corpuscules qu'il a décrit, sont fort probablement les agents spécifiques des affections vaccino-varioleuses, tandis que les corps de Guarnieri seraient le résultat de la métamorphose régressive de la substance du noyau des cellules épithéliales sous l'influence de l'agent spécifique. A leur tour, Paschen, Casagrandi, Volpino, considèrent les corpuscules qu'ils ont décrit, comme les agents des autres; Volpino, sépare les siens de tous les autres, surtout à cause de leurs dimensions. Au contraire, Paschen, considère ses corpuscules identiques à ceux de v. Prowazek, et ce dernier dans un spécificité des affections vaccino-varioleuses. L'accord serait donc complet entre tous les observateurs au point de vue de la nature des corpuscules qu'ils ont décrit, mais le désaccord commence, quand il s'agit de savoir si les formes décrites par les uns et par les autres, sont ou non identiques. Ainsi Casagrandi, considère ses corpuscules comme différents travail fait avec Yamamoto¹⁾, conclut qu'il n'y a pas de distinction valable entre les différents «Initialkörper» qu'on a décrit. A pareille conclusion, arrive aussi Hartmann²⁾ dans un travail d'ensemble.

De la lecture des différents travaux parus sur cette importante question, et de mes observations personnelles, je crois pouvoir conclure, que les corpuscules signalés par les différents observateurs dans les affections vaccino-varioleuses, sont bien identiques. La petitesse et la variabilité de forme de ces corpuscules, rend difficile une description et une comparaison exactes. Suivant les moments où l'observation est pratiquée, on se trouve en présence de formes plus ou moins grosses,

1) München. med. Wochenschr. 1909. p. 2627. — Bull. de l'Institut. Pasteur. 1910. p. 168.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 47. 1910. p. 94. Beiheft.

plus ou moins mobiles, différemment localisées dans le protoplasma des cellules épithéliales. Mais nous pouvons souvent voir ces formes se succéder les unes aux autres, comme le démontrent aussi mes observations, et comme du reste Volpino lui-même¹⁾ est disposé à l'admettre, quand il considère le virus des affections vaccino-varioleuses constitué par deux formes: Une végétative, qui se multiplie vite dans les cellules (les corpuscules de Volpino) et une plus résistante (les Initialkörper de v. Prowazek) destinée à être englobée par les produits de réaction de la cellule, qui vont à constituer les corps de Guarnieri.

La constatation que j'ai faite dans mes observations, de la présence de granulations plus abondantes au début qu'à la fin de la pustulation vaccinale cornéale, de la présence successive de plusieurs de ces granulations dans les corps de Guarnieri, dans lesquels elles semblent parfois subir de nouvelles transformations (multiplication? formation des corpuscules chromatiques de Bosc?) qui nous les montrent sous forme de granulations plus fines, parlerait bien en faveur d'un cycle dans le développement des corpuscules des affections vaccino-varioleuses. Le corps de Guarnieri donc, tel que nous le voyons à son développement complet, ne serait réellement qu'une enveloppe englobant les agents parasitaires, qui seraient donc de véritables Chlamydozoaires, dans le sens de v. Prowazek. Cette enveloppe, et la variété de dimensions présentée par le virus, expliquerait difficulté et échecs qu'on a de filtrer sur bougie et surtout sur certaines bougies le virus des affections vaccino-varioleuses.

Résumé.

1° De la comparaison des différents travaux et de mes recherches personnelles, je crois que les corpuscules décrits par différents observateurs dans les affections vaccino-varioleuses, à côté des corps de Guarnieri, doivent être rapportés à une forme unique qu'on peut englober sous le nom d'«Initialkörper» de v. Prowazek.

2° Ces corpuscules sont très vraisemblablement les agents spécifiques des affections vaccino-varioleuses et leur action sur la cellule épithéliale, donne lieu à la formation des corps de Guarnieri qui les englobent.

Lausanne, 4 décembre 1911.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der pathogenen Blastomyceten.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Turin
(Direktor: Prof. Dr. Pagliani).]

Experimentelle Untersuchungen²⁾.

Von Dr. Giuseppe Sangiorgi, Assistenten.

Der schon großen Reihe der für Menschen und Tiere pathogenen Blastomyceten, die in allgemeinen Uebersichten von Vuillemin (1901), Gedoelst (1902), Gueguen (1904) und Harter in seiner bekannten Arbeit „La Blastomycose humaine“ (1909) zusammengefaßt und analysiert worden sind, möchte ich einen aus dem Organismus eines Hundes

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 197.

2) Bericht mit Demonstration von Präparaten an die R. Accademia di Medicina von Turin, Sitzung vom 12. Januar 1912.

isolierten pathogenen *Cryptococcus* hinzufügen, welcher sich bei der Untersuchung auf seine biologischen Eigenschaften hin *in vitro* und *in vivo* als eine von den in der Literatur bisher bekannten differenzierbare biologische Wesenheit zeigte.

Morphologische Charaktere: Es ist ein Blastomycet, der in den verschiedensten Nährsubstraten fast immer dieselben Charaktere beibehält. Die typische Gestalt, die man fast auf allen festen und flüssigen Nährsubstraten trifft, ist die eiförmige oder ellipsoidische; die kugelförmige Gestalt ist viel weniger häufig und wird nur auf alten, festen Böden angetroffen. Die Größenverhältnisse schwanken im Durchschnitt von 4—6 μ bis auf 3—5 μ . Im allgemeinen sind die Größenverhältnisse bedeutender in den festen als in den flüssigen Böden. Die Vermehrung geschieht durch Sprossung. Letztere geht in der Weise vor sich, daß sich an einer Extremität der großen Achse der Zelle ein Knopf bildet, der sich später von der Mutterzelle abtrennt: Auf festen Böden bildet sich gewöhnlich ein einziger Knopf, aber in den flüssigen kann ein Knopf je an beiden Polen der Mutterzelle nicht selten beobachtet werden. Außer der typischen eiförmigen Gestalt treten oft in jungen, festen Nährsubstraten fadenförmige Elemente auf; letztere sind manchmal zu 2—3—4 gereiht, aber echte Fäden werden nie gefunden. Endosporenbildung trat nie auf.

Biologische Charaktere: Der Keim wächst auf alkalischen, neutralen und sauren Nährsubstraten. Wachstum findet entweder bei Zimmertemperatur oder bei Bruttemperatur statt. Das Wachstum bei der letzteren ist aber auf sauren Böden besser.

a) Kulturen auf festen Böden. In Nährgelatine geht das Wachstum langsam, aber üppig vor sich; die Kultur vertieft sich in den Boden unter Bildung schöner Verzweigungen. Das Medium wird, selbst nach einem 90-tägigen Wachstum, nicht verflüssigt. Auf der Oberfläche von Agar-Agar, Blutagar, erstarrtem Pferdeserum ist das Wachstum gewöhnlich langsam und gering. Auf Agar nach Sabouraud vermehrt sich der Keim sehr üppig unter Bildung eines feuchten, sahnenförmigen Belages. In Laktose-Agar wächst der Keim nur an der Oberfläche des Mediums. Auf Kartoffeln fängt das Wachstum schon nach 36—48 Stunden an; es ist sehr üppig und bildet einen dicken Belag, der sich in einigen Tagen über die ganze Oberfläche des Mediums verbreitet. Der Belag ist sahnenförmig, feucht am unteren, dagegen trocken und staubartig, körnig im oberen Teile des Mediums, je nach dem Einflusse, den die Wasserverdunstung auf den unteren Teil der Kartoffel ausübt.

b) Kulturen in flüssigen Böden: In Bouillon ist die Vermehrung gering, der Boden bleibt klar; keine Häutchenbildung an der Oberfläche. In Peptonwasser entsteht keine Indolbildung. In Glycerinbouillon ist das Wachstum üppig; ein bedeutender Niederschlag bildet sich, die Kultur haftet zum Teil an den Wänden des Röhrchens; keine Häutchenbildung an der Oberfläche. Milch kommt erst nach 27—30-tägigem Verweilen im Brutschrank zur Gerinnung; beim Schütteln wird das Gerinnsel nicht zerstört.

c) Kulturen in mineralischen Böden: In der Raulinschen Flüssigkeit findet der Keim kein geeignetes Nährsubstrat für seine Vermehrung, doch bleibt er darin lange lebendig; wird er aus diesem Medium auf Kartoffeln übertragen, so findet üppiges Wachstum statt.

d) Kulturen in zuckerhaltigen Böden: Laktose, Glukose, Maltose, Dextrin, Inulin (2 Proz. der Bouillon zugesetzt) werden nicht angegriffen. Saccharose wird nur wenig invertiert.

Der Blastomycet erzeugt fast in allen Nährsubstraten eine gelb-orange Färbung; nur in Agar nach Sabouraud und Blutagar bekommt die Färbung eine rosige resp. weißgraue Nuance. Wird der Keim von diesen Nährsubstraten auf Kartoffeln übertragen, so erhält er seine charakteristische Färbung wieder. Letztere wird von der Temperatur und vom Sonnenlicht nicht verändert.

Cytologische Charaktere: Bei der Untersuchung von frischen Präparaten kann man einzelne Bestandteile des Keimleibes unterscheiden. Die Membran spielt eine wichtige Rolle für die Bestimmung der Blastomyceten; in den flüssigen Nährsubstraten tritt sie als ein zarter, lichtbrechender Rand um den ganzen protoplasmatischen Leib hervor. Sie wird dicker in festen, jungen, noch mehr in älteren Böden. Die Streifung wird durch Toluidinblau und Neutralrot sichtbar. Der Kern, der vom größten Teile der Autoren angenommen wird, tritt im Innern des Protoplasmas als eine dicke, kreisförmige, lichtbrechende Masse hervor. Die Größenverhältnisse der letzteren sind gering im Verhältnisse zu dem des protoplasmatischen Leibes.

In den eiförmigen Zellen liegt der Kern fast immer an einem der Pole, dagegen bei den runden im Mittelpunkte. Durch Giemsa-Lösung wird der Kern intensiv rot gefärbt, so daß er in dem blaugefärbten Protoplasma sehr auffällt. Das Protoplasma der Blastomyceten ist dadurch interessant, daß es das Studium der metachromatischen Körperchen, des Glykogens und der Fettkörperchen ermöglicht. Die metachromatischen Körperchen werden durch Toluidinblau rot gefärbt; sie haben brownianische Bewegungen und liegen in Vakuolen um den Kern. Durch Lugol-Lösung habe ich bei den aus alten Kulturen stammenden Keimen kleine Massen von Glykogen und durch Fixierung mit 1-proz. Osmiumsäure mehr oder weniger zahlreiche Fettkörperchen zur Darstellung bringen können.

Der Hund, aus dessen Leber ich den Blastomyceten isolierte, wurde Ende Juni 1911 getötet. Die 5 Monate lang gemessene Temperatur zeigte in irregulären Zeiträumen Steigerungen zwischen 39,5 und 40° C. Vier Blutuntersuchungen, die ich während der Temperatursteigerung machte, gaben im Durchschnitt die folgenden Ergebnisse, aus welchen eine ausgesprochene, mononukleäre Leukocytose festzustellen ist: Erythrocyten 6000000, W. 18500, kleine Lymphocyten 18 p. 100, große und mittelgroße Mononukleäre 31 p. 100, Polynukleäre 50,5 p. 100, Eosinophile 0,5 p. 100. Interessant ist die Tatsache, daß ich den Keim im peripherischen Blute während der Temperatursteigerung zur Darstellung bringen konnte. Im Blute tritt der Keim als eine kleine, kreisförmige, sprossende Zelle auf. Nichts Besonderes zeigten makro- und mikroskopische Untersuchungen der inneren Organe bei der Obduktion des Tieres. Nichtsdestoweniger war die Pathogenität des Blastomyceten auf Grund seines spontanen Vorhandenseins¹⁾ im Organismus des Hundes und seines Kultivierungsvermögens bei Bluttemperatur gerechtfertigt.

Experimentelle Untersuchungen.

Die Laboratoriumstiere wurden auf verschiedene Weise geimpft, und zwar endovenös (Kaninchen), subkutan (Hund, Kaninchen, Meerschwein-

1) Ich bin geneigt, anzunehmen, daß in unserem Falle der Blastomycet in dem Organismus des Hundes durch den Verdauungstrakt eingedrungen ist. Die Tatsache, daß der Verdauungstrakt die Eingangspforte von Blastomyceten eventuell sein kann, ist wohl aus der Literatur bekannt (Harter, Le Dantec, Mercier, Cao etc.). Die von mir zur Erzielung der Blastomycetenverbreitung im Organismus des Hundes durch subkutane Einspritzung hergestellten Versuche fielen negativ aus (s. Experiment 2).

chen, Ratte, Maus), endoperitoneal (Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte, Maus), endoparenchymal (Hund), endovulvar (Meerschweinchen), in die vordere Kammer des Auges (Kaninchen). Zur Impfung bediente ich mich einer Emulsion im sterilen physiologischen Serum von aus Kartoffeln stammender Kultur. Ich will nicht eingehend über sämtliche Beobachtungen, sondern nur über die erzielten Ergebnisse berichten.

Meerschweinchen, Ratten und Mäuse zeigten sich unempfindlich gegen meinen Blastomyceten.

Experiment 1. Hund. Der Keim wurde in die Leber des Tieres geimpft, um das Bild der spontanen Affektion zu erzielen. Am 12. Tage nach der Impfung steigerte sich die Temperatur auf $39,7^{\circ}$ C. Bei der Prüfung der durch Lebermaterial hergestellten Ausstrichpräparate waren zahlreiche blastomycetische Zellen vorhanden. Am 30. Tage vermehrten die von der Leber auf Kartoffeln übertragenen Keime sich sehr üppig. Eine Blutuntersuchung stellte auch in diesem Falle eine ausgesprochene Mononucleosis fest: R. 6500000, W. 17000, kleine Lymphocyten 20 p. 100, große und mittelgroße Mononukleäre 25 p. 100, Polynukleäre 54,7 p. 100, Eosinophile 0,3 p. 100. Die nach 100 Tagen ausgeführte Obduktion war hinsichtlich der makro- und mikroskopischen Veränderungen der inneren Organe negativ.

Experiment 2. Hund. Subkutane Impfung. Keine Veränderungen an der Impfstelle. Die zur Feststellung einer eventuellen Verbreitung des Keimes im Organismus des Tieres angestellten Untersuchungen fielen negativ aus.

Experiment 3. Kaninchen. Subkutane Impfung. Bildung eines Geschwürs, das am 6. Tage die Größe einer Haselnuß erreichte. Auf dem Schnitte fließt ein grauer, geruchloser Eiter unter dem Fingerdruck ab. Derselbe besteht bei der mikroskopischen Untersuchung aus Leukocyten und Blastomyceten, die eine Reinkultur des chromogenen Blastomyceten erzeugen, wenn sie auf Kartoffel übertragen werden. Spontane Heilung am 10. Tage.

Experiment 4. Kaninchen. Intravenöse Impfung. Negatives Ergebnis.

Experiment 5. Kaninchen. Endoperitoneale Impfung. Am 15. Tage nach der Einspritzung wird aus der Bauchhöhle eine opaline Flüssigkeit herausgezogen, die bei der mikroskopischen Prüfung von Frischpräparaten aus weißen Elementen und eiförmigen, nicht selten fadenförmigen, granulierten, sprossenden Blastomycetenzellen besteht. Phagocytose wurde bei vielen weißen Elementen häufig angetroffen. Die von der Bauchhöhle aus auf Kartoffeln übertragene Flüssigkeit erzeugt eine reine Kultur des Blastomyceten. Das Tier, das schon ausgesprochen mager geworden ist, wird am 40. Tage getötet. Bei der Obduktion enthält die Bauchhöhle eine bedeutende Menge (ungefähr 200 ccm) von Flüssigkeit. Die Blastomyceten scheinen zwar vermindert zu sein, sind aber noch lebendig, wie ihr üppiges Vermehrungsvermögen auf Kartoffel erkennen ließ. Keine makro- und mikroskopischen Veränderungen der inneren Organe.

Experiment 6. Kaninchen. Bei diesem Exemplar werden bei endoperitonealer Einspritzung alle Verhältnisse des Experimentes 5 durchaus bestätigt. Außerdem geht das Tier am 32. Tage unter einer auffallenden Abmagerung spontan zugrunde.

Experiment 7. Kaninchen. Impfung in die vordere Kammer des Auges. Entstehung eines grauen Knötchens, welches zwischen dem 4. und 5. Tage einen Durchmesser von ungefähr 2 mm erreicht. Bei der Untersuchung der durch Knötchenmaterial hergestellten frischen und Ausstrichpräparate werden die Keime zur Darstellung gebracht, welche imstande sind, wieder eine reine Kultur in vitro zu erzeugen. Der Knoten wächst nicht weiter, sondern verschwindet unter allmählicher Verkleinerung am 7.—11. Tage.

Aus der experimentellen Studie geht also deutlich hervor, daß es sich um einen für Hund und Kaninchen pathogenen Blastomyceten handelt; die Pathogenität für den Hund wird durch die Temperatursteigerungen, die ausgesprochene mononukleäre Leukocytose und das Auftreten des Keimes in der Blutbahn erklärt. Das Kaninchen scheint viel empfindlicher zu sein, denn das Tier geht bei Impfung in die Bauchhöhle zugrunde. Die botanische Klassifikation dieser Mikroorganismen ist bekanntlich nur vom morphologischen Gesichtspunkte aus möglich, da die biologischen Eigenschaften sehr inkonstant sind. Die aus der Literatur bekannten, für Menschen und Tiere pathogenen Blastomyceten bilden eine Sammlung von Formen, die dieselbe Vermehrungsweise in den Geweben gemein haben. Diese Tatsache rechtfertigt die allgemeine Nomenklatur „Blastomyceten“. Aber in den Nährsubstraten weisen die verschiedenen Blastomyceten auffallende Unterschiede auf; die einen sind

echte Blastomyceten im wahren Sinne des Wortes; sie treten nämlich in den Nährsubstraten als sprossende Zellen auf (*Cryptococcus*); die anderen besitzen einen komplizierteren, vegetativen Apparat (Endosporen, Mycelium, Hyphen) und nähern sich den Saccharomyceten, *Oidium*, *Hyphomyceten*. Mein Blastomycet dürfte ein *Cryptococcus* sein, weil er sowohl in den Geweben als auch in den Nährsubstraten in Gestalt einer sprossenden Zelle auftritt; bei einigen alten Kulturen waren wohl fadenförmige Keime vorhanden, aber nie echte Fadenbildung. Demnach traten nie Endosporen (im Nährsubstrat nach *Gorodobka*) auf.

Zum Schlusse sollen die wichtigsten Merkmale dieses Blastomyceten festgestellt werden:

1) Es handelt sich um einen chromogenen Blastomyceten, der sich entweder bei Zimmertemperatur, oder bei Bruttemperatur auf alkalischem, neutralem oder saurem Nährsubstrat vermehrt. Die Vegetation auf Kartoffeln, Agar nach *Sabouraud*, in Nährgelatine, in Glycerinbouillon, in Milch, *Gorodobka's* Flüssigkeit ist sehr üppig, gering dagegen in Bouillon, Laktoseagar, Peptonwasser, *Raulin's* Flüssigkeit, auf Agar-Agar, Blutagar und Pferdeserum.

2) Milch kommt erst spät (nach 27—30 Tagen) zur Gerinnung; Gelatine wird nicht verflüssigt; keine Indolbildung; Laktose, Glukose, Maltose, Dextrin, Inulin werden nicht angegriffen; Saccharose wird wenig invertiert.

3) Der Keim ist pathogen für Hund und Kaninchen; die pathogene Wirkung auf diese Tiere zeigt sich dadurch, daß er im Hunde Temperatursteigerungen und ausgesprochene mononukleäre Leukocytose, im Kaninchen Geschwüre, Knotenbildung und selbst den Tod (bei intraperitonealer Einspritzung) verursacht.

4) Der Keim ist auf Grund seiner morphologischen Merkmale (bleibende einfache sprossende Zelle in den Nährsubstraten als auch in den Geweben) für einen echten Blastomyceten (*Cryptococcus*) zu halten.

Literatur.

- Geddoelst, *Les champignons parasites de l'homme et des animaux*. Bruxelles 1902.
 Gueguen, *Les champignons parasites de l'homme et des animaux*. Paris 1904.
 Harter, *La blastomycose humaine*. Nancy 1909.
 Vuillemin, *Les blastomycetes pathogènes*. (Rev. d. scienc. pur. et appl. 1901.)

Nachdruck verboten.

Die Vitalität der *Leishmania Donovanii* in Berührung mit den Bakterien des Verdauungstraktus der Flöhe und Wanzen¹⁾.

[Aus der Kgl. Medizinischen Klinik der Universität Rom: Vorst. Prof. G. Baccelli (Abt. f. Tropenkrankh.: Leitender Arzt Dr. U. Gabbi).]

Von Dr. Francesco Scordo.

Die Möglichkeit der Uebertragung der Leishmaniose durch die Flöhe und die Wanzen ist gegenwärtig für die Kala-Azar-Forschung von großem Interesse, und da diese Frage noch ungelöst ist, kommt einem jeden, wenn auch bescheidenen Beitrage zu derselben eine gewisse Bedeutung zu.

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl, Turin.

Ich habe auf Anraten meines Lehrers eine Reihe von Versuchen über diesen Gegenstand ausgeführt und will über dieselben hier kurz berichten.

Eine der Bedingungen dazu, daß die *Leishmania Donovanii* von den erwähnten Tieren auf den Menschen übertragen werden kann, ist die, daß der Parasit, wenn er in den Verdauungsapparat dieser Tiere gelangt ist, keine Hindernisse zu seinem Leben und seiner Entwicklung antrifft. Alle Autoren, welche die *Leishmania* kultiviert haben, werden jedenfalls von der äußerst großen Vulnerabilität dieses Parasiten überzeugt sein, und beobachtet haben, daß sich ein Nährsubstrat, in welchem Keime anderer Art vorhanden sind, zum Leben und zur Entwicklung der *Leishmania* nicht eignet. Hierüber sind wohl die Autoren einig.

Es drängt sich nun die Frage auf, ob die *Leishmania Donovanii* im Verdauungskanal eines Flohes oder einer Wanze gegen den schädlichen Einfluß Widerstand leisten können, den die reiche Darmflora mit allergrößter Wahrscheinlichkeit auf sie ausüben wird. Wenn bei den gebräuchlichen Nährsubstraten, auf welchen die *Leishmania Donovanii* lebt und sich üppig entwickelt, die geringste Verunreinigung genügt, um die Entwicklung des Keimes zu hemmen, so fragt es sich, welches Schicksal diesem vorbereitet ist, wenn er in ein so keimreiches Milieu gelangt, wie es der Verdauungstraktus der erwähnten Insekten ist. Die sonstigen Verhältnisse sind allerdings ganz andere, und es ist bei weitem noch nicht nachgewiesen, daß das, was in dem Nährboden eines Glasröhrchens geschieht, notwendigerweise auch in dem Verdauungskanal eines Insekts geschehen muß; in beiden Fällen spielt jedoch eine und dieselbe Unmöglichkeit der Symbiose eine Rolle.

Ich möchte hier betonen, daß besonders das Nicollesche Nährsubstrat einen äußerst günstigen Entwicklungsboden für die *Leishmania Donovanii* darstellt, wenigstens soweit aus den Lebensäußerungen dieser zu urteilen ist. Dies habe ich erwähnt, damit man nicht eine verminderte Widerstandsfähigkeit der *Leishmania* gegen die Bakterien und gegen ihre Stoffwechselprodukte in dem genannten Nährsubstrat anführen kann.

Man könnte vielleicht die Möglichkeit einer Symbiose der *Leishmania* mit den Keimen der Darmflora der in Frage stehenden Insekten annehmen. Diese Annahme, welche aus mehreren leicht begreiflichen Gründen schon a priori sehr unwahrscheinlich scheint, halte ich aber auf Grund meiner Versuche für durchaus unbegründet.

Ich habe drei Reihen von Proben ausgeführt. Erstens isolierte ich aus dem Darne der Wanzen und Flöhe zahlreiche Bakterienarten — an Kokken und Bacillen im ganzen 57 — und setzte jede einzelne Art je einem Röhrchen mit einer vollentwickelten Kultur von *Leishmania Donovanii* zu. Obwohl die Entwicklung der *Leishmania* vorher oft eine sehr üppige war, nahm infolge des Bakterienzusatzes die Zahl der *Leishmaniae* allmählich ab, diese büßten ihre lebhafteste Beweglichkeit ein und schließlich starben sie und verschwanden gänzlich.

Diesen Befund beobachtete ich in der großen Mehrzahl der Fälle; in einigen wenigen Röhrchen blieb die Kultur am Leben, die Zahl der *Leishmaniae* nahm aber bedeutend ab, und die Keime zeigten eine starke Verminderung ihrer sonst lebhaften Beweglichkeit.

Diese wenigen Ausnahmen berauben keineswegs die allgemeine Regel ihres Wertes. Andererseits muß man bedenken, daß sich das Nicollesche Nährsubstrat höchstwahrscheinlich nicht als Nährboden für alle Bakterienarten eignet, und es wäre durchaus nicht die Möglichkeit

auszuschließen, daß einige der zugesetzten Bakterienarten einen mehr oder minder großen Teil ihrer Virulenz eingebüßt hätten und infolgedessen nicht mehr imstande gewesen wären, die *Leishmaniae* entwickelungshemmend zu beeinflussen.

Bei anderen Bakterienarten kann der Umstand eine Rolle spielen, daß die Temperatur von 20—22° C nicht die für ihre Entwicklung am meisten geeignete ist.

Auf diese und vielleicht auf andere noch unbekannte Faktoren sind höchstwahrscheinlich die wenigen erwähnten Ausnahmen zurückzuführen. Wie dem auch sei, es ist sicher, daß in den Röhren, denen die Bakterien zugesetzt wurden, die Entwicklung der *Leishmaniae*, wenn sie nicht aufhörte, doch jedenfalls im Vergleich zur Norm eine sehr schwache war.

Bei einer weiteren Reihe von Versuchen habe ich den Nicolleschen Nährboden zu gleicher Zeit mit *Leishmaniae* und mit ganz kleinen Mengen des Wanzen- resp. Flohdarminhaltes besät. Der Befund war in bezug auf die Entwicklung der *Leishmaniae* stets negativ. Nach kurzem nahm die Entwicklung der gewöhnlichen Bakterienarten ab, und man beobachtete unter dem Mikroskop entweder überhaupt keine oder nur vereinzelte regungslos daliegende *Leishmaniae*.

Bei einer dritten Reihe von Versuchen wurde der Nicollesche Nährboden zu gleicher Zeit mit *Leishmaniae* und mit aus dem Darmerwähnten Insekten isolierten Bakterien besät. Auch hier war der Befund in bezug auf die Entwicklung der *Leishmaniae* stets negativ.

Jede Reihe von Versuchen war sehr zahlreich, da ich fast alle isolierten Keimarten prüfte.

Welche andere Möglichkeit, außer den erwähnten, könnte man noch annehmen? Wir haben gesehen, daß, wenn sich der zugesetzte Keim schwach entwickelt, die *Leishmania* noch eine gewisse Vitalität aufweisen kann. Kann man aber annehmen, daß der Verdauungskanal der Flöhe und Wanzen ein für die Entwicklung der Bakterien ungeeignetes Substrat darstellt, während in demselben, wenigstens soweit aus meinen Untersuchungen hervorgeht, die Bakterien äußerst zahlreich vertreten sind?

Müssen wir annehmen, daß es Wanzen und Flöhe gibt, in deren Magendarmkanal die Bakterien ganz spärlich oder nur vereinzelt vorhanden sind? Ich kann diese Frage nicht durchweg verneinend beantworten; man braucht jedoch, meines Erachtens, nur an die Lebensverhältnisse dieser Insekten zu denken, um eine solche Möglichkeit wenigstens als sehr unwahrscheinlich betrachten zu können. Jedenfalls ist dieselbe, wenn sie überhaupt vorliegt, eine so beschränkte, daß sie außer acht gelassen werden kann.

Nachdruck verboten.

Gordius als Parasit des Menschen.

Von F. Zschokke, Basel.

Durch die gütige Vermittlung des Herrn Professor E. Hedinger in Basel gelangte ich in den Besitz eines Gordius, der einem 2 $\frac{1}{2}$ -jährigen Knaben in Derendingen bei Solothurn zugleich mit einigen Exemplaren von *Oxyuris per anum* abgegangen war. Die Bestimmung ergab, daß es sich um ein junges männliches Exemplar von ungefähr 17 cm Länge der Art *Gordius aquaticus* L. handelt. Nach der Entleerung aus dem Darmkanal lebte der Wurm noch drei Tage in einem mit Wasser gefüllten Fläschchen; er bewegte sich besonders lebhaft, wenn

er von der Dunkelheit an das Licht gebracht wurde. *Gordius aquaticus* ist in den Bächen und Brunnen des Schweizer Jura und der Hochebene die häufigste Art der Gattung.

Ueber den Patienten und die durch den Parasiten hervorgerufenen Krankheitserscheinungen gibt mir der behandelnde Arzt Herr Dr. med. Herzog-Isch in Solothurn folgenden, sehr verdankenswerten Aufschluß.

Seit mehreren Wochen war der Kranke nervös gereizt und schrie nachts plötzlich auf; er klagte auch über Leibschmerzen. Appetit und Stuhlgang waren normal; Koliken bestanden nicht, doch soll einmal, etwa fünf Wochen vor dem Abgang des Wurmes, ziemlich viel Blut entleert worden sein. Seit der Entfernung der Parasiten ist der Schlaf des Patienten ruhiger geworden und die volle Munterkeit wiedergekehrt. Da gleichzeitig mit der *Gordius*-Infektion Oxyuriasis bestand, wird es schwierig sein zu entscheiden, welche der beobachteten Symptome der Gegenwart des einen oder anderen Schmarotzers zur Last fallen. Für die Beantwortung der Frage nach dem Infektionsweg verdient die Angabe Beachtung, daß der infizierte Knabe die Gewohnheit hatte, Wasser aus dem Troge eines Ziehbrunnens zu trinken.

Genügend verbürgte Nachrichten über das Vorkommen von *Gordius* im Menschen gehören zu den Seltenheiten. Immerhin kennt die helminthologische Literatur eine Anzahl Fälle, die den gelegentlichen Parasitismus von Gordien im menschlichen Darmkanal außer Frage stellen. In seinem *Traité de Zoologie médicale* zählt R. Blanchard im Jahre 1890, und noch fünf Jahre später, im *Traité de Pathologie générale*, nur fünf wirklich sichere Fälle des Parasitismus von *Gordius* im Menschen auf; denn die von dem genannten Autor ebenfalls zitierten Angaben von Aldrovandi und Gay (*G. chilensis* in Indianern) tragen den Stempel der Unsicherheit. Im Jahre 1897 konnte R. Blanchard¹⁾ der Académie de médecine in Paris ein etwa 30 cm langes, lebendes Exemplar von *Gordius tricuspídatus* (L. Dufour) vorweisen, das 14 Tage vorher von einem 15-jährigen Knaben durch den Mund abgegeben worden war.

C. Parona erhielt 1901 einen 28,5 cm langen *Parachordodes* (*Gordius*) *pustulosus* Baird aus dem Darm einer 45-jährigen Frau aus Lodi. Der Wurm mag etwa drei Monate lang im Menschen gelebt haben; er wurde mit Faeces per anum entleert. 9mal wurde, nach Parona, *Gordius* als Parasit des Menschen mit ausreichender Sicherheit festgestellt²⁾. Auch spätere Autoren wie M. Braun (*Die tierischen Parasiten des Menschen*, Würzburg 1903) und J. Guiart und L. Grimbert (*Précis de diagnostic chimique, microscopique et parasitologique*, Paris 1906) wissen von keinen weiteren Fällen des Schmarotzertums von Gordien im Menschen zu berichten.

Von den neun Fällen betreffen drei Italien, drei Frankreich, je einer Oesterreich, Bayern und Nordamerika. Dazu gesellt sich nun das für die Schweiz gemeldete Vorkommnis. 4 von den 10 Parasitentägern hatten das 10. Lebensjahr noch nicht erreicht; ein weiterer Wirt wird ausdrücklich als Kind bezeichnet, einer zählte 15, einer 22 Jahre; mindestens 7 waren männlichen Geschlechts. So scheint der Wurm besonders häufig bei Knaben in den ersten 12 bis 15 Lebensjahren zu parasitieren. 5mal wurde der Schmarotzer durch den Mund und ebenso oft durch den After entleert.

1) Blanchard, R., Pseudoparasitisme d'un *Gordius* chez l'homme. (*Bull. Acad. médecine*, Paris, 18 mai 1897.)

2) Parona, C., Altro caso di pseudoparassitismo di Gordio nell'uomo. (*Clinica medica*. 1901. No. 10.)

Die verschiedensten Arten der Gattung *Gordius* scheinen sich zum parasitischen Aufenthalt im menschlichen Darmkanal zu eignen. Außer dem weitverbreiteten und fast überall häufigen *G. aquaticus* L. fanden sich im Menschen *G. villoti* Rosa, *Paragordius varius* Leidy, *P. tricuspидatus* L., *Parachordodes tolosanus* Duj., *P. pustulosus* Baird und *P. violaceus* Baird.

Alle Berichte stimmen darin überein, daß die Anwesenheit von *Gordius* im Verdauungstraktus die Symptome einer Helminthiasis in bald höherem, bald geringerem, oft kaum fühlbarem Maße hervorruft. Magenstörungen und Krämpfe, das Gefühl eines in der Speiseröhre oder im Darm sich bewegenden und den Platz wechselnden Körpers, Koliken, aber auch nervöse Erscheinungen und hysteriforme Zufälle werden als die gewöhnlichsten Kennzeichen einer Infektion mit *Gordius* genannt. Die Anzeichen der Wurmkrankheit verlieren sich sofort und vollständig nach der Entleerung des Parasiten. Eine gewisse medizinische Bedeutung erhält *Gordius* für den Menschen durch den Umstand, daß seine Gegenwart im Darmkanal sich über Wochen und Monate erstrecken kann.

R. Blanchard schätzt die Dauer der Infektion in dem von ihm beschriebenen Fall auf etwa 14 Tage; C. Parona spricht sogar von einer Krankheitsdauer von 3 Monaten, und auch in dem jüngst in der Schweiz beobachteten Fall dürfte der Parasitismus in dem jugendlichen Patienten einige Wochen gewährt haben.

Der Infektionsweg tritt noch nicht vollkommen klar zutage; immerhin läßt er sich aus der Lebensweise und dem Entwicklungsgang des Parasiten, sowie aus den Gewohnheiten der Parasitenträger mit großer Wahrscheinlichkeit erschließen.

Die ausgewachsenen, geschlechtsreifen Vertreter der Gattung *Gordius* leben als langgestreckte, fadenförmige Würmer frei in klaren stehenden und fließenden Gewässern. Quellen, Brunnen und Bäche werden bevorzugt. Dem Wasser vertrauen sie die Eier an. Die mit einem hakentragenden Rüssel bewehrten Jugendstadien bohren sich in wasserbewohnende Insektenlarven ein, um, in die Gewebe dieser ersten Wirte eingeschlossen, einen Larvenzustand zu durchlaufen. Mit ihren Wirten werden die jungen Gordien von Raubinsekten verzehrt, und in der Leibeshöhle des zweiten Wirtes wachsen die Parasiten zu den typischen Fadenwürmern heran. Später verlassen sie in aktiver Wanderung die neue Herberge und gehen zum freien Leben im Wasser über.

Die größte Wahrscheinlichkeit spricht dafür, daß Gordien zufällig mit Trinkwasser auf den Menschen übertragen werden können, sobald sie ihren zweiten Wirt, das Raubinsekt, verlassen haben. Auch langgestreckte Exemplare von *Gordius* wickeln sich häufig zu sehr wenig umfangreichen Klümpchen zusammen, die mit Trinkwasser leicht den Schlund des Menschen passieren können. In der Tat wurde *Gordius*-Infektion in der Regel bei Personen beobachtet, die die Gewohnheit hatten, aus Bächen und Brunnen zu trinken. Die Großzahl der Parasitenträger sind, wie betont wurde, jugendliche Individuen, besonders Knaben.

Für das Schmarotzertum auch im ausgewachsenen Zustand ist die in der Jugend parasitierende Gattung *Gordius* vortrefflich vorbereitet. Die das Tier umhüllende starke Chitindecke bietet genügenden Schutz gegen die Verdauungssäfte des Wirtes. Jeder Zoologe kennt die Unempfindlichkeit der Gordien gegenüber in sehr weiten Grenzen sich bewegenden Temperaturschwankungen und die Fähigkeit der genannten

Würmer, der Austrocknung lange Zeit zu trotzen. Die auffallend große Eurythermie gestattet es dem Bewohner kalter Bäche und Quellen, auch im warmen Darmkanal des Menschen weiterzuleben.

Gegen Sauerstoffentzug verhält sich *Gordius* indifferent. Er erfüllt so eine zweite, wichtige Vorbedingung für den Uebergang zum Darmschmarotzertum.

Bei seinen Untersuchungen über das Sauerstoffbedürfnis der Schlammbewohner und über die Atmung der Würmer benützte G. v. Bunge¹⁾ als Versuchsobjekt auch *Gordius aquaticus*. Er stellte für diesen Wurm ein eigentümliches Verhalten fest. In sauerstofffreiem Medium wird das Tier bald bewegungslos. Bringt man nach 24 Stunden den Wurmkörper wieder in atmosphärische Luft, so erwacht er aus dem Scheintod und bewegt sich in der früheren, lebhaften Weise. *Gordius* erweist sich als resistent gegen Sauerstoffentzug.

Es erfüllen sich somit die Vorbedingungen, um aus den Gordien Darmbewohner zu machen. Einstweilen hat *Gordius* als zufälliger Schmarotzer, als Pseudoparasit, des Menschen zu gelten. Sein Verhalten wirft indessen einiges Licht auf den Weg, den die Natur einschlug, um aus gelegentlichen Gästen echte Parasiten herauszubilden.

Nachdruck verboten.

Ueber die negative Phase.

[Aus dem Hygienischen Institut (Geh.-Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer) und der Kinderklinik (Prof. Dr. Tobler) der Kgl. Universität Breslau.]

Von

Dr. Georg Bessau,

und

Dr. Bernhard Paetsch,

Assistenzarzt der Kinderklinik.

Oberarzt beim Grenadier-Regim. König Friedrich III. (2. Schles.) No. 11, kommandiert zum Hygienischen Institut der Universität.

Ueber die Existenz der negativen Phase ist viel gestritten worden. Sie gehört zu den theoretisch wie praktisch wichtigsten Problemen der Immunitätsforschung, und es wäre sehr wünschenswert, wenn in dieser bedeutsamen Frage endlich eine Einigung der Autoren erzielt werden könnte.

Wir wissen, daß im Reagenzglase sich Antigen und Antikörper nach bestimmten Gesetzen beeinflussen, und es liegt sehr nahe anzunehmen, daß auch im Tierkörper eine derartige Beeinflussung stattfindet. Bei näherem Studium der Bindungsverhältnisse zwischen Antigen und Antikörper im Reagenzglase erkennt man aber, daß zur spezifischen Absorption der Antikörper enorme Antigendosen notwendig sind. Der eine von uns²⁾ hat erst kürzlich Versuche über die Erschöpfbarkeit des Typhusimmunserums mitgeteilt, aus denen hervorgeht, eine wie intensive Behandlung mit Typhusbacillen selbst bei einem stark verdünnten Typhusimmunserum notwendig ist, um aus der Serumverdünnung einigermaßen vollständig die Bakteriolytine herauszuziehen. Wenn im tierischen Or-

1) v. Bunge, G., Ueber das Sauerstoffbedürfnis der Schlammbewohner. (Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 12. 1888.) — Weitere Untersuchungen über die Atmung der Würmer. (Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 14. 1889.)

2) Bessau, G., Verliert das Typhusimmunserum durch Ausfällung mit Typhusbacillen seine schützende Wirkung im Pfeifferschen Versuch? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59. 1911.)

ganismus die Absorptionsverhältnisse ähnlich liegen, so könnte eigentlich nur die Injektion ganz enormer Bakterienmengen eine negative Phase hervorrufen.

Ueber das Zustandekommen einer negativen Phase sind die Ansichten der Autoren sehr geteilt. Daß nach Injektion außerordentlich großer Antigendosen gelegentlich eine Absenkung der Antikörperkurve eintritt, scheint unzweifelhaft festzustehen (Ehrlich, Salomonsen und Madsen, Jörgensen und Madsen, v. Dungern). Doch scheint selbst bei sehr großen Dosen die Antikörperverminderung nicht konstant nachweisbar zu sein. So sahen Ehrlich und Morgenroth bei der Immunisierung einer Ziege mit Hammelblut nach der Injektion von 350 ccm Blut keine Herabsetzung des Hämolysingehalts. Wie nun aber auch im einzelnen die Verhältnisse bei Injektion großer Antigendosen liegen mögen, bedeutungsvoll ist allein die Frage, ob relativ kleine Antigendosen imstande sind, eine negative Phase hervorzurufen. Die Bedeutung dieser Frage für die Praxis ist ohne weiteres einleuchtend, theoretisch würde, wenn die Frage zu bejahen wäre, die interessante Tatsache resultieren, daß die Bindungsverhältnisse im Tierkörper wesentlich von denen im Reagenzglase verschieden seien.

Die vorliegende Frage wird in erster Linie von Wright bejaht. Wright gibt dem Gesetz der negativen Phase allgemeine Gültigkeit; er glaubt, daß nach der Injektion selbst kleiner Vaccindosen dieses Phänomen konstant zu beobachten ist. Seine experimentellen Studien stützen sich allerdings zum größten Teil auf Reagenzglasversuche, deren Resultate keine bindenden Schlüsse auf die Vorgänge im Organismus erlauben.

Demgegenüber betonten R. Pfeiffer und Friedberger¹⁾, daß es — rein praktisch genommen — nicht darauf ankommt zu zeigen, daß nach einer Antigeninjektion irgendwelche Antistoffe im Blutserum eine quantitative Verminderung erfahren, wofern nicht der Nachweis erbracht ist, daß tatsächlich mit dieser Verminderung eine erhöhte Infektionsempfänglichkeit verknüpft ist. Diese allein hat bei der Praxis der Immunisierung Bedeutung. Die genannten Autoren prüften deshalb direkt, ob nach Einverleibung selbst hoher Mengen von abgetöteten Bakterien eine erhöhte Empfänglichkeit des vakzinierten Individuums gegenüber der betreffenden Infektion im Tierexperiment festzustellen ist. Obgleich diese Autoren mit absichtlich ganz unverhältnismäßig hohen Impfdosen arbeiteten, konnten sie keine erhöhte Empfänglichkeit der Versuchstiere beobachten, sondern sahen vielmehr, daß die Tiere gegenüber der nachfolgenden Infektion widerstandsfähiger waren, eine Erscheinung, die sie wegen ihrer Unspezifität als Resistenz deuteten. Hiernach dürfte der negativen Phase — wenigstens im Tierversuch — keine praktische Bedeutung zukommen.

Inzwischen sind nun Arbeiten erschienen, die auch hinsichtlich der Immunisierung des Menschen zu ähnlichem Resultat gelangt sind. J. Liebermann²⁾ hat bei Choleraschutzimpfungen an 590 Personen niemals eine negative Phase beobachtet. Fox³⁾ hat Typhusschutzimpfungen am Menschen ausgeführt. Er machte subkutane Injektionen

1) Pfeiffer, R., und Friedberger, Kommt der bei der aktiven Immunisierung auftretenden negativen Phase eine Bedeutung im Sinne einer erhöhten Empfänglichkeit des vaccinierten Individuums zu? (Centralbl. f. Bakt. Bd. 47. 1908.) Hier ist auch die ältere Literatur über negative Phase zusammengestellt.

2) Liebermann, J., Ueber die Choleraschutzimpfungen in Zarizyn während der Epidemie von 1908. (Russky Wratsch. 1909.)

3) Fox, R. Hingston, Recent Progress in antityphoid inoculation. (Journ. of Trop. Med. and Hyg. 1910.)

von 50—100 Millionen bei 53° C abgetöteter Bakterien. Eine Zeit der größeren Empfänglichkeit für die Ansteckung kurz nach der Impfung existiert seiner Ansicht nach nicht; wenn die Geimpften zur Zeit der Impfung schon angesteckt waren, so geht die Erkrankung ihren gewöhnlichen Gang.

Diesen ablehnenden Stimmen gegenüber ist aber auch in neuerer Zeit eine größere Anzahl bejahender laut geworden. Auf Grund von Immunisierungsversuchen am Menschen sprechen von negativer Phase Sellei¹⁾, Kerner²⁾, der allerdings nur Oponinversuche angestellt hat, Aaser³⁾ auf Grund von Choleraimmunisierungen, H. Reiter⁴⁾ auf Grund von opsonischen Versuchen bei Vaccinationen mit Staphylokokken, Streptokokken, Gonokokken, Pneumokokken, *Bacterium pneumoniae* und *Micrococcus catarrhalis*. Dieser Autor geht so weit, daß er die serologische Feststellung der negativen Phase zur Diagnose benutzen will. Daß er bei seinen Anschauungen in seinen Arbeiten über Vaccinetherapie vor der negativen Phase warnt, ist natürlich⁵⁾, 7). Auch bei Immunisierungsversuchen an Tieren haben einzelne Autoren eine negative Phase konstatiert. So sah sie Dopter⁷⁾ bei Impfungen von weißen Mäusen mit abgetöteten oder autolysierten Dysenteriebacillen, Gildersleeve⁸⁾ fand eine geringe negative Phase bei Immunisierungen von Kaninchen mit *Pyocyanus*-Bakterien. Eine etwas abweichende Auffassung hinsichtlich der Entstehung der negativen Phase vertritt Noon⁹⁾. Er immunisierte Kaninchen mit Pseudotuberkulosebacillen und fand, daß die intravenöse Injektion großer Dosen (10—20 Millionen pro Kilogramm Tier) Shock und negative Phase erzeugt. Seiner Ansicht nach handelt es sich nicht um eine Absorption des Oponins, sondern um eine temporäre Hemmung der normalen Oponinbildung, wofür einerseits die Tatsache spricht, daß *in vitro* viel mehr Bakterien zur Absorption notwendig sind, andererseits der Umstand, daß der Tiefpunkt der Oponinkurve erst einige Zeit nach der Injektion erreicht wird.

Die Furcht vor der negativen Phase hat dazu geführt, nach Modifikationen des Impfverfahrens Umschau zu halten. Vincent¹⁰⁾ glaubt bei Immunisierung mit Typhusbacillenautolysaten, aus denen die Bakterien durch Zentrifugieren entfernt sind, die negative Phase zu vermeiden, die bei der gewöhnlichen Immunisierung mit durch Hitze abgetöteten Bakterien auftreten soll. Andere schlagen zur Vermeidung der negativen Phase die Immunisierung mit sensibilisierten Bakterien

1) Sellei, J., Die aktive Immunisierung bei Akne, Furunkulose und Sykosis. (Wien. klin. Wochenschr. 1909.)

2) Kerner, J. M., Die Cholereschutzimpfungen im Lichte der opsonischen Immunitätstheorie. (Russky Wratsch. 1909.)

3) Aaser, P., Ueber die Schutzimpfung des Menschen gegen Cholera asiatica. (Berl. klin. Wochenschr. 1910.)

4) Reiter, H., Vaccinediagnostik. (Berl. klin. Wochenschr. 1911. No. 6.)

5) Friedländer, W., und Reiter, H., Ueber Vaccinebehandlung gonorrhöischer Komplikationen. (Berl. klin. Wochenschr. 1910. No. 36.)

6) Reiter, H., Die Prinzipien der Vaccinetherapie. (Berl. klin. Wochenschr. 1911. No. 27.)

7) Dopter, Ch., Vaccination préventive contre la dysentérie bacillaire. (Annal. Pasteur. T. 23. 1909.)

8) Gildersleeve, N., Studies in pyocyanus immunity. (Journ. of the Americ. Med. Assoc. 1911.)

9) Noon, L., The influence of the site of inoculation. (Brit. med. Journ. 1909. Vol. 2.)

10) Vincent, M. H., Sur l'immunisation active de l'homme contre la fièvre typhoïde. Nouveau vaccin antityphique. (Compt rend. Acad. soc. T. 150. 1910. Fasc. 8.)

vor [Levy und Hamm¹⁾, Dopter²⁾], wodurch zwar die Giftwirkung des Vaccins wesentlich abgeschwächt, dafür aber auch, wie R. Pfeiffer und seine Schule, Neisser und Lubowski, Lüdke u. a. gezeigt haben, der immunisatorische Effekt aufgehoben wird.

Eine besondere Bedeutung hat die negative Phase in der Anaphylaxieforschung erlangt. Wir wollen hier auf diesen Punkt nicht näher eingehen und behalten uns vor, in einer gemeinsamen Arbeit darauf zurückzukommen.

Auf Grund der sich vielfach widersprechenden Anschauungen und der weitgehenden Maßnahmen, welche die Furcht vor der negativen Phase gezeitigt hat, erschien es angezeigt, nochmals genaue quantitative Studien über den Antikörpergehalt des Blutserums vor und nach der Injektion des Antigens anzustellen. Wir möchten nicht verfehlen, Herrn Geheimrat Pfeiffer für das unseren Untersuchungen entgegengebrachte Interesse unseren wärmsten Dank auszusprechen.

Zu unseren Versuchen verwandten wir fast ausschließlich Kaninchen. Größere Versuchstiere standen uns nicht zur Verfügung, und kleinere haben wir deshalb nicht benutzt, weil, je kleiner die Tiere, um so stärker die durch die Methodik bedingten Eingriffe ins Gewicht fallen müssen. Um dieselben möglichst schonend zu gestalten, wurden die Blutentnahmen, wenn möglich, aus der Ohrvene, andernfalls perkutan aus der durch Daumendruck gestauten Vena jugularis externa vorgenommen. Es wurde nie mehr Blut abgelassen, als zu dem Versuch dringend notwendig erschien. Die Injektionen des Antigens wurden stets intravenös vorgenommen. Wir immunisierten die Tiere mit Cholera, bzw. El Tor, später mit Erythrocyten, weil gerade die mit diesen Antigenen hervorgerufenen Antikörper einer exakten quantitativen Bestimmung zugänglich sind. Neben den Antikörperbestimmungen wurden auch Komplementtitrationen ausgeführt. Wir hielten diese für wichtig wegen der Bedeutung des Komplements für die Resistenz des Organismus, und weil wir ja seit den Untersuchungen von Schütze und Scheller, Bulloch und Sachs wissen, daß nach Injektion großer Antigendosen (speziell Blutkörperchen) eine vorübergehende Komplementverminderung eintreten kann. Für uns war die Feststellung wichtig, ob auch kleine Antigendosen, wie sie für die Vaccinationspraxis in Frage kommen, ein Absinken des Komplementgehalts zu beobachten ist. Allerdings wollen wir die Einschränkung machen, daß vielleicht gerade das Kaninchenkomplement, welches ja nur außerordentlich schwach wirksam ist, zu derartigen Untersuchungen nicht sonderlich geeignet ist, und wir möchten deshalb unsere Resultate nicht ohne weiteres auf andere Tierspecies, bzw. auf den Menschen übertragen wissen. In einem Versuch (s. unten) wurden die Komplementbestimmungen am Meerschweinchen, und zwar nicht in vitro, sondern im Organismus, vorgenommen.

Um Aufschluß zu erhalten, welchen Einfluß die Versuchsmethodik an sich (intravenöse Injektion, häufige Blutentnahmen) auf den Antikörper- und Komplementgehalt des Kaninchens ausübt, haben wir zunächst einem Kaninchen von 2000 g 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung intravenös injiziert, vor und nach der Injektion Blut entnommen

1) Levy und Hamm, Ueber kombinierte aktive-passive Schutzimpfung und Therapie bei Puerperalfieber. (Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 34.)

2) l. c.

und die verschiedenen Serumproben auf Komplementgehalt und Gehalt an Normalbakteriolysinen gegenüber einer virulenten El Tor-Kultur geprüft. Der Versuch ist in Tabelle I zusammengestellt.

Versuch 1.

Bestimmung von Komplement und Ambozeptor beim Tiere, welches eine intravenöse Kochsalzinjektion erhielt.

Kaninchen (2000 g).

Injektion von 1 ccm 0,85-proz. steriler Kochsalzlösung intravenös. Blutentnahmen zu verschiedenen Zeiten.

Komplementbestimmung.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutaufschwemmung (3mal gewaschen).

b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:8000).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl. Dosis | Serum vor der Injektion | Serum 1/2 Std. nach der Injekt. | Serum 2 Stunden später | Serum 4 1/2 Stunde später | Serum 10 Stunden später | Serum 1 Tag später |
|--------------|-------------------------|---------------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 | „ | „ | „ | „ | „ | „ |
| 0,15 | fast „ | fast „ | fast „ | fast „ | fast „ | fast „ |
| 0,1 | „ | „ | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett | „ |
| 0,05 | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,04 | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | Spuren | Spuren | minimal | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,03 | Spuren | „ | minimal | minimal | „ | Spuren |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0.

0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.

0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0.

Ambozeptorbestimmung.

| Meersch.-No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--------------------------|---------|--------------|-------------|---------------------------|--|
| Serum vor der Injektion. | | | | | |
| P. 159 | 225 g | 1 Oese | 0,3 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Granula, zahlr. Vibrionen. Nach 7 Stunden: † gefunden; spärliche Vibrionen. |
| P. 162 | 235 g | 1 Oese | 0,4 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, mäßig viel Vibrionen. Nach 6 Stunden: Nur Granula. |

| Meersch.- No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|---|---------|------------------|-----------------|------------------------------|--|
| Serum $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion. | | | | | |
| P. 156 | 190 g | 1 Oese | 0,3 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 3 Stunden: †. Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. |
| P. 160 | 238 g | 1 Oese | 0,4 g | Vollständ. Vi- briolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Granula, spärliche Vibrionen. Nach 4 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 2 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 157 | 198 g | 1 Oese | 0,3 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 3 Stunden: †, zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. |
| P. 161 | 235 g | 1 Oese | 0,4 g | Vollständ. Vi- briolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 4 Stunden: Nur Granula. |
| Serum $4\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion. | | | | | |
| P. 163 | 196 g | 1 Oese | 0,4 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 4 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 6 Stunden: †. Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. |

| Meersch.-No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--------------------------------------|---------|--------------|-------------|---------------------------|--|
| P. 165 | 178 g | 1 Oese | 0,5 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibr., mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinz. Vibrionen. Nach 4 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 10 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 169 | 195 g | 1 Oese | 0,3 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibr., mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibr., mäßig viel Granula. Nach 3 Stunden: †. Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. |
| P. 166 | 187 g | 1 Oese | 0,4 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 4 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 1 Tag nach der Injektion. | | | | | |
| P. 164 | 184 g | 1 Oese | 0,4 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. |
| P. 164 | 184 g | 1 Oese | 0,4 g | Unvollständige Vibriolyse | Nach 2 Stunden: Zahlreiche Granula, mäßig viel Vibrionen. Nach 8 Stunden: †. Mäßig viel Vibrionen, wenig Granula. |
| P. 158 | 193 g | 1 Oese | 0,5 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 4 Stunden: Nur Granula. |

Resultat der bakteriolytischen Versuche.

| Serum | Bakteriolytischer Titer |
|---|-------------------------|
| Serum vor der Injektion | 0,4 g |
| " $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion | 0,4 " |
| " 2 Stunden nach der Injektion | 0,4 " |
| " $4\frac{1}{2}$ " " " " | 0,5 " |
| " 10 " " " " | 0,4 " |
| " 24 " " " " | 0,5 " |

Aus diesem Versuch geht hervor, daß tatsächlich eine nachweisbare, wenn auch nur sehr geringe Beeinflussung der Titer stattgefunden hat. Der Komplementgehalt zeigt schon bei der zweiten Serumprobe ($\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion) eine minimale Abschwächung, diese Abschwächung vergrößert sich aber deutlich bei den weiteren 3 Serumproben (2, $4\frac{1}{2}$ und 10 Stunden nach der Injektion) und erst am folgenden Tage ist der Titer des Serums vor der Injektion wieder erreicht. Die Herabsetzung ist gering, aber deutlich; wenn wir bei Behandlung mit verschiedenen Antigenen keine stärkere Beeinflussung finden, werden wir nicht berechtigt sein, dieselbe als Folge der Antigeninjektion zu betrachten. Hinsichtlich der Bestimmung der Normalbakteriolysine gegenüber El Tor-Vibrionen ist zu bemerken, daß die hier beobachteten Schwankungen im Bereich der Fehlergrenzen der Methode liegen. Wir sehen den Titer bei den verschiedenen Serumproben in nicht gesetzmäßiger Weise zwischen 0,4 und 0,5 schwanken; derartig geringen Differenzen darf demnach kein Gewicht beigemessen werden.

Im Versuch 2 wurde nun untersucht, wie die intravenöse Injektion von 1 Oese (= 2 mg) bei 58° C abgetöteter El Tor-Kultur auf den Gehalt an Normalbakteriolysinen einwirkt (Vers. 2 s. p. 75).

Der bakteriolytische Titer des Serums vor der Injektion beträgt 0,1, wir sehen, daß er durch die Injektion nicht im geringsten geändert wird. Wir haben es hier mit einem relativ kleinen Versuchstier zu tun, wir haben die Injektion intravenös vorgenommen, und zwar mit einer Dosis, die für viele Tiere bereits eine Dosis letalis darstellt, und trotzdem ist keine negative Phase — wenigstens nicht im Sinne einer Absenkung der Antikörperkurve — zu konstatieren. Wir sind demnach einstweilen auch nicht zu der Annahme veranlaßt, daß die Bindungsverhältnisse zwischen Antigen und Antikörper in vivo von denen im Reagenzglas abweichen. Theoretisch besonders wichtig ist aber die Tatsache, daß, wie eine Prüfung an diesem Versuchstier ergab, 7 Tage nach der Injektion eine intensive Antikörperproduktion eingetreten ist. Bail¹⁾ hat nämlich kürzlich wieder die alte von Metschnikoff und Buchner vertretene Hypothese über die Entstehung der Antikörper diskutiert, nach welcher die Antikörper durch den Organismus aus den Antigenen gebildet werden. Diese Theorie kann zwar die Spezifität der Antikörper recht gut erklären, steht aber im Widerspruch mit der Tatsache, daß winzige Antigenmengen eine enorme Antikörperproduktion hervorzurufen imstande sind. Bail glaubt nun auf Grund neuer Versuche über die Hämolyse, daß dieses quantitative Mißverhältnis nur ein scheinbares ist. Er schreibt: „Wenn sehr kleine Mengen von Blut, wie in den bekannten Versuchen von Friedberger, die Ausbildung eines Serums veranlassen, das die mehrtausendfache Menge des gleichen Blutes zu lösen vermag, so besteht allerdings den Zahlen nach ein sehr bedeutendes Mißverhältnis zwischen Ursache und Wirkung. Jedoch auf die bloße Zahl der als Antigen verwendeten Blutkörperchen kommt es viel weniger an als auf den Effekt, den sie im Organismus auszulösen vermögen. Dieser ist aber, wenn man aus den Reagenzglasversuchen überhaupt einen Schluß auf die Verhältnisse des Tierkörpers ziehen darf, ein überaus mächtiger, er erschöpft sich nicht mit der bloßen Zellzerstörung in der Hämolyse, sondern wirkt über diese hinaus noch als Methämolyse weiter. Infolgedessen muß es in den

1) Bail, O., u. Suzuki, Methämolytische Reaktionen. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 9. 1911.)

Versuch 2.

Kaninchen P. 201, 2700 g.

Entnahme von Blut vor der intravenösen Injektion einer Oese 24-stündiger El Tor-Kultur, 1 Stunde bei 58° C abgetötet, und nachher zu verschiedenen Zeiten. Titrierung der Sera im Pfeifferschen Versuch.

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--------------------------------------|---------|--------------|-------------|---------------------------|---|
| Serum vor der Injektion. | | | | | |
| Schwarz | 175 g | 1 Oese | 0,2 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 1 Stunde: Nur Granula. |
| P. 192 | 212 g | 1 Oese | 0,1 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinz. Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |
| P. 196 | 190 g | 1 Oese | 0,05 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrionen. |
| Serum 1/2 Stunde nach der Injektion. | | | | | |
| P. 203 | 210 g | 1 Oese | 0,05 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 1/2 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, vereinz. Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrionen. |
| P. 204 | 180 g | 1 Oese | 0,1 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 1/2 Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 3 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 2 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 207 | 190 g | 1 Oese | 0,05 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 1/2 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrionen. |

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|-------------------------------------|---------|--------------|-------------|---------------------------|--|
| P. 210 | 220 g | 1 Oese | 0,1 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 3 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 4 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 206 | 210 g | 1 Oese | 0,05 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrionen. |
| P. 209 | 190 g | 1 Oese | 0,1 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 3 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 9 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 202 | 210 g | 1 Oese | 0,05 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrionen. |
| P. 205 | 200 g | 1 Oese | 0,1 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 3 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 7 Tage nach der Injektion. | | | | | |
| P. 211 | 208 g | 1 Oese | 0,0001 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlr. Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlr. Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, vereinz. Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrionen. |

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|-----------------|---------|------------------|-----------------|----------------------------|--|
| | 206 g | 1 Oese | 0,001 g | Vollständ. Vi- briolyse | Sofort: Zahlreiche, gut beweg- liche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, vereinz. Vibrionen. Nach 1 Stunde: Nur Granula. |

Resultat der bakteriolytischen Versuche.

| Serum | Bakteriolytischer Titer |
|---------------------------------|-------------------------|
| Serum vor der Injektion | 0,1 g |
| " 1/2 Stunde nach der Injektion | 0,1 " |
| " 2 Stunden " " " | 0,1 " |
| " 4 " " " " | 0,1 " |
| " 9 " " " " | 0,1 " |
| " 7 Tage nach " " | > 0,0001 < 0,001 g |

Komplementbestimmungen.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

- a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung (dreimal gewaschen).
b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:6400).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C; über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl.- Dosis | Serum vor der Injektion | Serum 1/2 Std. nach der Injektion | Serum 2 Std. später | Serum 4 Std. später | Serum 9 Std. später |
|------------------|------------------------------|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | " | " | " | " | " |
| 0,15 " | " | " | " | " | " |
| 0,1 " | fast komplett | fast komplett | fast komplett | fast komplett | fast komplett |
| 0,05 " | " " | " " | inkomplett (kleine Kuppe) | inkomplett (kleine Kuppe) | inkomplett (kleine Kuppe) |
| 0,04 " | inkomplett (kleine Kuppe) | inkomplett (kleine Kuppe) | inkomplett (große Kuppe) | inkomplett (große Kuppe) | inkomplett (große Kuppe) |
| 0,03 " | inkomplett (große Kuppe) | inkomplett (große Kuppe) | Spuren | Spuren | Spuren |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0.
0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.
0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0.

Säften eines behandelten Tieres zum Schwund der normalen hämolytischen Immunkörper in den größten Dimensionen (im Original nicht gesperrt) kommen, der allerdings nicht mehr im Verhältnis zu der geringen Zahl der eingeführten Blutkörperchen zu stehen scheint. Erfolgt dann ein Ersatz des Verlustes, so betrifft dieser naturgemäß ebenfalls große Immunkörpermengen, für die dann noch der spezifische Charakter zu erklären ist, wofür bereits ebenfalls Anhaltspunkte von der Untersuchung der bakteriziden Serumwirkungen her vorliegen."

Wir möchten glauben, daß die von Bail und Suzuki gefundenen Tatsachen über Hämolyse und Methämolyse im Reagenzglas nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse im tierischen Organismus übertragen werden können. Jedenfalls können wir nicht der Ansicht beistimmen, daß die Immunantikörperproduktion als Folge eines in den größten Dimensionen stattfindenden Schwundes der Normalantikörper aufzufassen ist. In unserem obigen Falle ist überhaupt kein Schwund von Normalantikörpern

eingetreten und trotzdem eine lebhaftige Produktion von Immunkörpern erfolgt (bakteriolytischer Titer 7 Tage nach der Injektion zwischen $\frac{1}{10}$ —1 mg, also Steigerung der bakteriolytischen Funktion um über das hundertfache). Wenn wir uns nun vergegenwärtigen, daß zur Erzeugung eines derartigen bakteriolytischen Titers gar nicht die Behandlung mit 1 Oese Kultur notwendig ist, sondern wie wir aus den grundlegenden Versuchen von R. Pfeiffer und Friedberger wissen, bereits sehr viel geringere Dosen ($\frac{1}{100}$ Oese und darunter) einen starken immunisatorischen Effekt besitzen, so werden wir doch die Bailsche Annahme als recht unwahrscheinlich betrachten müssen. Das Phänomen der Antikörperproduktion ist eigentlich heute noch ebenso rätselhaft wie vor 20 Jahren, kein Erklärungsversuch kann befriedigen; über den seinerzeit von R. Pfeiffer aufgestellten Satz „Die Antikörper sind eine spezifische Reaktion des Organismus auf einen spezifischen Reiz“ sind wir noch kaum hinausgekommen.

Doch nun wieder zu unserem Thema. Bei dem Versuchstier der Tabelle II wurden auch Komplementtitrationen der verschiedenen Serumproben vorgenommen. Wir sehen, daß die Abschwächung des Komplementgehalts nach der Injektion der Cholerakultur außerordentlich gering ist und nicht einmal diejenige des Kontrollversuchs (Tabelle I) erreicht.

Wir haben diesen Versuch noch einmal wiederholt (Vers. 3 s. p. 79).

Das Resultat dieses Versuches entspricht vollständig demjenigen des vorhergehenden. Wieder ist ein Absinken des bakteriolytischen Titers nicht nachweisbar (der Titer schwankt nicht gesetzmäßig zwischen 0,3 und 0,4, also innerhalb der Fehlergrenzen des Versuches). Auch hier finden wir wieder nach 7 Tagen einen Titer von 0,0005, also eine Steigerung des bakteriolytischen Vermögens um das ca. 600-fache. Ferner ergaben die Komplementbestimmungen eine Herabsetzung, welche diejenige des Kontrollversuchs 1 keineswegs überschreitet.

Im folgenden Versuch sind wir mit der Dosis der injizierten Kultur noch gestiegen, wir injizierten 2 Oesen intravenös, eine in den meisten Fällen bereits tödliche Dosis (Vers. 4 s. p. 83).

Selbst unter diesen Versuchsbedingungen sehen wir keine sichere Abschwächung des bakteriolytischen Titers eintreten.

Waren die Injektionen selbst großer Dosen El Tor-Vibrionen nicht imstande, bei dem geringen Gehalte des Kaninchenserums an Normalantikörpern gegenüber El Tor-Vibrionen eine deutliche Verminderung hervorzurufen, so war diese wohl noch weniger bei Tieren, die durch vorausgegangene Immunisation auf einen hohen Antikörpergehalt gebracht waren, zu erwarten. Der folgende Versuch wurde an einem immunisierten Kaninchen angestellt (Vers. 5 s. p. 85).

Ein Kaninchen erhält 2 Oesen El Tor-Kultur intravenös. 10 Tage darauf, zu einer Zeit also, in der der Antikörpergehalt bereits auf der Höhe ist, jedenfalls nicht mehr zu steigen pflegt, wird 1 Oese Kultur reinjiziert. Der Titer des Serums beträgt vor der Reinjektion 0,0005; er wird tatsächlich durch die Reinjektion nicht im geringsten beeinflusst. Vielleicht konnte man daran denken, daß der Komplementgehalt durch die Reinjektion Einbuße erleidet. Wissen wir doch aus der Anaphylaxieforschung, daß durch die Reinjektion von artfremdem Eiweiß eine Herabsetzung des Komplementgehaltes bewirkt wird. Diese Komplementverminderung ist allerdings bei der aktiven Anaphylaxie gering (Friedberger und Hartoch). Wenn wir uns dazu vergegenwärtigen, daß

Versuch 3.

Kaninchen W. 355 (1980 g).

Entnahme von Blut. Darauf Injektion von 1 Oese 24-stündiger El Torkultur, 1 Stunde bei 58° C abgetötet, intravenös. Blutentnahmen nach verschiedenen Zeiten.

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--|---------|------------------|-----------------|------------------------------|---|
| Serum vor der Injektion. | | | | | |
| P. 130 | 193 g | 1 Oese | 0,2 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche, zum Teil lebhaft bewegliche Vibrionen, wenig Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 6 Stunden: †. Nur Vibrionen. |
| P. 134 | 174 g | 1 Oese | 0,3 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 6 Stunden: †. Nur Granula. |
| Serum $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion. | | | | | |
| P. 131 | 195 g | 1 Oese | 0,2 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, zum Teil gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 3 Stunden: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen, spärliche Granula. Nach 6 Stunden: †. Nur Vibrionen. |
| P. 135 | 178 g | 1 Oese | 0,3 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 6 Stunden: †. Nur Granula. |

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|-------------------------------------|---------|--------------|-------------|------------------------------|--|
| Serum 2 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 136 | 168 g | 1 Oese | 0,3 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen. Nach 6 Stunden: †. Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. |
| P. 129 | 195 g | 1 Oese | 0,4 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 3 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 5 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 132 | 192 g | 1 Oese | 0,2 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäß. viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 3 Stunden: Nur Vibrion. Nach 5 Stunden: †. Nur Vibrionen. |
| P. 133 | 194 g | 1 Oese | 0,3 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche Vibrionen, gut beweglich. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, mäßig viel Vibrionen. Nach 4 Stunden: Zahlreiche Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 6 Stunden: †. Nur Granula. |
| Serum 9 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| P. 137 | 205 g | 1 Oese | 0,3 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, mäßig zahlreiche Granula. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen. Nach 6 Stunden: †. Nur Granula. |

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|----------------------------------|---------|------------------|-----------------|------------------------------|---|
| Serum 1 Tag nach der Injektion. | | | | | |
| P. 138 | 210 g | 1 Oese | 0,3 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 9 Stunden: †. Mäßig viel Vibrionen. |
| P. 139 | 207 g | 1 Oese | 0,4 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 3 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 7 Tage nach der Injektion. | | | | | |
| Gelb gezeichnet | 208 g | 1 Oese | 0,0001 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 10 Stunden: † gefunden. Zahlreiche Vibrionen. |
| Blau gezeichnet | 192 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, gut bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |

Resultat der bakteriolytischen Versuche.

| Serum | Bakteriolytischer Titer |
|---------------------------------|-------------------------|
| Serum vor der Injektion | 0,3 g |
| „ 1/2 Stunde nach der Injektion | 0,3 „ |
| „ 2 Stunden „ „ „ | 0,4 „ |
| „ 5 „ „ „ „ | 0,3 „ |
| „ 9 „ „ „ „ | 0,3 „ |
| „ 24 „ „ „ „ | 0,4 „ |
| „ 7 Tage „ „ „ | 0,0005 g |

Komplementbestimmungen.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

Erste Abt. Orig. Bd. 63.

Heft 1.

6

a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung (3mal gewaschen).

b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:8000).

Die Röhren bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl.-Dosis | Serum 0 Stunden | Serum 1/2 Stunde | Serum 2 Stunden | Serum 5 Stunden | Serum 9 Stunden | Serum 1 Tag |
|--------------|-----------------|------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,15 " | " | " | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | " |
| 0,1 " | fast kompl. | fast kompl. | inkomplett | inkomplett | inkomplett (kl. Kuppe) | fast kompl. |
| 0,05 " | dgl. | dgl. | " | " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett |
| 0,04 " | inkomplett | inkomplett | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | dgl. | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,03 " | " | " | dgl. | dgl. | " | dgl. |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung = 0.
 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.
 0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0.

Versuch 4.

Kaninchen B8 (1720 g) erhält 2 Oesen Cholerakultur (Stamm Ruhleben, 1 Stunde bei 59° abgetötet) intravenös. Vor und nach der Injektion Blutentnahmen aus der Ohrvene.

Bestimmung der bakteriolytischen Titer im Pfeifferschen Versuch.

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|---------------|---------|--------------|-------------|--------|-------------|
|---------------|---------|--------------|-------------|--------|-------------|

Serum vor der Injektion.

| | | | | | |
|-------|-------|------------------|-------|------------------------------|--|
| B. 12 | 203 g | 1 Oese El Tor | 0,2 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 1/4 Stunde: Ziemlich zahl- reiche Vibrionen eine Anzahl Granula. Nach 1/2 Stunde: Weniger Vi- brionen, viel Granula. Nach 1 Stunde: Nur Granula (in Haufen). Nach 2 Stunden: Wenig Gra- nula. † in der Nacht. Peritoneal- exsudat mikrosk. steril. Ziem- lich wenig Leukocyten. |
| B. 11 | 205 g | 1 Oese | 0,1 g | Unvollständige Vibriolyse | Nach 1/4 Stunde: Ziemlich zahl- reiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1/2 Stunde: Sehr zahl- reiche Vibrionen, weniger Granula. Nach 1 Stunde: Sehr zahlreiche Vibrionen, spärliche Granula. Nach 1 1/2 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, auch zieml. zahl- reiche Granula. † nach 4 1/2 Stunden. Im Peri- tonealexsudat zahlreiche Vi- brionen und Spirillen, zum Teil leb. beweglich. Einige Granula. Sehr wenig Leuko- cyten. |

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--|---------|--------------|-------------|---------------------------|---|
| Serum $\frac{3}{4}$ Stunde nach der Injektion. | | | | | |
| B. 15 | 188 g | 1 Oese | 0,3 g | Vollständ. Vibriolyse | Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, einzelne Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Weniger Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Nur Granula. Nach $3\frac{3}{4}$ Stunden: Mikroskop. steril. Mäßig viel Leukocyten. † in der Nacht. Peritonealexsudat mikr. steril. Ziemi. viel Leukocyten. |
| B. 13 | 202 g | 1 Oese | 0,2 g | Unvollständige Vibriolyse | Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, ziemlich zahlreiche Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, ziemi. wenig Gran. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Mäß. viel Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 7 Stunden: † gefunden. Zahlreiche Vibrionen u. Spirillen, zum Teil lebhaft beweglich. Einige Granula. |
| Serum 2 Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| B. 16 | 192 g | 1 Oese | 0,2 g | Vollständ. Vibriolyse | Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, einzelne Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, ziemlich wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, ziemi. zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Sehr zahlr. Granula, ziemlich spärliche Vibrionen. Nach $3\frac{3}{4}$ Stunden: Mikrosk. steril, wenig Leukocyten. † in der Nacht. Peritonealexsudat mikroskopisch steril. Wenig Leukocyten. |
| Serum $6\frac{1}{4}$ Stunden nach der Injektion. | | | | | |
| B. 14 | 202 g | 1 Oese | 0,2 g | Vollständ. Vibriolyse | Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, sehr wenig Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, eine Anzahl Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Ziemi. wenig Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 7 Stunden: † gefunden. Peritonealexsudat mikrosk. steril, einige Leukocyten. |

6*

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|---------------|---------|--------------|-------------|------------------------|---|
| B. 17 | 200 g | 1 Oese | 0,2 g | Vollständ. Vi-briolyse | Serum 1 Tag nach der Injektion. |
| | | | | | Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, einzelne Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, ziemlich wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, ziemlich zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Wenig Vibrionen, sehr zahlr. Granula. Nach $3\frac{3}{4}$ Stunden: Mikrosk. steril. Wenig Leukocyten. † in der Nacht. Peritonealexsudat mikr. steril. Ziemlich wenig Leukocyten. |
| B. 18 | 212 g | 1 Oese | 0,2 g | Vollständ. Vi-briolyse | Serum 2 Tage nach der Injektion. |
| | | | | | Nach $\frac{1}{4}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Wenig Vibrionen, massenhaft Granula. Nach 2 Stunden: keine Vibrionen, Granula in mäßiger Zahl, zum Teil in Häufchen. Einige Leukocyten. † nach $11\frac{1}{2}$ Stunden. Peritonealexsudat mikrosk. steril. Mäßig viel Leukocyten. |

Resultat der bakteriolytischen Versuche.

| Serum | Bakteriolytischer Titer |
|--|-------------------------|
| Serum vor der Injektion | 0,2 |
| " $\frac{3}{4}$ Stunden nach der Injektion | 0,3 |
| " 2 " " " " | 0,2 |
| " $6\frac{1}{4}$ " " " " | 0,2 |
| " 24 " " " " | 0,2 |
| " 48 " " " " | 0,2 |

wir bei der Injektion selbst relativ großer Bakterienmengen nur einen geringen Bruchteil derjenigen Eiweißmengen injizieren, die bei anaphylaktischen Versuchen zur Verwendung kommen, so ist ohne weiteres klar, daß eine wesentliche Komplementherabsetzung unwahrscheinlich ist. Dem entspricht das Resultat des obigen Versuches. Der Komplementgehalt sinkt kaum stärker als in dem Kontrollversuch 1.

Auch diesen Versuch haben wir wiederholt mit der Modifikation, daß wir bei der Reinjektion 2 Oesen Cholerakultur injizierten. Die Sensibilisierung geschah mit $\frac{1}{2}$ Oese. Bestimmt wurden der Gehalt an Bakteriolytinen und Agglutininen (Vers. 6 s. p. 88).

Der Versuch lehrt, daß der bakteriolytische Titer (0,0005 g) durch die Reinjektion von 2 Oesen Cholerakultur nicht die geringste Einbuße erleidet. Das gleiche gilt von dem Agglutiningehalt, der bis 8 Tage nach der Reinjektion verfolgt wurde. Auch hier steigt der Agglutinititer ohne Eintritt einer negativen Phase.

Versuch 5.

Versuch am sensibilisierten Tier.

Ein Kaninchen, 2250 g schwer, erhält 2 Oesen El Tor-Kultur (24-stündig, 1 Stunde bei 58° C abgetötet) intravenös. Nach 10 Tagen Reinjektion von 1 Oese Kultur (derselbe Stamm, in gleicher Weise abgetötet) in die Ohrvene. Vor und nach der Reinjektion Blutentnahmen.

Bestimmung der bakteriolytischen Titer im Pfeifferschen Versuch.

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--|---------|------------------|-----------------|------------------------------|---|
| Serum vor der Reinjektion. | | | | | |
| P. 175 | 170 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen Nach 8 Stunden: Wenig Vibrionen, wenig Granula. Nächsten Morgen: † gefunden. Nur Vibrionen. |
| P. 170 | 180 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinzelte Vibrion. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |
| Serum $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Reinjektion. | | | | | |
| P. 176 | 175 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, zahlr. Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 8 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nächsten Morgen: † gefunden. Nur Vibrionen. |
| P. 172 | 175 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, mäßig zahlreiche Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinz. Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 2 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| P. 171 | 175 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. |

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|---------------------------------------|---------|--------------|-------------|---------------------------|--|
| P. 171 | 175 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, zahlr. Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 8 Stunden: †. Nur Vibrionen. |
| P. 173 | 175 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 4 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| P. 177 | 180 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, zahlr. Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 8 Stunden: †. Nur Vibrionen. |
| P. 174 | 183 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |
| Serum 9 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| P. 167 | 172 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, mäßig viel Vibrionen. Nach 8 Stunden: †. Nur Vibrionen. |
| P. 168 | 225 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. |

| Meerschw. No. | Gewicht | Kultur-dosis | Serum-dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|-----------------------------------|---------|--------------|-------------|---------------------------|--|
| Serum 1 Tag nach der Reinjektion. | | | | | |
| P. 178 | 180 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, mäßig viel Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Granula, zahlr. Vibrionen. Nach 3 Stunden: Zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 8 Stunden: †. Wenig Vibrionen. |
| P. 179 | 218 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vibriolyse | Sofort: Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen. Nach 30 Minuten: Zahlreiche Granula, mäßig viel Vibrionen. Nach 1 Stunde: Nur Granula. |

Resultat der bakteriolytischen Versuche.

| Serum | | Bakteriolytischer Titer |
|-------|-----------------------------|-------------------------|
| Serum | vor der Reinjektion | 0,0005 g |
| " | $\frac{1}{3}$ Stunde nach " | 0,0005 " |
| " | 2 Stunden " | 0,0005 " |
| " | 4 " " | 0,0005 " |
| " | 9 " " | 0,0005 " |
| " | 24 " " | 0,0005 " |

Komplementbestimmungen mit denselben Seris.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

- a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung (3mal gewaschen).
b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:8000).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl.-Dosis | Serum vor der Reinjektion | Serum $\frac{1}{3}$ Std. nach der Reinjektion | Serum 2 Stunden später | Serum 4 Stunden später | Serum 9 Stunden später | Serum 1 Tag später |
|--------------|---------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | fast "kompl. | fast "kompl. | fast "kompl. | fast "kompl. | fast "kompl. | fast "kompl. |
| 0,15 " | dgl. | dgl. | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,1 " | | | Spuren | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,05 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | minimal | minimal | minimal | Spuren |
| 0,04 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | 0 | 0 | 0 | minimal |
| 0,03 " | Spuren | Spuren | | | | |

Kontrollen: Sämtlich absolut negativ.

In keinem einzigen unserer Versuche haben wir somit eine negative Phase nachweisen können. Der Antikörpergehalt ist stets konstant geblieben, gleichgültig, ob es sich um normale oder sensibilisierte Tiere handelte. Auch hinsichtlich des Komplementgehalts sahen wir keine deutliche Abschwächung.

Versuch 6.

Versuch am sensibilisierten Tier.

Ein Kaninchen, 1410 g schwer, erhält $\frac{1}{2}$ Oese Cholerakultur (Stamm Ruhleben), 1 Stunde bei 58° C abgetötet, intravenös. Nach 8 Tagen werden ihm 2 Oesen Kultur (derselbe Stamm, in gleicher Weise abgetötet) intravenös injiziert. Toxische Wirkungen werden nicht beobachtet. Vor und nach der Reinjektion Blutentnahmen aus der Ohrvene.

Bestimmung der bakteriolytischen Titer im Pfeifferschen Versuch.

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|--|---------|-----------------------------|-----------------|------------------------------|---|
| Serum vor der Reinjektion. | | | | | |
| B. 129 | 196 g | 1 Oese El Tor- Kultur | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Sehr zahlr. Vibrionen, zieml. zahlreiche Granula. • Nach 1 Stunde: Sehr zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. Nach $4\frac{1}{2}$ Stunden: Mikrosk. steril. Einige Leukocyten. Am nächsten Morgen: † gefunden. Peritonealexsudat mikroskopisch steril. Mäßig viel Leukocyten. |
| B. 126 | 196 g | 1 Oese | 0,0002 g | Unvollständige Vibriolyse | Nach 20 Minuten: Sehr zahlr. Vibrionen, sehr wenig Granula. Nach 1 Stunde: Zahlreiche Vibrionen, zahlreiche Granula. Nach 2 Stunden: Zahlreiche Granula, ziemlich zahlreiche Vibrionen. Nach $3\frac{3}{4}$ Stunden: †. Zahlreiche Vibrionen u. Spirillen, zum Teil lebhaft beweglich. Relativ wenig Granula. |
| Serum $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Reinjektion. | | | | | |
| S | 195 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. Nach $2\frac{1}{4}$ Stunden: Nur Granula, einige Leukocyten. Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden: Spärliche Granula, einige Leukocyten. Am nächsten Morgen: † gefunden. |
| Serum 3 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| B. 130 | 191 g | 1 Oese | 0,001 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 1 Stunde: Sehr zahlreiche Granula, sehr wenige Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. Nach $3\frac{3}{4}$ Stunden: Mikrosk. steril. Ziemlich zahlreiche Leukocyten. Am nächsten Morgen: † gefunden. Peritonealexsudat mikroskopisch steril. Zieml. viele Leukocyten. |

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|---|---------|------------------|-----------------|----------------------------|---|
| G. w. | 185 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Sehr zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. Am nächsten Morgen: † ge- funden. Peritonealexsudat mikroskopisch steril. Mäßig viel Leukocyten. |
| Serum 6 1/2 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| S. G. | 175 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, wenig Granula. Nach 1 Stunde: Sehr zahlreiche Granula, wenig Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula. Am nächsten Morgen: † ge- funden. Peritonealexsudat mikroskopisch steril. Ziempl. wenig Leukocyten. |
| Serum 24 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| S. W. | 198 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 2 1/2 Stunden: Nur Gra- nula, einige Leukocyten. Nach 3 1/2 Stunden: Spärliche Granula, einige Leukocyten. Am nächsten Morgen: † ge- funden. |
| Serum 48 Stunden nach der Reinjektion. | | | | | |
| G. | 185 g | 1 Oese | 0,0005 g | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 30 Minuten: Zahlreiche Vibrionen, ziempl. zahlreiche Granula. Nach 2 1/2 Stunden: Nur Gra- nula, einige Leukocyten. Nach 3 1/2 Stunden: Ziemlich spärliche Granula, einige Leukocyten. Am nächsten Morgen: † ge- funden. |

Resultat der bakteriolytischen Versuche.

| Serum | Bakteriolytischer Titer |
|-----------------------------------|-------------------------|
| Serum vor der Reinjektion | 0,0005 g |
| " 1/2 Stunde nach der Reinjektion | 0,0005 " |
| " 3 Stunden nach der Reinjektion | 0,0005 " |
| " 6 1/2 " " " " | 0,0005 " |
| " 24 " " " " | 0,0005 " |
| " 48 " " " " | 0,0005 " |

Gegen unsere Komplementbestimmungen könnte man einwenden, daß die Prüfung des Komplements in hämolytischen Versuchen nicht maßgebend ist. Für die Frage einer erhöhten Infektionsempfänglichkeit nach Antigeninjektionen wäre natürlich die direkte Prüfung der bakteriolytischen Funktion des Komplements zweckmäßiger. Wir verzichteten allerdings darauf, die bakteriolytische Funktion des Komplements durch bakterizide Reagensglasversuche zu prüfen, weil diese Methode häufig

Bestimmung der Agglutinationstiter.

| Verdünnungen | Serum vor der Reinjektion | Sera nach der Reinjektion | | | | |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | 1/2 Stunde | 3 Stunden | 6 1/2 Stunden | 24 Stunden | 48 Stunden |
| 1/100 | unvollständig, stark deutlich | unvollständig, stark deutlich | unvollständig, stark deutlich | unvollständig, stark deutlich | unvollständig, stark deutlich | unvollständig, stark deutlich |
| 1/200 | " | " | " | " | " | " |
| 1/400 | schwach | schwach | " | sehr schwach | " | schwach |
| 1/800 | Spur? | Spur | Spur | Spur | schwach | Spur |
| 1/1600 | — | — | — | — | Spur? | — |
| 1/3200 | — | — | — | — | — | — |
| 1/6400 | — | — | — | — | — | — |

| Verdünnungen | Sera nach der Reinjektion | | | | | |
|--------------|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 3 Tage | 4 Tage | 5 Tage | 6 Tage | 7 Tage | 8 Tage |
| 1/100 | fast vollständig | vollständig | vollständig | vollständig | vollständig | vollständig |
| 1/200 | " | fast vollständig | " | " | " | " |
| 1/400 | deutlich | " | fast vollständig | fast vollständig | fast vollständig | fast vollständig |
| 1/800 | schwach | deutlich | stark | stark | stark | stark |
| 1/1600 | Spur | schwach | deutlich | deutlich | deutlich | deutlich |
| 1/3200 | — | " | schwach | noch deutlich | " | " |
| 1/6400 | — | — | Spur? | Spur? | schwach | schwach |

nicht ganz klare und einwandfreie Resultate liefert. Wir prüften auch hier direkt im Tierkörper, indem wir folgendermaßen vorgehen. Eine Serie gleich schwerer Meerschweinchen (ca. 200 g) erhielt 10 mg frischer Typhuskultur subkutan. Der Einfluß einer derartigen Injektion auf den Komplementgehalt der Tiere wurde in der Weise geprüft, daß nach verschiedenen Zeiten 1 Oese El Tor-Kultur + 1 IE. Choleraserum injiziert wurde. War eine Herabsetzung des Komplementgehalts eingetreten, so mußte diese sich dadurch zu erkennen geben, daß die unter normalen Verhältnissen gerade noch lösende Immunserumdosis nicht mehr imstande war eine vollständige Vibriolyse zu bewirken. Versuch 7 zeigt die Einzelheiten des Versuchs (Vers. 7. s. p. 91).

Für die Kontrolltiere, welche keine Typhuskultur erhalten hatten, beträgt die einfach lösende Dosis des verwendeten Immunserums 0,2 mg. Diese Dosis erweist sich aber in genau der gleichen Weise schützend bei Tieren, die verschieden lange vorher die Injektion der Typhuskultur erhalten hatten. Obgleich die Tiere deutliche Vergiftungserscheinungen hatten (Temperaturanstieg über 40° C), tritt bei allen vollständige Vibriolyse ein. Demnach ergibt der Tierversuch, daß die Injektion einer größeren Dosis Typhuskultur keinen nachweisbaren Einfluß auf das bakteriolytische Komplement ausübt.

Trotz dieser übereinstimmenden Ergebnisse trachteten wir, unsere Untersuchungen möglichst zahlreich zu gestalten, um — wenn die negative Phase auch kein gesetzmäßig in Erscheinung tretendes Phänomen ist — ihr vielleicht gelegentliches Auftreten konstatieren zu können. Von weiteren Tierversuchen mußten wir allerdings aus äußeren Gründen Abstand nehmen, und setzten deshalb unsere Versuche nicht mit Bakterien,

Versuch 7.

5 Meerschweinchen erhalten 10 mg Typhuskultur (Stamm „Bock“, 1 Stunde bei 58° C abgetötet) subkutan. Nach verschiedenen Zeiten wird eine intraperitoneale Injektion von 1 Oese El Tor + der gerade noch lösenden Dosis eines vibriolytischen Choleraimmunserums (0,2 mg) vorgenommen.

| Meerschw. No. | Gewicht | Kulturdosis | Serumdosis | Erfolg | Bemerkungen |
|---------------|---------|-------------|------------|--------|-------------|
|---------------|---------|-------------|------------|--------|-------------|

Kontrolltiere.

(Dieselben haben keine Typhuskultur injiziert erhalten.)

| | | | | | |
|------|-------|---------------|--------|---------------------------|--|
| B. 0 | 205 g | 1 Oese El Tor | 0,2 mg | Vollständ. Vibriolyse | Nach 20 Minuten: Zahlreiche Vibrion. Auch viel Granula. Nach 45 Minuten: Massenhaft Granula. Spärl. Vibrionen. Nach 65 Minuten: Massenhaft Granula. Ganz spärliche Vibrionen. Nach 2 Stunden: Nur Granula, wenig. Einige Leukocyten. Nach 3 ¹ / ₂ Stunden: Mikroskop. steril. Wenig Leukocyten. Nach 6 Stunden: Ebenso. Mehr Leukocyten. Stirbt nach ca. 20 Stunden. Peritonealexsudat mikroskop. steril. Ziemi. wenig Leukoc. |
| B. 5 | 195 g | 1 Oese | 0,1 mg | Unvollständige Vibriolyse | Nach 20 Minuten: Sehr zahlr. Vibrionen, wenig Granula. Nach 45 Minuten: Zahlr. Vibrionen, zahlr. Granula. Nach 65 Minuten: Mäßig viel Vibr., recht zahlr. Granula. Nach 90 Minuten: Sehr zahlr. Granula. Auch noch viel Vibrionen. Nach 2 ³ / ₄ Stunden: Zahlr. Vibrionen, ziemi. viel Granula. † nach 3 ¹ / ₄ Stunde. Im Peritonealexsudat sehr zahlr. Vibrionen, nur sehr wenige beweglich. Vereinz. Granula. |

Versuchstiere.

(Dieselben haben vor verschieden langer Zeit 10 mg abgetöteter Typhuskultur subkutan erhalten.)

Injektion der Typhuskultur vor 2¹/₄ Stunden.

| | | | | | |
|------|-------|---------------|--------|-----------------------|---|
| B. 6 | 205 g | 1 Oese El Tor | 0,2 mg | Vollständ. Vibriolyse | Nach 20 Minuten: Zahlr. Vibrionen, sehr zahlr. Granula. Nach 45 Minuten: Ziemi. wenig Vibrion., sehr zahlr. Granula. Nach 65 Minuten: Nur Granula. Nach 90 Minuten: Zahl der Granula hat abgenommen. Nach 6 Stunden: Mikroskop. steril. Einige Leukocyten. Stirbt in der Nacht. Peritonealexsudat mikroskop. steril. Wenig Leukocyten. |
|------|-------|---------------|--------|-----------------------|---|

| Meersch. No. | Gewicht | Kultur- dosis | Serum- dosis | Erfolg | Bemerkungen |
|-----------------|---------|------------------|-----------------|--------|-------------|
|-----------------|---------|------------------|-----------------|--------|-------------|

Injektion der Typhuskultur vor 3 $\frac{1}{4}$ Stunden.

| | | | | | |
|------|-------|--------|--------|----------------------------|---|
| B. 7 | 200 g | 1 Oese | 0,2 mg | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Zahlr. Vi- brionen, sehr zahlr. Granula. Nach 45 Minuten: Mäßig viel Vibrion., sehr zahlr. Granula. Nach 4 $\frac{1}{4}$ Stunde: Mikroskop. steril. Einige Leukocyten. Stirbt in der Nacht. Peritoneal- exsudat mikroskop. steril. Wenig Leukocyten. |
|------|-------|--------|--------|----------------------------|---|

Injektion der Typhuskultur vor 6 $\frac{1}{2}$ Stunden. (Rectaltemperatur 40,0° C.)

| | | | | | |
|------|-------|--------|--------|----------------------------|--|
| B. 3 | 198 g | 1 Oese | 0,2 mg | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Zahlr. Vi- brionen, zahlr. Granula. Nach 45 Minuten: Spärl. Vi- brionen, massenhaft Granula. Nach 65 Minuten: Nur Gra- nula. Nach 2 Stunden: Sehr spärl. Granula, einige Leukocyten. Nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden: Mikrosk. steril., wenig Leukocyten. Nach 6 Stunden: Mehr Leuko- cyten. † in der Nacht. Peritoneal- exsudat mikrosk. steril. Mäßig viel Leukocyten. |
|------|-------|--------|--------|----------------------------|--|

Injektion der Typhuskultur vor 9 Stunden. (Rectaltemperatur 40,2° C.)

| | | | | | |
|------|-------|--------|--------|----------------------------|--|
| B. 2 | 200 g | 1 Oese | 0,2 mg | Vollständ. Vi- briolyse | Nach 20 Minuten: Zahlr. Vi- brionen, zahlr. Granula. Nach 45 Minuten: Ganz spärl. Vibrion., massenh. Granula. Nach 65 Minuten: Massenhaft Granula (1 Vibrio gesehen). Nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden: Mikrosk. steril. Wenig Leukocyten. Nach 18 Stunden: Moribund. Peritonealexsudat mikrosk. steril. Ziemlich viel Leuko- cyten. † nach ca. 20 Stunden. Peri- tonealexsudat mikrosk. steril. Wenig Leukocyten. |
|------|-------|--------|--------|----------------------------|--|

sondern mit Erythrocyten fort, weil die hämolytischen Antikörper auch im Reagenzglas einer genauen quantitativen Bestimmung zugänglich sind. Zur Injektion wählten wir Schweineblutkörperchen, um unsere Komplementbestimmungen ungestört mit Hammelblutkörperchen und Hammelblutambozeptor wie in den früheren Versuchen fortsetzen zu können.

Versuch 8 und 9 zeigen den Einfluß der intravenösen Injektion von 1 ccm Schweineblutkörperchenaufschwemmung auf Normalhämolysin- und Komplementgehalt des Kaninchens (Vers. 8 s. p. 93, Vers. 9 s. p. 94).

Versuch 8.

Kaninchen P. 184 (2190 g).

Injektion von 1 ccm Schweineblutkörperchen (dreimal gewaschen), intravenös. Blutentnahme zu verschiedenen Zeiten.

Bestimmung der hämolytischen Titer.

Alle Sera sind $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56°C inaktiviert; das Komplement ist ein Gemisch des Serums von 3 Meerschweinchen (Gewicht: 250–300 g); die Ambozeptormengen werden auf 0,5 ccm aufgefüllt; in jedes Röhrchen werden 1 ccm 10-proz. Schweineblutkörperchenaufschwemmung (dreimal gewaschen) + 0,5 ccm Komplement 1:5 gegeben. Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37°C , über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Ambozeptordosis | Serum vor der Injektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Inj. | Serum 2 Std. später | Serum 4 Std. später | Serum 9 Std. später | Serum 1 Tag später |
|-----------------|-------------------------|--|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,5 ccm | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. |
| 0,4 " | " " | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,3 " | " " | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,2 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,1 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,08 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,06 " | Spuren | Spuren | Spuren | Spuren | Spuren | Spuren |
| 0,04 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,02 " | minimal | minimal | minimal | minimal | minimal | minimal |
| 0,01 " | " | " | " | " | " | " |

Kontrollen: 0,5 ccm Komplement 1:5 + 10-proz. Blut = 0.
 0,5 ccm Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0.
 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.

Nach 7 Tagen beträgt der Titer:

| 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 |
|----------|-------------|------------------------|------------------------|--------|--------|---------|--------|
| komplett | fast kompl. | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | Spuren | minimal | 0 |

Komplementbestimmungen.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

- a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung (dreimal gewaschen).
 b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:6400).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37°C , über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl.-Dosis | Serum 0 Stunden | Serum $\frac{1}{2}$ Stunde | Serum 2 Stunden | Serum 4 Stunden | Serum 9 Stunden | Serum 1 Tag |
|--------------|------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,15 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,1 " | " | " | " | " | fast kompl. | fast kompl. |
| 0,05 " | fast kompl. | fast kompl. | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,04 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren |
| 0,03 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | minimal | minimal | minimal | minimal |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0.
 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.
 0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0.

In diesem Versuch wird der Normalhämolysegehalt nicht nachweisbar beeinflusst. Trotz des Fehlens der negativen Phase ist der Titer des Serums nach 7 Tagen um das ca. 6-fache gestiegen, ein Beweis dafür, daß auch für die Entstehung der Immnhämolyse ein vorausgegangener Schwund der Normalhämolyse, wie ihn Bail auf Grund seiner Versuche über Methämolyse annimmt, nicht Voraussetzung ist. Die Prüfung auf Komplementgehalt zeigt eine leichte Herabsetzung, die aber nicht diejenige des Kontrollversuches 1 übersteigt. Ähnliche Resultate ergab der folgende Versuch, der in gleicher Weise angestellt wurde.

Versuch 9. Kaninchen P. 191 (2600 g).

Injektion von 1 ccm Schweineblutkörperchenaufschwemmung (dreimal gewaschen) intravenös. Blutentnahme zu verschiedenen Zeiten.

Bestimmung der hämolytischen Titer.

Alle Sera für $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert; das Komplement ist ein Gemisch des Serums von 4 Meerschweinchen (Gewicht 250–300 g). Die Ambozeptormengen werden auf 1 ccm aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,25 ccm 10-proz. Schweineblutkörperchenaufschwemmung (dreimal gewaschen) gegeben + 0,5 ccm Komplement 1:5. Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C; über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Ambozeptordosis | Serum vor der Injektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Inj. | Serum 2 Std. später | Serum 4 Std. später | Serum 9 Std. später | Serum 1 Tag später |
|-----------------|-------------------------|--|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,5 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,3 " | " | " | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | " |
| 0,1 " | fast kompl. | fast kompl. | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | fast kompl. |
| 0,08 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,06 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,04 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | Spuren | Spuren | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,02 " | Spuren | Spuren | minimal | minimal | minimal | Spuren |
| 0,01 " | minimal | minimal | 0 | 0 | 0 | minimal |
| 0,005 " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,0025 " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Kontrollen: 0,5 ccm Komplement 1:5 + 10-proz. Blut = 0. 0,5 ccm Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0. 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.

Komplementbestimmungen.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

- a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung (dreimal gewaschen).
b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:6400).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl.-dosis | Serum vor der Injektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Inj. | Serum 2 Std. später | Serum 4 Std. später | Serum 9 Std. später | Serum 1 Tag später |
|--------------|-------------------------|--|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,15 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,1 " | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. |
| 0,05 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,04 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,03 " | Spuren | Spuren | minimal | minimal | minimal | minimal |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0. 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0. 0,15 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0. 0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = Spuren.

Hier ist in den Serumproben, die 2 Stunden bis 9 Stunden nach der Injektion entnommen wurden, eine leichte Abschwächung des Normalhämolysegehaltes erkennbar. Dieselbe ist aber so gering, daß sie wohl kaum als eine spezifische Beeinflussung der Normalhämolyse aufzufassen ist, vielmehr durch die Versuchsmethodik bedingt sein dürfte. Der Komplementgehalt ist in diesem Versuche nicht nachweisbar verändert.

In den beiden folgenden Versuchen wurden die Prüfungen am sensibilisierten Kaninchen wiederholt. Die Sensibilisierung geschah durch intravenöse Injektion von 1 ccm Schweineblutkörperchen, die Reinjektion in gleicher Weise nach 7 Tagen.

Versuch 10. Versuch am sensibilisierten Tier.

Kaninchen P. 189 (1955 g). Intravenöse Injektion von 1 ccm Schweineblutkörperchen (3mal gewaschen). Nach 7 Tagen Reinjektion in derselben Weise. Blutentnahme zu verschiedenen Zeiten.

Bestimmung der hämolytischen Titer.

Alle Sera sind $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° C inaktiviert; das Komplement ist ein Gemisch des Serums von 4 Meerschweinchen (Gewicht 250–300 g). Die Ambozeptormengen werden auf 1 ccm aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,5 ccm 10-proz. Schweineblutkörperchenaufschwemmung (3mal gewaschen) gegeben + 0,5 ccm Komplement 1:5. Die Röhrchen blieben 2 Stunden bei 37° C; über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Ambozeptordosis | Serum vor der Reinjektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Reinjektion | Serum 2 Stunden später | Serum 4 Stunden später | Serum 9 Stunden später | Serum 1 Tag später |
|-----------------|---------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,1 ccm | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,075 " | " " | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,05 " | " " | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,04 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,03 " | " " | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,02 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | Spuren | Spuren |
| 0,01 " | Spuren | Spuren | Spuren | minimal | minimal | " |
| 0,005 " | minimal | minimal | minimal | 0 | 0 | minimal |
| 0,0025 " | " | " | 0 | 0 | 0 | 0 |

Kontrollen: 0,5 ccm Komplement 1:5 + 10-proz. Blut = 0.

0,1 ccm Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0.

0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.

Komplementbestimmungen.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung (3mal gewaschen).

b) 10 ccm Ambozeptor $\frac{1}{100}$ (Titer 1:6400).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Komplementdosis | Serum vor der Reinjektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Reinjektion | Serum 2 Stunden später | Serum 4 Stunden später | Serum 9 Stunden später | Serum 1 Tag später |
|-----------------|---------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,15 " | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. |
| 0,1 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,05 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,04 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,03 " | Spuren | Spuren | Spuren | Spuren | Spuren | Spuren |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0.

0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.

0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0.

Versuch 11. Versuche am sensibilisierten Tier.

Kaninchen P. 190 (2180 g). Intravenöse Injektion von 1 ccm Schweineblutkörperchen (3mal gewaschen). Nach 7 Tagen Reinjektion in gleicher Weise.

Bestimmung der hämolytischen Titer.

Alle Sera sind $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° C inaktiviert; das Komplement ist ein Gemisch des Serums von 4 Meerschweinchen (Gewicht 250–300 g). Die Ambozeptormengen werden auf 1 ccm aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,5 ccm 10-proz. Schweineblutkörperchenaufschwemmung (3mal gewaschen), gegeben + 0,5 ccm Komplement 1:5. Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Ambozeptordosis | Serum vor der Reinjektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Reinjektion | Serum 2 Std. später | Serum 4 Std. später | Serum 9 Std. später | Serum 1 Tag später |
|-----------------|---------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,1 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,075 " | " | " | fast kompl. | fast kompl. | " | " |
| 0,05 " | " | " | inkomplett (kl. Kuppe) | fast kompl. | " | " |
| 0,04 " | fast kompl. | fast kompl. | " | inkomplett (kl. Kuppe) | fast kompl. | fast kompl. |
| 0,03 " | " " | " " | " | inkomplett (kl. Kuppe) | " " | " " |
| 0,02 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,01 " | " | " | " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | " |
| 0,005 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | " | Spuren | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,0025 " | Spuren | Spuren | " | Spuren | " | Spuren |

Kontrollen: 0,5 ccm Komplement 1:5 + 10-proz. Blut = 0. 0,1 ccm Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0. 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0.

Komplementbestimmungen.

Die Komplementmengen werden auf 0,25 ccm mit 0,8-proz. NaCl-Lösung aufgefüllt. In jedes Röhrchen werden 0,75 ccm einer Mischung gegeben:

- a) 20 ccm 10-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung (3mal gewaschen).
b) 10 ccm Ambozeptor 1:100 (Titer 1:6400).

Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 37° C, über Nacht bei Zimmertemperatur.

| Kompl.-Dosis | Serum vor der Reinjektion | Serum $\frac{1}{2}$ Std. nach der Reinjektion | Serum 2 Std. später | Serum 4 Std. später | Serum 9 Std. später | Serum 1 Tag später |
|--------------|---------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 0,25 ccm | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett | komplett |
| 0,2 " | " | " | " | " | " | " |
| 0,15 " | " | " | " | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. |
| 0,1 " | fast kompl. | fast kompl. | fast kompl. | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) |
| 0,05 " | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (kl. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) |
| 0,04 " | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | inkomplett (gr. Kuppe) | Spuren | Spuren | Spuren |
| 0,03 " | Spuren | Spuren | Spuren | minimal | 0 | 0 |

Kontrollen: Ambozeptor + 10-proz. Blut = 0. 0,85-proz. Kochsalzlösung + 10-proz. Blut = 0. 0,25 ccm Komplement + 10-proz. Blut = 0.

In Versuch 10 ist eine geringe, innerhalb der Fehlergrenzen der Versuchsanordnung liegende Herabsetzung des Hämolysingehalts, keine des Komplementgehalts wahrnehmbar. In Versuch 11 ist 2 Stunden nach der Injektion der Hämolysintiter etwas gesunken, nach 4 Stunden ist die Absenkung schon nicht mehr deutlich, nach 9 Stunden wieder das alte Niveau erreicht. Ob diese geringe Herabsetzung im Sinne einer negativen Phase zu deuten ist, mag dahingestellt bleiben. Der Komplementgehalt schwankt innerhalb der gewohnten Grenzen.

Zusammenfassend können wir sagen:

Bei unseren Choleraversuchen am Kaninchen war weder beim normalen noch beim sensibilisierten Kaninchen durch intravenöse Injektion von 1—2 Oesen Cholerakultur eine Herabsetzung des Bakteriolysegehalts festzustellen. Bei einem sensibilisierten Tier blieb auch der Agglutiningehalt unverändert. Trotzdem durch die Injektion kein nachweisbarer Verbrauch von Antikörpern zu erzielen war, wirkten die Einspritzungen sehr stark immunisierend. Der Gehalt des Serums an hämolytischem Komplement wurde durch die Injektionen ebenfalls nicht nachweisbar beeinflußt. In einem Versuch hatte die subkutane Injektion von 10 mg frisch gewonnener feuchter Typhuskultur beim Meerschweinchen auf dessen bakterizides Komplement (geprüft im Tierkörper durch Injektion von 1 Oese El Tor-Kultur + 1 IE. vibriolytisches Serum) keine abschwächende Wirkung.

Bei unseren Blutkörperchenversuchen, die ebenfalls an normalen und sensibilisierten Kaninchen ausgeführt wurden, zeigte sich mitunter keine, mitunter eine ganz leichte Herabsetzung des Hämolysegehalts, die kaum berechnen dürfte, von negativer Phase zu sprechen; der Komplementgehalt wurde nicht deutlich verändert.

Im Tierversuch läßt sich demnach unter Bedingungen, die im Vergleich zu den Immunisierungsversuchen am Menschen als sehr günstig bezeichnet werden müssen, der Nachweis einer negativen Phase auf keine Weise mit Sicherheit erbringen. Die beiden Komponenten, welche bei der Infektionsempfänglichkeit eine bedeutende Rolle spielen, die Antikörper und das Komplement, werden — entsprechend den Befunden von R. Pfeiffer und Friedberger — durch die Vaccination nicht wesentlich beeinflußt. Wenn demnach bei klinischen Immunisierungsversuchen am Menschen hier und da eine zunächst schädigende Wirkung des Vaccins beobachtet wird, eine Wirkung, die nach den vorliegenden Beobachtungen keineswegs konstant zu sein, vielmehr wenn überhaupt, nur ausnahmsweise einzutreten scheint, so wird man diese Schädigung nicht einfach als bekanntes und leicht zu deutendes Phänomen betrachten dürfen, sondern den eigentlichen Ursachen derselben erst nachzuforschen haben.

Nachdruck verboten.

Einfluss von Zucker auf Hämolyse und Virulenz.

[Aus dem Elisabeth-Krankenhaus in Kassel.]

Von Dr. Franz Kuhn (Kassel).

Seit Schottmüllers¹⁾ wertvollen Beobachtungen, daß die schwer pathogenen Streptokokken sich im Gegensatz zu anderen Streptokokken durch eine starke Hämolyse auf einem Blutagargemisch charakterisieren (Schottmüller nannte damals den hämolytischen Keim bekanntlich *Streptococcus longus pathogenes*, den anderen *Streptoc.*

1) Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 20 u. 21.)

mitior) ist das Thema der „hämolytischen Streptokokken“ nicht mehr aus der gynäkologischen Tagesliteratur verschwunden.

Das Interesse steigerte sich namentlich nach der Richtung, daß man aus der hämolytischen Eigenschaft eines Keimes Schlüsse auf seine Pathogenität ziehen wollte. Fromme¹⁾ und Heynemann²⁾ konnten in einer Reihe von Arbeiten die korrespondierenden Beziehungen zwischen Virulenz und Hämolyse der Streptokokken, wenn sie frisch vom Lochialsekret stammten, dartun, und Veit³⁾ glaubte die Behauptung aufstellen zu können: „Findet man Streptokokken, so kann nur das kulturelle Verhalten der Keime auf Blut erweisen, ob sie virulent sind oder nicht. Nur die Hämolyse entscheidet.“

Andere Autoren (Boxer, Beitzke und Rosental, Schuhmacher, Scheuer, Freymuth, Zangenmeister, Natwig, Walthard, Sigward) sind auf Grund eingehender Beobachtungen und Untersuchungen anderer Ansicht. Sie glauben nicht, daß es allgemein gelingt, die Streptokokken im Lochialsekret hinsichtlich ihrer Virulenz nach dem Grade ihrer Hämolyse zu differenzieren.

Im weiteren Verlaufe der Diskussion traten dann bekanntlich noch ferner hinsichtlich der Auffassung, ob die Pathogenität bzw. der Grad der Virulenz eine dem Bakterienstamm anhaftende oder nur eine erworbene Eigenschaft ist, Meinungsverschiedenheiten auf.

Auf Grund zahlreicher Beobachtungen, Studien und Versuche, deren Resultate ich an verschiedenen Stellen zum Teil bereits niedergelegt⁴⁾, gestatte ich mir, im folgenden zu diesen Fragen einiges experimentelle Material von mir und anderen zu liefern.

In meiner Arbeit in Langenbecks Archiv. Bd. 96. H. 4 habe ich in eingehender Weise dargetan und bewiesen, welch prinzipielle Rolle die Kohlehydrate, und unter ihnen namentlich ihrer leichten Assimilierbarkeit wegen für viele Bakterien die Zuckerarten spielen.

Vor allem habe ich dort gezeigt, wie diese Zuckerbeimischungen in den Nährsubstraten die Keime für sich gleichsam gefangen nehmen und ablenken, und wie sie durch ihre Gegenwart jede weitere Gärung in die saure Richtung bringen.

Auch zeigte ich daselbst schon, wie der Zucker für viele Bakterien, namentlich solche, welche auf dem Menschen parasitieren, im gewissen Sinne ein „debravierendes Moment“ darstellt, eine Veranlassung, die zu einer „Art von Degenerierung“ vieler Keime führt (s. dort p. 841).

Auf diesem Wege, also einerseits durch die Ablenkung der Keime in einen herbivoren Stoffwechsel, andererseits durch die Verführung derselben zur Produktion „saurer“ Produkte, endlich durch den genannten „denaturierenden“ Einfluß auf ihr Zellstroma, kam ich zu dem Schlusse einer „Verringerung der Virulenz der Keime“ durch Zucker.

Diese Schlußfolgerung gilt es nun hier weiter zu beweisen.

Was verstehen wir unter Virulenz: Wir verstehen darunter den schädlichen Einfluß, welchen die in den Körper eingedrungenen Keime entweder pathologisch-anatomisch, also örtlich, ausüben, oder jenen, welchen sie durch ihre Stoffwechselprodukte (Toxine und Endotoxine) auf Zellen und Gesamtorganismus entfalten. Schon indem die erstere Wirkung sehr wesentlich von der letzten abhängt, ist die letztere jedenfalls die wichtigere.

1) Fromme, Bumms Archiv. 1908. — Centralbl. f. Gynäk. 1908. No. 37.

2) Heynemann, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 4.

1) u. 2) Fromme und Heynemann, Ueber die Hämolyse der Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 19.)

3) Veit, Die Anzeigepflicht beim Kindbettfieber. [Universitätsprogramm.] Halle 1908.

4) Kuhn, Das röhrenförmige Speculum bei der Bauchfellentzündung. (Centralbl. f. Chirurg. 1911. No. 35.) — Die biologische Behandlung der Peritonitis. (Münch. med. Wochenschr. 1911. No. 38.) — Die Zuckerbehandlung der Peritonitis. (Langenbecks Archiv. Bd. 96. 1911. H. 3.) — Zucker in der Vagina und beim Puerperium. (Zeitschr. f. Gynäk. u. Geburtsh. 1912.)

Wollen wir also Proben auf Virulenz machen bzw. wollen wir beweisen, daß wir durch irgendein Verfahren oder durch eine Substanz die Virulenz eines Keimes herabsetzen, so müssen wir vor allem einmal für diese Substanz ihre vorwiegende Wirkung auf die Toxinbildung gewisser Keime beweisen.

Gilt dieser Nachweis schon hinsichtlich der Toxinbildung, insbesondere der eigentlichen sogenannten Toxine, so würde noch eine weitere Tatsache ebenso sehr unsere Behauptung stützen und illustrieren, nämlich die Tatsache, daß es uns gelinge, auch einen hemmenden Einfluß auf die Hämolyse darzutun.

Der Schlußstein einer Beweisführung für die Behauptung, daß Zucker die Virulenz der Keime herabsetzt, ist natürlich durch direkte, hierauf gerichtete Versuche zu erbringen. So machte z. B. Kayser¹⁾ Versuche am Kaninchenauge mit Kulturen von *Staph. pyogenes aureus* (2 Stämmen), welche er auf Zuckerbouillon gezüchtet hat (10 Tage, unter Zusatz von CaCO_3).

Er vermochte eine wesentliche Verringerung der Virulenz (zweimal Panophthalmie und zweimal Hypopyon gegenüber zweimal Hypopyon und zweimal Fehlen erster Folgen) bei den zuckergezüchteten Keimen zu konstatieren.

In ähnlicher Weise wäre für alle Keime der Beweis zu führen, und sind wir auch im Begriffe, am Institut für Infektionskrankheiten dies zu tun.

Inzwischen aber wollen wir uns damit begnügen, den Begriff Virulenz in die obengenannten Einzelbegriffe aufzulösen und den Einfluß des Zuckers auf diese zu beweisen.

Und wenn es dann feststeht, daß:

1) die Gegenwart von Zucker die Keime von der Toxinbildung ablenkt, und ebenso wie von der Bildung anderer alkalischer Gifte, auch von der Hämolyse, wenn es ferner gewiß ist, daß:

2) die Gegenwart von Zucker außerdem noch auf rein chemischem Wege wirkt, indem die durch die Vergärung des Zuckers entstehende Säure wieder ihrerseits viele Gifte unschädlich macht, dann müssen wir begreifen und zugeben, daß der Zucker zuletzt die krankmachende Wirkung der Keime wesentlich beeinflussen muß, sonach, mit anderen Worten ausgedrückt, ihre Virulenz oder ihre Pathogenität ändern muß.

Dazu kommt noch, wie gesagt, der „denaturierende“ oder „degenerierende“ Einfluß des Zuckers auf das Protoplasma der Keime, wie ich solche hier p. 101 und in meinem Aufsätze in Langenbecks Archiv ebenfalls dartue (s. dort p. 841).

Stellen wir in dieser Abhandlung, welche mehr den Toxinen und vor allem den Hämolyseinen gewidmet ist, zuerst kurz den letzteren Punkt voraus.

Kapitel I.

Einfluß von Zucker auf das Protoplasma der Bakterien.

In meinem Aufsätze in Langenbecks Archiv habe ich, wie gesagt, in einem größeren Abschnitte die antiseptische und die „degenerierende“ Wirkung des Zuckers dargetan (vgl. daselbst p. 838 ff.).

In dem Aufsätze, ferner in der Zeitschr. f. Gynäk. bringe ich eine neuere Tabelle zu demselben Thema, das zahlenmäßig und in Prozenten die bakteriziden Wirkungen konzentrierter Zuckerlösungen darstellt.

Die Arbeit stammt aus dem Straßburger hygienischen Institut und enthält zwei interessante Tabellen über 50-proz. Traubenzucker- und 25-proz. Galaktoselösungen und gründet sich auf Arbeiten von Levy, Blumenthal und Marxer²⁾,

1) Kayser sagt zu diesem Kapitel: 1) Die Virulenz der Staphylokokken wird durch Züchtung auf 2-proz. Traubenzuckerbouillon dauernd geschwächt. 2) Eine Säureanhäufung ist an dieser Wirkung nicht beteiligt.

2) Levy und Blumenthal, Ueber die bakterizide Wirkung des Zuckers. (Med. Klinik. 1906. No. 16). — Levy, Blumenthal und Marxer, Abtötung und Abschwächung durch chemisch indifferente Körper. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. H. 3.)

welche diese Autoren schon 1906, teilweise über die Abschwächung von Mikroorganismen durch Glycerin, Zucker und Harnstoff (auf dem Wege der Osmose) publizierten.

Bereits vorher hatte Löffler ein Verfahren der Herstellung von Immunisierungsmaterialien, die Imprägnierung von Zuckerstücken mit Bakteriensuspensionen (Gedenkschrift von Leuthold 1906) veröffentlicht.

Auf die in den vorstehenden Arbeiten niedergelegten Beobachtungen gründen die Verfasser¹⁾ ihr Verfahren der Tötung der Tuberkelbacillen. Levy und Krecher besprechen dann²⁾ ein neues, „Tebean“ genanntes Antituberkulosemittel, welches dadurch hergestellt wird, daß man Tuberkelbacillen mit 25-proz. Galaktoselösung 4¹/₂ Tage bei 37° schüttelt und dadurch abtötet. (Die Lösung wird alsdann zusammen mit der Zuckerosung im Vakuum abgedampft.)

Wie ausgiebig man von der abtötenden Wirkung des Zuckers gegenüber Keimen auch anderwärts praktischen Gebrauch macht, zeigen die Anwendungen zur Herstellung von weiteren Schutzseris.

Marxer³⁾ benutzt sie bei Immunisierung gegen Streptokokkeninfektion, wobei sich die durch Harnstoff oder Galaktose abgetöteten Streptokokken besser zur Immunisierung von Kaninchen eignen als solche, die durch Hitze getötet wurden.

Boughton⁴⁾ benutzt Streptokokkenkulturen, welche durch Galaktose abgetötet sind, zur Behandlung eitriger Komplikationen von kontagiösen Krankheiten.

Soweit zum ersten die antibakterielle Wirkung konzentrierter Lösungen. Sie sind naturgemäß für Zucker nicht spezifisch, sondern sind vielmehr für alle hypertonen Lösungen, auch von Salzen, analog und ähnlich.

Anders steht es um die Beeinflussung von Bakterien hinsichtlich ihrer Lebensäußerungen und ihres Stoffwechsels durch minder konzentrierte Zuckerlösungen.

Eine solche Beeinflussung läßt sich namentlich an Keimen, welche wohl einerseits als Krankheitserreger am tierischen Körper auftreten, außerhalb des Organismus aber auch eine saprophytische Lebensweise führen können, beobachten.

Ich will, bevor ich meine eigenen diesbezüglichen Versuche bringe, einige gute Beobachtungen anderer Autoren aus der Literatur bringen, die ich bereits zum Teil in Langenbecks Archiv mitgeteilt habe. Es sollen nur Beispiele sein und sollen hier nur der Vollständigkeit dieses Kapitels wegen kurz wiederholt werden.

Heyrovsky⁵⁾ berichtet: „Impft man Pneumokokken in 1-proz. Traubenzuckerbouillon, so tritt äußerst üppige Vermehrung auf, daneben Zeichen der Degeneration der Kokken (Entfärbbarkeit nach Gram, Quellung, schließlich Absterben). Läßt man eine 12–20-stündige Glukosekultur längere Zeit stehen und löst den Niederschlag vorsichtig in Alkali auf, so tritt in den so behandelten Kulturen Agglutination und Präzipitation schon nach Zusatz geringer Mengen spezifischen Serums auf, die eine normale Pneumokokkenkultur völlig unbeeinflusst lassen. Das auf die degenerierten Formen wirkende Agglutinin ist nicht identisch mit dem die normalen Pneumokokken beeinflussenden.“

Glaessner⁶⁾ züchtete Bakterien mit und ohne Zucker. Die auf Zucker gewachsenen waren nur äußerst wenig Agglutinin zu bilden imstande. Also war ihr Protoplasma in seinem Zustande geändert.

Martin teilt aus dem Pasteurschen Institut Versuche mit Diphtheriekulturen mit: Nach fünfmaliger Umzüchtung auf zuckerhaltigen Nährböden bildet der Keim viel weniger Toxin, nach 20 Tagen kaum mehr Toxin. Die Verringerung der Fähigkeit, Toxin zu bilden, ist noch plumper bei direkter Impfung aus dem Munde des Kindes.

Aehnliches besagt die Beobachtung von Fränkel und Brieger⁷⁾, nach der die auf Glycerinagar fortgezüchteten Diphtheriebakterien ihre toxinbildenden Eigenschaften verloren.

1) Levy, Blumenthal und Marxer, Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. H. 3; Bd. 42. 1908. H. 3.)

2) Levy und Krecher, Ueber die Wirkung und therapeutische Verwertung der durch Galaktose abgetöteten Tuberkelbacillen (Tebean). (Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 4. 1910. p. 286.)

3) Marxer, Ueber Streptokokkenimmunisierung mit besonderer Berücksichtigung der Drusestreptokokken. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 8. 1910. p. 322.)

4) Boughton, Journ. of inf. Dis. Vol. 7. 1910. p. 99.

5) J. Heyrovsky, Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des *Diplococcus pneumoniae*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. H. 6.)

6) Carl Glaessner, Ueber den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens auf die Immunkörper. (Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. Bd. 1. H. 3.)

7) Brieger und Fränkel, Untersuchungen über Bakteriengifte. (Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 11 u. 12.)

Eigene Versuche.

Ich selbst suchte nun auf anderem Wege den Einfluß des Zuckers auf die vitale Energie und die funktionelle Tüchtigkeit des Protoplasmas der Bakterien darzutun.

Ich wollte zeigen, daß es gelingt, durch systematisch fortgesetzte Züchtung auf Zucker die qualitative Tüchtigkeit und Kraft der Bakterien nach einer besonderen Richtung, und zwar in diesem Falle der Richtung der Bildung von Hämolytinen, zu verringern.

Um die Verhältnisse besonders gut graphisch darzustellen, wählte ich zu den Versuchen die Methode meiner Zuckerblutagarplatte, wie ich sie zum erstenmal in Langenbecks Archiv p. 830 und in der Zeitschr. f. Geb. u. Gynäk. 1912 beschrieben.

Eigene Versuche, betreffend das Verschwinden der hämolytischen Eigenschaften durch systematisches Fortzüchten auf Zucker.**1. Versuchsreihe, 21. 11. 1911. (Streptokokken.)**

Je 5 Platten aus einer Bouillon-Zuckerkultur, die an 4 Tagen, also 4mal, immer in Zuckerbouillon umgeimpft wurde. (Stamm der Versuchsreihe IV.) Auf jeder Platte Kolonien, dünn gesät, nach 24 Stunden mit kleinster Andeutung eines hämolytischen Hofes, der auch ohne Zucker nur minimal bleibt, nicht zur Diffusion führt, überhaupt äußerst verzögert und zagend auftritt. (Auf Zuckeragar die Vorgänge noch langsamer.) Die Kolonie selbst (abgesehen vom Hofe) entwickelt sich mit und ohne Zucker gut. (Vgl. hierzu die Schilderung über das Wachstum des Stammes vor der dreimaligen Zuckerumzüchtung auf p. 108, Versuchsreihe 4.)

2. Versuchsreihe. (Streptokokken.)

I. Saatkolonien. Nach 4 Ueberzüchtungen auf Zucker, sowohl auf Zuckeragar als auf zuckerfreiem Agar reichliche Kolonien, ohne Hämolyse nach 24 Stunden. Oft ist noch gerade ein leichter Anlauf zur Hofbildung vorhanden (mehr an der Farbe auf Zucker zu erkennen).

II. Im Strich auf der Agarplatte (Pferdeblutserum). Der Strich auf der zuckerfreien Platte ist sehr spärlich und schwach entwickelt, jeder Hämolyse bär. Auf der Zuckerplatte die Strichkultur besser entwickelt. Hämolyse fehlt ganz.

3. Versuchsreihe. (Druse.)

Druse nach 4 Umzüchtungen auf Zucker lebt noch, entwickelt aber im Strich auf Pferdeblutserum nur mehr sehr viel schwächere Hämolyse.

4. Versuchsreihe. (Streptokokken.)

Streptokokken nach 9 Umzüchtungen (NB. auf täglich neu gewechselter Zuckerlösung, also Säurewirkung ausgeschaltet!) wollten im Gläschen schon nur mehr schwach wachsen.

Auf Platten mit Blutagar (gewaschenes Kaninchenblut) wachsen nur sehr wenig und schwach sich entwickelnde Kolonien; das ganze Wachstum scheint verzögert, verlangsamt.

Vielleicht gehört hierher auch die Beobachtung von Laabs¹⁾, daß Drusestreptokokken (welche sich bekanntlich durch eine sehr starke Hämolyse auf der Blutagarplatte auszeichnen), wenn sie aus Milch gezüchtet werden, im Gegensatz zu allen anderen Stämmen keine Resorptionshöfe um die Kolonien zeigen, gleich, welche Blutart in Frage kommt; und die Beobachtung von Kayser²⁾ (vgl. Tabelle daselbst, Kolonne e) [nach dem die durch Zucker geschädigte Virulenz nicht mehr herstellbar ist], wonach die 10 Tage durch Traubenzucker gegangenen Keime dann schwächere Hämolsine bilden, wie die nicht durch Zucker gegangenen.

Nicht dieselben Erfahrungen wie Laabs mit Druse auf Milch machte Le Blanc mit Streptokokken vom Menschen. Le Blanc³⁾ züchtete Strept. pathogenes und Strept. mitior 3 Tage auf Milch. Bei der Impfung auf Agarblutplatten waren die Pathogenes-Stämme in allen Dingen, auch hinsichtlich der Hämolyse, unverändert, von den Mitior-Kolonien dagegen einer sofort sehr geschwächt, der zweite am 3. Tage, der dritte blieb unbeeinflusst. In den Wachstumseigentümlichkeiten, besonders mikroskopisch, war aber (entgegen Zöpplitz) keine Aenderung eingetreten. (Speichel wirkte nicht bakterizid und nicht ändernd.)

1) Laabs, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. 1911. p. 756.

2) Kayser, Einfluß des Zuckers auf den Staphyl. pyogenes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902.)

3) Le Blanc, Centralbl. f. Bakt. I. c.

Kapitel II.

Einfluß von Zucker auf die Toxinbildung.

Bevor ich auf unser eigentliches Thema, die Hämolyse unter Zucker, eingehe, stelle ich ihrer prinzipiellen Wichtigkeit wegen und auch aus dem Grunde, weil diese Verhältnisse am besten durchforscht und ausgebaut sind, die Forschungsergebnisse an den typischen Haupttoxinbildnern unserer bakteriologischen Literatur an die Spitze.

Ueber die Beeinflussung der Eiweißfäulnis und der alkalischen Gärung und der Ptomainbildung habe ich mich an anderer Stelle (Langenbecks Archiv) eingehend verbreitet.

Hier sollen nun die Wirkungen auf die typischen Toxine selbst kurz zur Sprache kommen, so namentlich die Wirkung des Zuckers auf die Bildung der Toxine der Diphtherie, des Tetanus, der Cholera und des Rauschbrandes.

Diphtherie.

Sehr gute Versuche und Beobachtungen sind gerade an diesem Keime, der als das Prototyp der toxischen Keime gilt, gemacht: Zucker schädigt die Bildung des Diphtherietoxins.

Martin stellte im Pasteurschen Institute fest, daß das Diphtherietoxin sich erst in dem Momente bildet, wo die Säure der Kultur sich vermindert. Zur Erläuterung dieser Beobachtung erklärt Viquerat: „Die Diphtheriekeime vergären zuerst die Kohlehydrate zu Milchsäure, dann erst zerlegen sie die Peptone und bilden Toxine.“ Dementsprechend erhielt Löffler (1890) aus seiner zuckerhaltigen Kultur nach 3 Tagen weder im Auszug noch im Rückstand Toxin; aus neutralem Fleischbrei extrahierte er nach 4—5 Tagen toxisch wirkende Körper.

Die Diphtheriekultur auf Bouillon wird nach 1—3 Tagen sauer, dann allmählich alkalisch (bei Zusatz von Glycerin dauernd sauer) (Brieger und Fränkel). Nach 4—5 Wochen sind in der alkalischen Kultur die Toxine gebildet (Roux und Yersin).

Die wechselnde Reaktion in den Diphtheriekulturen führte bekanntlich dazu, besondere Typen des Wachstums der Diphtheriekulturen zu unterscheiden.

Man unterschied [Spronck¹⁾] 3 Typen der Entwicklung.

Die Erklärung dieser merkwürdigen Tatsachen hat allerlei Kopfzerbrechen gemacht; zuletzt erklärte sich alles aus dem ungleichen Gehalte der Nährlösungen an Kohlehydraten.

Die Bouillon nämlich einerseits enthält Zucker aus dem Glykogen der Muskeln²⁾ (und diesen in gelegentlich verschiedener Menge), ebenso enthält das käufliche Pepton, das zur Bouillon zugesetzt wird, häufig Zucker.

Eben diese Kohlehydrate werden nun, wenn sie in dem Kulturmedium vorhanden, von den Diphtheriebacillen zuerst gespalten, und zwar unter Bildung von Säuren.

Wie gesagt, enthalten alle die gewöhnlichen, mit Fleischinfus bereiteten Nährböden infolge des Gehaltes an Muskelzucker (Glukose) in der Regel schon an sich geringe Mengen von Zucker. Will man absolut zuckerfreie Gelatine erhalten, so muß man die Glukose durch eine zweektägige Aufbewahrung bei 10—15° sich zersetzen lassen (Milchsäurebildung) (Péré, Spronck).

Agar, das ein Kohlehydrat ist, enthält, weil es gekocht wird, stets geringe Mengen von Zucker.

Alle die angeführten Beobachtungen³⁾ sind nichts weiter als eine große Bestätigung der Tatsache, daß der Zucker in durchaus

1) Spronck, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895. p. 758.

2) Vgl. Friedberger, Die allgemeinen Methoden der Bakterien. (Handb. von Kolloid und Wassermann. p. 446.)

3) Weitere Beobachtungen siehe in Langenbecks Archiv.

maßgebender Weise die Toxinbildung in einer Diphtheriekultur hintanhält und verhindert.

Ist wenig Zucker in der Nährlösung, wird sie gar nicht sauer (Typus 2) und die Toxinbildung beginnt alsbald und erreicht hohe Grade.

Jede Säureentwicklung, die nur aus Kohlehydraten stammt, sei sie dauernd (Typus 1) oder nur vorübergehend (Typus 3) schädigt und verzögert die Toxinbildung. Neutralisieren der Säure hilft erfahrungsgemäß der Entwicklung des Keimes wie der Toxinbildung vorwärts.

Bei Doerr lesen wir ferner: „Sowohl bei der Lösung des Diphtherieals des Dysenterietoxins besteht eine ausgesprochene Korrespondenz zwischen Zunehmen der Alkaleszenz und des Toxingrades“¹⁾.

In neueren Darstellungsmethoden hochwertigen Diphtherietoxins, z. B. von Hitchens²⁾, wird das neutrale Fleischwasser einen Tag mit einer Coli-Kultur im Brutschrank bebrütet (Smithsche Methode, wodurch naturgemäß der Zucker vergoren wird) und dann nochmals neutralisiert.

Tetanus. Rauschbrand. Cholera.

Auch bei anderen pathogenen Keimen walten ähnliche Bedingungen wie bei der Diphtherie. (Genauerer siehe Volkmanns Archiv.)

Gewiß kommen, wie gerade beim Rauschbrand (z. B. bei der sogenannten „protrahierten Gärung“ im Anfange des Wachstums der Kultur bei Zuckergegenwart), Ausnahmen vor. In diesem Falle abstrahiert sichtlich der Keim vom Zucker. (Vgl. Grassberger und Schatt en froh, Ueber Rauschbrandgift und ein antitoxisches Serum. Wien 1904.)

Aus dem Entstehen von Säuren aus anfänglich vorhandenem Zucker erklärt sich die häufige Notwendigkeit, zum Zustandekommen des Giftes den Kulturen „säurebindende“ Substanzen, z. B. Kalk, zuzusetzen.

Der Zusatz von Zucker zu Beginn hatte dann nur den Zweck, das Wachstum der Keime anzuregen; oft auch (Grassberger u. Schattenfroh) eine „Art von Degenerierung“ im Gegensatz zur Sporenbildung (im Interesse besserer Toxinbildung) zu fördern.

Aus allen diesen Gründen erklärt es sich, daß wir, wie wir bei der Züchtung des Rauschbrandgiftes erfahren, dasselbe nicht erst in der „Nachgärung“, nach 4—8 Tagen, zu erwarten haben.

Kapitel III.

Einfluß von Zucker auf die Bildung der Hämolyse.

Ganz analog nun, wie auf die typische Toxinbildung, wirkt Zucker auch hinsichtlich der Bildung der sogenannten Blutgifte, der Hämotoxine und Hämolyse.

Es liegen bereits einige Versuche nach dieser Richtung von Neisser und Wechsberg³⁾ vor:

Zunächst konstatieren Verfasser, daß das Staphylolysin eine völlig analoge Konstitution mit der des Diphtherie- und Tetanustoxins hat. (Vgl. was wir im vorhergehenden über Zucker im Verhältnis zu diesen sagten.)

Sie arbeiteten mit den Filtraten von Bouillonkulturen nach der Art von Krauss, van de Velde und v. Lingelsheim.

Diese Filtrate von Bouillonkulturen sollen allerdings nach Kerner, der mit Streptokokken arbeitete, nicht immer zur Bildung von Hämolyse führen (ob Zucker?). Auf flüssigem Blutsrum gelang es aber, immer hämolytisch wirkende Filtrate zu erhalten.

Sobald Zucker im Nährboden, wird die Hämolysebildung stark beeinträchtigt⁴⁾.

Nach Kerner⁴⁾ „schädigt eine Passage der Bakterientoxine bildenden Streptokokken durch Zuckerbouillon das Vermögen der Hämolyse stark“.

1) Madsen, Zeitschr. f. Hyg. 1894.

2) Hitchens, Relation of the index of alkalinity of the production of diphtheria antitoxin. (Journ. of med. Res. Vol. 13. 1905. Aug. No. 5.)

3) Neisser u. Wechsberg, Ueber das Staphylotoxin. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. p. 299.)

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 223 u. 329.

Die Messung geschah in Gläschen an der Hand einer Schicht gelösten Blutfarbstoffes (burgunderrote Schicht). Auch jede Ueberimpfung auf künstliche Nährböden setzt das hämolytische Vermögen herab.

Autor hatte 16 Streptokokkenstämme verschiedener Herkunft und verschiedener Virulenz in Bearbeitung, darunter waren 11 mit deutlich hämolytischen Eigenschaften.

Kraus u. Clairmont¹⁾ beschränken sich bezüglich des Zusammenhangs zwischen Hämolysebildung und der Säurebildung durch *Bact. coli* auf die Bemerkung: „Die Art des Nährbodens scheint für die Bildung von Hämolytinen von Bedeutung zu sein.“

Kayser meint, daß die Hämotoxinbildung vorübergehend unter dem Traubenzucker leidet (vgl. diese Seite unten).

Bei Pribram (Handb. v. Kolle u. Wassermann. 1907. Bd. 1. p. 300) finden wir neuerdings die Verhältnisse zwischen der Bildung von Bakterienhämotoxinen und Zucker folgendermaßen ausgesprochen:

„Entsprechend der Abhängigkeit der Hämotoxinproduktion vom Nährboden ist es nicht gleichgültig, welcher Art dieser ist. Im allgemeinen gilt, daß traubenzuckerhaltige Nährböden die Hämotoxinbildung stark beeinträchtigen, daß dieselbe aber bei den meisten Bakterien in gewöhnlicher, d. h. zuckerfreier alkalischer Bouillon stattfindet.“

Besonders beim Tetanuskeim betonten Pribram und Russ (Kraus u. Levaditi. Bd. 1. 1908. p. 205), daß bei der Kultur zwecks Bildung von Hämotoxin Zusatz von Traubenzucker unbedingt zu vermeiden ist.

Leider sind die meisten der vorstehenden Versuche nur so „nebenbei“ zu dem Zwecke angestellt, den Einfluß des Zuckers auf die Hämolyse zu prüfen. Um so mehr galt es in dieser Frage zu einer definitiven Entscheidung zu kommen.

Zwar liegen schon einige Anläufe vor, die Frage genauer experimentell zu lösen:

Mehr vom Standpunkte der durch die Anwesenheit von Zucker gebildeten Säure treten folgende Autoren der Frage näher in ihren Arbeiten „traubenzuckerhaltige Nährböden hinsichtlich der Hämolyse“.

Schlesinger²⁾ fand: daß die 0,1-proz. Aronsonsche Zuckerbouillon an sich nicht hämolytisch wirkt, aber trotzdem beobachtete er einige Male bei positiven Resultaten in gewöhnlicher Bouillon, negative Resultate bei der gleichen Kultur in Zuckerbouillon. Er fragt sich, „ob nicht die durch die Streptokokken aus dem Traubenzucker gebildete Säure die Hämolysebildung störten.“ (Vgl. hierzu unsere Versuche p. 112.)

Levin³⁾ schreibt: „Ich möchte betonen, daß Kulturen in Traubenzucker an hämolytischer Kraft denen in gewöhnlicher Bouillon nicht überlegen sind.“

Natwig⁴⁾ meint, daß (wenigstens bei vielen Stämmen), die Hämolyse in neutralen Blutbouillons mit oder ohne Zusatz von Traubenzucker, im wesentlichen wenigstens, ein Resultat der Säureproduktion in den Bouillons und der daraus folgenden Reaktionsveränderung in denselben war.

Speziellere Aufschlüsse geben die Arbeiten von Kayser⁵⁾, mit Staphylokokken angestellt. Kayser machte eingehende Versuche an der Hand von Bouillonfiltraten von Kulturen, die mit kohlen-saurem Kalk neutralisiert waren.

Er stellte folgende Tabellen auf: die erste Kolumne zeigt die Zusatzmenge des Kulturfiltrates.

- Kolumne 2: b) Blut ist defibr. Kaninchenblut.
 c) Löffler-Kulturfiltrat = 10-tägig.
 d) Traubenzuckerbouillon I = ohne CaCO_3 .
 e) III = mit Kokken, die aus Traubenzucker stammen.
 f) Traubenzuckerbouillon II = mit CaCO_3 -Zusatz.

1) Kraus u. Clairmont, Wien. klin. Wochenschr. 1900. p. 52.

2) Schlesinger, Experimentelle Unters. über das Hämolyse der Streptok. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. 1903. p. 428.)

3) Levin, Ueber Streptolyse, Nordsk med. Arkiv. Afd. II. H. 3. No. 15.

4) Natwig, Arch. f. Gynäk. Bd. 76. 1905. p. 808.

5) Kayser, Die Einwirkung des Traubenzuckers auf verschiedene Lebensäußerungen des *Staphylococcus pyogenes* (Virulenz, Hämolyse). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902. p. 29.)

I. Tafel. St. ameus I.

| a. Bouillon- filtrat | b. Blut | c. Löffler- Bouillon | d. Trauben- bouillon I | e. Löffler- Bouillon III | f. Trauben- bouillon II |
|----------------------------|------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 1,0 | 1 Tropfen | komplett | Kuppe | fast komplett | große Kuppe |
| 0,75 | dgl. | fast komplett | 0 | Kuppe | Kuppe |
| 0,5 | " | inkomplett | 0 | Spur | Spur |
| 0,25 | " | Kuppe | 0 | Spur | 0 |
| 0,1 | " | Spur | 0 | Spürchen | 0 |
| 0,05 | " | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,025 | " | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,01 | " | 0 | 0 | 0 | 0 |

II. Tafel. St. albus.

| | | | | | |
|-------|-----------|-------------|----------|---------------|----------|
| 1,0 | 1 Tropfen | komplett | ganz rot | komplett | ganz rot |
| 0,75 | dgl. | komplett | Spur | komplett | Kuppe |
| 0,5 | " | inkomplett | 0 | fast komplett | Spur |
| 0,25 | " | große Kuppe | 0 | große Kuppe | Spürchen |
| 0,1 | " | Spur | 0 | Spur | 0 |
| 0,05 | " | Spürchen | 0 | Spürchen | 0 |
| 0,025 | " | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,01 | " | 0 | 0 | 0 | 0 |

Die Erklärung der Tabellen ist folgende:

Tafel I ergibt: Der Zusatz von Traubenzucker zu der Bouillon (d) verringert die hämolytische Kraft des Filtrates nach 10-tägigen Gärung, verglichen mit zuckerfreier Bouillon (c), derart, daß erst 1 g Traubenzuckerbouillonfiltrat so viel leistet wie 0,25 g Bouillonfiltrat. Bei Beseitigung der Säure ist der Unterschied etwas geringer.

Tafel II zeigt: Zusatz von Traubenzucker reduziert die Hämolysekraft im Verhältnis von 0,75 oder 0,5 zu 0,1.

In beiden Fällen also laut Versuchsreihen eine deutliche Herabsetzung der hämolytischen Kraft durch Zuckergegenwart.

Von ausschlaggebender Bedeutung waren uns aber erst folgende Versuche, die wir selbst anstellten:

Wir wollten feststellen, wie der hämolytische Einfluß eines hämolytischen Keimes durch die Anwesenheit von 4 Proz. Traubenzucker in dem Nährboden gestört wird.

Als Testobjekte wählten wir 1) eine hämolytisch beweisende Blutagarplatte mit Zuckerzusatz, die wir uns zu diesem Zwecke erfanden (uns wundert, daß man sich dieses einfachen Kunstgriffes nicht schon lange bediente), 2) eine Versuchsanordnung im serologischen Reagensgläschen mit Unterschichtung mit sterilem Blut ohne und mit Zuckerzusatz.

Als ich die einschlägige Literatur studierte, war mir die Tatsache sehr auffallend, daß man seither nicht schon ähnlich vorgegangen.

Es liegen zwar eine Reihe von Arbeiten über das Wachstum von Streptokokken auf zuckerhaltigen Nährböden vor, so von Bednikoff¹⁾, Natwig, Sachs, Scheib, Laabs.

man prüfte die Säuremengen (Winslow u. Palmer, Freytag, Natwig, Sachs), sah, daß sie sämtlich (Bednikoff) Glykose angreifen, allerdings in verschiedener Intensität,

versuchte sonstige Unterscheidungen auf verschiedenen Zuckerbouillonarten (Laabs²⁾, Scheib).

1) Bednikoff, Sur le groupement des microbes du genre Strept. (Arch. d. scienc. biol. St. Pétersbourg. T. 15. 1910.)

2) Laabs, Vergl. Unters. über den Streptoc. equi und andere Strept. (Zeitschr. f. Veterinärk. Jg. 22. 1910.)

benutzte den Drigalski-Conradischen Nährboden [Laabs, Scheib¹⁾], züchtete Streptokokken auf Bouillon und prüfte die Filtrate [Kerner²⁾ meinte, die Filtrate von Bouillonkulturen zeigen keine hämolytischen Eigenschaften].

Sigward verwendet die Traubenzuckerbouillon zu folgendem Zwecke: „Eine Streptokokkenreinkultur in dieser Bouillon läßt nach ihm die Diagnose auf puerperale Infektion zu, während eine Mischkultur diese Diagnose als unwahrscheinlich erscheinen läßt.

Krönig u. Pankow (Centralbl. 1909. No. 5) glaubten, auf den Blutagarplatten wüchsen die virulenten, auf der Zuckerbouillon daneben auch die saprophyten Streptokokken. Sachs untersuchte den Zusammenhang zwischen Hämolyse und Säurebildung³⁾

nach Natwig.

Nach ihm ist die Wirkung auf die Bakterienhämolysinbildung abhängig von der Avidität der Lecithinlösung (die auch beim Stehen sauer wird). Neutralisieren des Lecithin schaltet die Wirkung aus⁴⁾. Angesäuerte Kochsalzlösung wirkt ebenso hemmend.

Seine Leitsätze sind⁵⁾:

- 1) Die Hämolyse der Streptokokken ist eine konstante Eigenschaft bestimmter Streptokokkenstämme.
- 2) Hämolyse und Virulenz gehen nicht unbedingt parallel.
- 3) Hämolyse und Säurebildung in verschiedenen Nährböden (auch mit Zucker) ist abhängig von ihrer Fähigkeit, sich darin zu vermehren.
- 4) Hämolyse ist keine Säurefunktion (durch Marmorstaub nicht verringert, durch Säure nicht vermehrt); aber durch Säure die Keime eher zerstört.
- 5) Zuckerbouillon schädigt die Hämolyse nur insofern, als das Wachstum der Streptokokken und damit die Fähigkeit zu hämolysieren in ihr früher ein Ende erreicht, als in gewöhnlicher Bouillon ohne Traubenzuckerzusatz.

Bei aller Anerkennung, die ich für alle diese Bemühungen habe, scheint mir von allen Untersuchern trotz aller Zuckerverwendung eine Lücke in der Versuchsanordnung gelassen zu sein:

Man prüfte nicht die Wirkung des Zuckereinflusses auf das Wachstum der Kultur selbst, sei es in der Platte, oder in der flüssigen Kultur.

Man dachte eben nicht an das, was ich allerdings zum ersten Male in dem Archiv f. klin. Chirurgie ausführte, an die „ablenkende“ Wirkung des Zuckers, an den Einfluß, den der durch die Zuckeranwesenheit hervorgerufene herbivore Stoffwechsel auf die Erscheinungen auf der Blutagarplatte sowohl wie auf ähnliche Kulturen hat, daß dieser veränderte Stoffwechsel des Keimes denselben von der Spaltung der Eiweiße in dem Nährboden, und auf diese Weise ebenso wie von der Toxinbildung, so auch von dem Angriff auf das Blutkörperchen und der Hämolyse abhält.

Hätte man das getan, so hätte man, ebenso wie wir, sehen müssen, daß diese Ablenkung der Streptokokken von der Hämolysierung eine zweifellose ist.

Der Erläuterung dieser Tatsachen sollen die folgenden Tabellen dienen, welche ich meinen Versuchen entnahm, die ich teils unter dem lebenswürdigen Entgegenkommen und der Mithilfe von Herrn Prof. Dr. Joseph Koch, Abteilungsvorstand im Institut für Infektionskrankheiten, teils unter Herrn Prof. Dr. Fromme, Vorstand der gynäk. Poliklinik der Charité, ausführte.

Resultate meiner Versuche.

Zucker in einer bluthaltigen (Blutbouillon) Flüssigkeit. Er beschränkt wesentlich die bakterielle Hämolyse.

Um diese Tatsache unzweifelhaft darzutun, führe ich im folgenden 2 Versuchsreihen an: 1) Es werden je 10 ccm Bouillon mit Kuppen

1) Scheib, Untersuchungen zur Unterscheidung von Streptokokken. (Hegars Beiträge. Bd. 11. 1907.)

2) Kerner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 335.

3) Ueber Streptokokkenhämolyse. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63. 1909. p. 463.)

4) Sachs, Zur Streptokokkenfrage. (Centralbl. f. Gynäk. 1910. No. 18.)

sterilen Pferdeblutes versetzt, die einen mit Zuckerzusatz, die anderen ohne Zucker, dann mit einer Reinkultur von Streptokokken infiziert (je 3 Gläschen).

1. Versuchsreihe.

| Resultate | Ohne Zucker | Mit Zucker |
|-----------------|--|---|
| Nach 24 Stunden | In den 2 Gläschen ein gut $\frac{1}{2}$ Finger breiter hämolyzierter Streifen (ein 3. Gläschen ganz rot, mit rotweinerter Farbe) | Nicht eine Spur von Hämolyse, auch nicht in einem Gläschen mit viel Blut |
| Nach 48 Stunden | Gut hämolyzierte, über $\frac{1}{2}$ Finger breite Zone | Keine Hämolyse. Die Grenze der Blutkuppe relativ scharf; das Blut etwas bräunlich (Methämoglobin) geworden, auch die Flüssigkeit leicht bräunlich |

So sprechend diese Versuchsreihe die Verhältnisse wiedergeben mag, läßt sie doch noch einige Einwände und Bedenken zu: nämlich die Einwände physikalisch-osmotischer Einflüsse, z. B. der nicht ganz isotonischen Bouillon auf die Blutkörperchen usw.

Um nach dieser Richtung jeden Einwand zu beseitigen, führte ich im folgenden eine Versuchsreihe mit ausreichenden Kontrollen aus: (gewaschenes Kaninchenblut), Staphylococcus.

2. Versuchsreihe.

| | Nicht infiziert | | Infiziert | |
|--------------|---|--|---|--|
| | Bouillon | Zuckerbouillon | Bouillon | Zuckerbouillon |
| Nach 24 Std. | Bodensatz ist scharf gegen die Flüssigkeit abgesetzt. Nicht die Spur einer Hämolyse | Bodensatz ganz scharf gegen die klare Flüssigkeit abgesetzt, keine Ahnung einer Hämolyse | Fast fingerbreites deutliches hämolytisches Segment in der Flüssigkeit über dem Bodensatz, sich allmählich nach oben verlierend | Kleinste Andeutung von Hämolyse an dem leicht gelockerten Rande des Sedimentes |

Da in den Tabellen nur ein Teil der Gläschen bakteriell infiziert ist, gibt der andere einwandfrei die reine physikalisch-osmotische Wirkung von Bouillon und Zuckerbouillon auf das Blut.

Aehnliche Versuchsanordnungen haben, wie wir oben gesehen, auch vor mir schon einige Autoren gehabt: vielleicht liegt es an den Deutungen, daß ihre Versuche keine Resultate brachten.

So macht Natwig mir unverständliche Angaben, wie ich sie p. 112 und 114 bringe. Weitere Versuche mit Bouillonblutgläschen und Zuckerzusatz ($\frac{1}{2}$, — $1\frac{1}{2}$ Proz.) machten auch Lubenau¹⁾ und Scheib²⁾.

So interessant diese Versuche sind, muß ich ihnen eine prinzipielle Fehlerquelle entgegen halten: Diese Versuche beachten die isotonischen Verhältnisse nicht, obwohl sie Flüssigkeit mit Blutkörperchen zusammenbringen: $\frac{1}{2}$, oder 1,5 Proz. Zucker wirken stark hämolytisch³⁾; erst 4,1-proz. Zuckerlösungen sind für Menschenblut (= 0,9 Proz. Kochsalz) isotonisch. Ich habe diesen Dingen neuerdings eine besondere Aufmerksamkeit zugewendet³⁾. Wenigstens mußte der Kochsalzgehalt stimmen.

II. Versuche mit meiner Zuckerblutagarplatte: Zucker beschränkt den hämolytischen Hof.

Nach illustrativer wie die Versuche mit den Blutbouillongläschen, sind meine Versuche mit der Blutagarplatte unter 4 Proz. Traubenzucker-

1) Lubenau, s. bei 2.

2) Scheib, Bakteriologische Verhältnisse im weiblichen Genitalapparat. (Arch. f. Gynäk. Bd. 7. 1905. p. 805.)

3) Kuhn, Langenbecks Arch. Bd. 96. 1911; u. Münch. med. Wochenschr. 1911. No. 35.

zusatz, sowohl im Strich wie in der Saatkolonie. Auf diesen Blutplatten läßt sich der Einfluß des Zuckers gewissermaßen graphisch darstellen.

A. Staphylokokken.

I. Versuche mit Strichen.

Striche mit Staphylokokkenkulturen auf 4-proz. Traubenzucker-Blutagarplatte (Kontrollplatte ohne Zucker) 4 Platten.

Resultat: Die Striche auf Agar ohne Zucker sind dicht, scharf umgrenzt mit einem breiten, hellen, hämolytischen Hof. Der Hof ist scharf von der Kultur und nach außen abgesetzt, auf Agar mit Zucker ist der Strich (ob der Agar dünner) etwas verlaufen. Der hämolytische Hof ist um die Hälfte schmaler, verwaschen, diffus in die Umgebung übergehend, nicht so absolut hell.

Mikroskopisch wird das Bild dadurch vervollständigt, daß der helle Hof auf der zuckerfreien Platte absolut klar und wasserhell ist, ohne Spuren von Blutkörperchen mehr, der Hof auf der zuckerhaltigen Platte viel mehr Reste von Blutkörperchen enthält.

II. Versuche mit Strichen.

Noch charakteristischer ist eine zweite Serie von Strichen. In ihnen sind die Striche auf Zucker gut um die Hälfte schmaler, als auf der zuckerlosen Platte.

Der Strich ohne Zucker ist blühend in doppelter Breite entwickelt, sich glänzend abhebend, von einem breiten hämolytischen wasserklaren Hof, der in die Tiefe der Platte reicht, umgeben.

Der Strich mit Zucker ist von einem schmalen, graugrünen Hofe umgeben, in dem alles mehr verwaschen.

Mikroskopisch sind die Befunde wie oben.

III. Versuche mit Saatkolonien.

Staphylokokken werden mit 4 Proz. Traubenzucker in Blutagar und ohne Zucker (je 6 Platten) in ziemlich dichter Saat ausgegossen. Dichter Kolonienstand.

Resultat: Die 6 Platten ohne Zucker sind nach 24 Stunden ganz aufgehellt, lackfarben, durchsichtig.

Die 6 Platten mit Zucker sind nach 24 Stunden grau, trübe, mattfarben, undurchsichtig.

Die Kolonien sind auf der Oberfläche (weniger oder nicht in der Tiefe) um ein Doppeltes kleiner und schlechter entwickelt. Nach einigen Tagen sind die Größenunterschiede noch deutlicher (1:5).

Mikroskopisch sind dieselben Unterschiede vorhanden.

IV. Versuche mit Saatkolonien.

In 5 Platten, weniger dicht beschickt, schöne Einzelkolonien zu erkennen.

Die oberflächlichen Kolonien ohne Zucker sind doppelt groß, mit doppelbreitem hämolytischen Hofe, üppig entwickelt, glänzend. Die Höfe diffundieren leicht ineinander. Nach einigen Tagen sind die Größenunterschiede viel gewaltiger.

Die oberflächlichen Kolonien mit Zucker sind halb so groß, mit halb so großer, nicht so gehellter, relativ verwaschener, grünlicher Zone. Säurehöfe sind bei den Staphylokokken nicht immer vorhanden. Die tieferliegenden Kolonien selbst sind nicht so sehr voneinander verschieden, doch haben die mit Zucker kleinere Höfe.

V. Versuchsreihe. (Staphylococcus.)

Eine weitere Versuchsreihe mit einem gut hämolytischen Stamm muß ich folgendermaßen schildern (nach 24 Stunden, gut gewaschenes Kaninchenblut).

Ohne Zucker: In einer dichteren Saatplatte: Beste Hämolyse; jede Kolonie mit großem Hof. Die Höfe diffundieren ineinander, Kolonien doppelt so groß wie die auf Zucker.

Mit Zucker: Trübe Veränderungen auf der Platte; Kolonien halb so groß. Jede Kolonie trägt gesonderten kleinsten Ringhof. Von Diffusion des Hofes kann keine Rede sein.

VI. Versuchsreihe.

Ein Staphylococcus, nach 9 Umzüchtungen, fortlaufend auf Zuckerbouillon gezüchtet (Blutagarplatten, mit gewaschenem Kaninchenblut). Die Platten nicht dicht, mit schönen vereinzelt Keimen.

Platte ohne Zucker: Kolonien groß, mit glänzenden hämolytischen Höfen (Hof aber kleiner wie bei der Ausgangskultur). Diffusion der Hämolyse. Größe des hellen Ringes 2 mm Durchmesser, darum eine lichtere Zone von 5—6 mm.

Platte mit Zucker: Kolonie kleiner, Hof klein, 1 mm im ganzen breit, ohne hellere Säume, nicht ganz aufgehellt, es fehlt jede Diffusion. Das Wachstum macht einen gebrochenen Eindruck. Säureringe fehlen.

B. Streptokokken.

VII. Versuchsreihe.

In 10 Platten, die einen mit, die anderen ohne Zucker, auf Kaninchenblut-Agar 24 Stunden bebrütet.

Resultat: vereinzelt, gut ausgebildete Einzelkolonien, mit sehr charakteristischem Aussehen.

1) ohne Zucker: Schöner breiter hämolytischer Hof um jede Kolonie, von heller Farbe, groß;

2) mit Zucker: Bei sämtlichen Kolonien ist der hämolytische Hof wesentlich (bis zur Hälfte) kleiner und weniger hell. Die Diffusion der hämolytischen Wirkung fehlt ganz. Auch mikroskopisch ist die Hämolyse weniger komplett, die Kolonie nicht so scharf gegen den hämolytischen Hof abgesetzt, in diesem mehr Reste von Blutkörperchen zu sehen.

NB. Um jede zuckergewachsene Kolonie außerhalb des hämolytischen Hofes mit ca. 4–5-fach größerem Radius eine grauschwarze kreisrunde Zone, sichtlich von einer diffundierten Substanz (Säure) herrührend. Bei kleineren Kolonien fehlt dieser Hof.

VIII. Versuchsreihe. (Streptokokken.)

Je 10 Platten angelegt teils ohne Zusatz, teils mit Traubenzucker, teils mit Galaktose. Nach 24 Stunden auf den Platten (die ziemlich dichte sind) folgende Bilder:

1) Platten ohne Zucker: Die Platten sind ganz aufgehellt, nur stellenweise sind noch einige dünne, streifenartige Wölkchen. Im übrigen sind also alle die hellen Höfe zusammengelassen, so daß die punktförmigen Kolonien selbst frei und abgegrenzt in hellem Felde liegen. Im Mikroskop jede Kolonie scharf abgegrenzt in ganz aufgehelltem Felde, in dem nicht eine Spur von Blutkörperchen mehr zu sehen ist.

2) Platten mit Traubenzucker: Platte ganz trübe. Jeder Hof ist absolut getrennt von dem anderen (und bleibt es auch die nächsten Tage), selbst an Stellen, die sehr dicht stehen. Ein diffuses Ueberfließen der Höfe fehlt ganz. Hof viel schmaler.

Mikroskopisch ist um jede Kolonie wohl eine Aufhellung, aber weniger komplett, grauer, weniger hell; im Hofe viel mehr Reste von Blutkörperchen; zwischen den Höfen die Blutkörperchen ganz intakt.

3) Platten mit Galaktose: Die Höfe stellen hier ein Mittelding dar, wohl heller und größer wie auf der Traubenzuckerplatte, aber doch nicht ineinander überfließend; alle Höfe bleiben dauernd getrennt; nirgends Diffusion.

IX. Versuchsreihe.

(5 Umzüchtungen des Streptococcus auf täglich erneuertem Zucker.)

1) Plattenkultur, je 6 Platten. Kaninchenblut:

Ohne Zucker: Hämolyse vorhanden, aber bescheiden. Höfe klein, sehr langsam wachsend; noch nach 48 Stunden keine Diffusion der Höfe ineinander.

Mit Zucker: Alle Erscheinungen noch langsamer und geringer, winzigste Höfe um die Kolonien. Nie Diffusion.

2) Strichkulturen auf Blutplatten vom Pferd:

Hämolyse noch vorhanden, aber wesentlich langsamer, erst nach 3×24 Stunden deutlichere Erscheinungen.

Ein anderer parallel gezüchteter Versuch ergibt noch mehr verkümmertes Wachstum.

X. Versuchsreihe. (Streptokokken.)

(9 Umzüchtungen, fortlaufend auf Zucker gezüchtet.)

Auf Agarblutplatten, mit gewaschenem Kaninchenblut. Schon die 9. Umzüchtung in Gläschen wollte nicht mehr recht wachsen.

Ohne Zucker: Es wachsen nur vereinzelt Kolonien, mit kleiner Andeutung eines Hofes.

Mit Zucker: Mehr Kolonien aufgegangen, mit kleinstem Hofe; Wachstum höchst langsam und müde, ganz gleich wie in den Kolonien ohne Zucker.

XI. Versuchsreihe.

Staphylococcus Wenkebach.

Der Keim ist als Prototyp eines schwachen Hämolyten anzuführen. Er braucht auf Strichen 3–4 Tage, bis zum deutlichen hämolytischen Hofe.

Platte ohne Zucker: Diffuse Hämolyse in der Platte. Ganz hell geworden. Einzelne Höfe nicht so deutlich ausgebildet.

Platte mit Zucker: Keine Spur eines hämolytischen Hofes; dafür aber große, graue (wohl Säure) Höfe, die ganze Platte bald trübe.

Die vorstehenden Blutplattenversuche zeigen mit Evidenz und gleichzeitig in illustrativer Weise den antihämolytischen Einfluß des Zuckers, sowohl im Augenblicke des Wachstums eines Keimes als auf die Dauer.

Im folgenden bleibt nun noch eine Reihe von Fragen zu lösen:

- 1) Wie erfolgt diese Beeinflussung der Hämolyse durch Zucker: ist sie eine biologische oder eine chemische Frage?
- 2) Lassen sich aus unseren Versuchen Rückschlüsse auf die vielumstrittene Frage machen, ob die Hämolyse „Art“zeichen oder nur eine „Eigenschaft“ der Keime ist?
- 3) Wie steht die Hämolyse zur Virulenz?

Kapitel IV.

Einzelheiten der chemischen Beeinflussungen der Hämolyse bei Zuckergegenwart.

Wie wir gesehen, tritt Zucker in zwei Formen hemmend und störend für die Bildung von Bakterienhämotoxinen auf, einerseits indem er die Keime selbst abschwächt oder tötet, oder andererseits indem er ihren Stoffwechsel ablenkt.

Noch aber bleibt ein dritter rein chemischer Weg der Beeinflussung der hämolytischen Vorgänge zu betrachten übrig, das sind rein chemische Einflüsse der p. p. Reaktion usw.

Es könnte durch Zuckergegenwart und durch die auf diese Weise erfolgende Säurebildung in doppelter Weise eine Vortäuschung erfolgen:

1) Entweder könnte die durch Zucker entstehende Säure so stark sein, daß sie selbst zur Hämolyse führte bzw. eine Hämolyse machte; denn sowohl stärkere Säuren als Alkalien wirken hämolytisch.

2) Oder es könnte durch die entstehende Säure eine Art Neutralisation des Hämolsins stattfinden, rein chemisch, so daß seine Wirkung auf die Blutkörperchen aufhörte.

Verweilen wir bei diesen beiden Fragen noch einen Augenblick. Fassen wir zuerst die hämolytische Wirkung von Säuren und Alkalien als solche ins Auge.

A. Allgemeines. Einfluß von Säure und Alkali auf die Hämolyse.

Die Hämolyse durch Säure und Alkalien ist in erster Linie auf das Vorhandensein freier OH- und H-Ionen zurückzuführen. Doch nicht ausschließlich. Lösungen organischer Säuren und Alkalien wirken stärker hämolytisch, als man nach ihrer Ionenkonzentration erwarten sollte [Fühner und Neubauer¹⁾].

Hämolyse durch einzelne Körper wird herbeigeführt²⁾ bei einer Konzentration von:

| | | | |
|-----------------|-------|-------|--------------------|
| I. KOHO | 0,04 | Proz. | |
| NH ₃ | 0,4 | „ | |
| Trimethylamin | 0,5 | „ | |
| II. Salzsäure | 0,002 | Proz. | } Ob mit Kochsalz? |
| Ameisensäure | 0,007 | „ | |
| Essigsäure | 0,02 | „ | |

1) Hämolyse durch Substanzen homologer Reihen. (Arch. f. experim. Path. u. Pharm. Bd. 56. 1907. p. 344.)

2) Vgl. das vorzügliche Werk Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. 1911.

Ueber Milchsäure habe ich bezüglich der hämolytischen Wirkung selbst Versuche angestellt. Ihre Resultate habe ich in folgender Tabelle (vgl. Langenbecks Archiv) zusammengestellt.

Versuche mit Milchsäure, zusammen mit physiologischer Kochsalzlösung.

| Prozent- gehalt von Milchsäure | (Hämolyse + positiv, 0 negativ) | Sediment | Verklumpung oder Gerinnung |
|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 0,0005 | 0 | } ohne jegliches Sediment | 0 |
| 0,001 | 0 | | 0 |
| 0,0025 | 0 | } kein Sediment | 0 |
| 0,0037 | + | | 0 |
| 0,005 | + | " " | 0 |
| 0,01 | + | " " | 0 |
| 0,1 | + | " " | 0 |
| 0,2 | + | " " | 0 |
| 0,3 | + | " " | 0 |

Entfärbung

Zuckerzusatz ändert
an der Hämolyse
durch Milchsäure
nichts

Auch über milchsaures Natron habe ich hämolytische Versuche angestellt: Es wirkt, wie zu erwarten, nicht hämolytisch, es wirkt vielmehr wie Kochsalz. (Dieser Punkt ist für die ganze Frage der Hämolyse nach der praktischen Seite der Anwendung unseres Zuckers wichtig: denn das durch Bindung der Milchsäure ständig sich entwickelnde milchsaure Natron wird dann doppelt wichtig: es entfernt durch Bindung die freie Milchsäure, ersetzt andererseits nach der isotonischen Seite eventuell fehlendes NaCl.)

Aus dem Vorstehenden entsteht die Frage, wie weit die in einer zuckerhaltigen Bakterienkultur auftretende Säure allein schon die Hämolyse macht.

Alkali hämolytisch.

Daß der höhere Alkaligehalt eine Ursache für Hämolyse sein kann, bewies Lubenau¹⁾, indem er Sodasalz oder besser Ammoniaksalz zu steriler neutraler Bouillon zusetzte und Hämolyse erhielt.

Andere Autoren glauben wenigstens an nahe Zusammenhänge. So bewiesen die hämolysierende Eigenschaft von Kulturen von *Pyocyanus* wachsend mit seiner Alkaleszenz Bulloch und Hunter²⁾, Weingeroff³⁾, Lubenau, Breymann⁴⁾, so daß auch in diesen Fällen Lubenau (1901) dem Alkaligehalt einen wesentlichen Anteil an der Hämolyse zuschreibt.

E. und T. Levy⁵⁾ wiesen 1901 im Filtrat von Typhusbacillen ein Hämolysin nach, das am stärksten in 2 Wochen alten Kulturen vorhanden war (starke Alkalizität).

Neisser und Wechsberg⁶⁾ fanden ihr Staphylolysin in größter Menge am Ende der 2. Woche, wo die Staphylokokken viel Alkali produziert haben.

Kayser⁷⁾ (1903) fand bezüglich Colilysin, daß dasselbe mit dem Auftreten alkalischer Reaktion hervortritt; er bindet seine Existenz an die Reaktionsänderung (vorher sauer).

Säure hämolytisch.

Daß der höhere Säuregehalt eine Ursache für Hämolyse sein kann, beweist der obige Versuch mit Milchsäure, welche nach meinen Versuchen schon in Mengen von 0,003 hämolysiert. Milchsaures Natron tut dies nicht.

- 1) Lubenau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901. p. 356 u. 402.
- 2) Bulloch und Hunter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 28. 1900. p. 865.
- 3) Weingeroff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901. p. 777.
- 4) Breymann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 31. 1902. p. 482.
- 5) E. und T. Levy, Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1901. p. 405.
- 6) Neisser und Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901. p. 299.
- 7) Kayser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. 1903. p. 118.

Viele Autoren haben daher überhaupt einen stillen Verdacht, daß die Hämolyse oft eine Säurewirkung ist. Auch muß es stutzig machen, daß oft weder das Streptolysin noch das Diphtherielysin als Ferment in Bouillonkulturen nachgewiesen werden konnten.

Ferner ist es auffallend, daß Typholysin, Colilysin, Pyocyanolysin (120°) hitzebeständig sein sollen; auch Streptolysin soll 70° vertragen.

Und so meint Natwig: „daß die Säure- und Alkaliproduktion der Bakterien und die daraus folgenden Reaktionsveränderungen in dem Nährmedium offenbar bei dem hämolytischen Prozeß in Bakterienkulturen und Filtraten, zumal in ersteren, eine bedeutende Rolle spielen“ (siehe hierzu unsere Auslassungen p. 107 und p. 114).

Und Natwig neigt stark dazu, einen großen Anteil der Hämolyse in vielen Fällen als das Resultat der Säureproduktion anzusehen (er will dies auch aus einer Tabelle p. 807 herauslesen) und schließt: „In neutralen Bouillons gingen Säureproduktion und Hämolyse in der Weise parallel, daß die Wahrscheinlichkeit besteht, daß diese beiden Prozesse nicht nur koordiniert waren, sondern daß ein Kausalverhältnis zwischen ihnen vorhanden war.“

Dazu haben wir folgendes zu sagen: Wir geben zu, daß stärkere Säuren und stärkere Alkalien selbst stark hämolytisch wirken, aber diese Hämolyse hat mit unserer sogenannten typischen Bakterienhämolyse nichts zu tun. Diese letztere geht unabhängig von der Reaktion vor sich, wie andere Versuche beweisen: z. B.

Michaelis, Leonor und Skwirsky¹⁾ haben den Einfluß der Reaktion auf die spezifische Hämolyse studiert. „Die spezifische Hämolyse hat ihr Optimum bei einer minimal alkalischen Reaktion = der des Blutes. Durch Erhöhung der Alkalität wird sie gehemmt, noch mehr durch geringe saure Reaktion.“

[Trotzdem hat auch die Frage „Bakterienhämolyse“ etwas Chemisches: Es gibt eine Wechselwirkung zwischen Hämolyse und Antihämolyse, welche als chemischer Vorgang anzusehen ist, z. B. die Neutralisation einer hämolytischen Base durch eine Säure und die bleibende Reversibilität (vgl. meine Ausführungen in Langenbecks Archiv und p. 809). Auch wird durch Säure wohl das Hämolyse weniger toxisch werden.]

B. Ist die Streptokokkenhämolyse Säurewirkung oder fermentativ?

In unseren Zuckerkulturen kann also die Hämolyse durch zwei Ursachen bedingt auftreten:

- 1) Sie könnte reine Säurewirkung sein.
- 2) Sie kann fermentativ, durch ein spezifisches Hämolyse bedingt sein.

Wie weit kommen nun diese beiden Möglichkeiten in Betracht?

I.

Manche Hämolyse und ein Teil der Hämolyse kann in Fällen stärkerer Säureanhäufung reine Säurewirkung sein.

Ich beweise dies durch folgenden Versuch.

29. 11. Blutbouillon mit Zucker und ohne Zucker wird mit kohlensaurem Kalk unterschichtet, dann infiziert (neuer Streptococcus haemolyticus).

[Der Versuch war eigentlich in der entgegengesetzten Absicht angesetzt gewesen: Es sollte die Säurewirkung durch den Kalk ausgeschaltet werden (Versuch s. p. 113).]

Bei diesem Versuche zeigte das zuckerhaltige Gläschen die stärkere Hämolyse. Wie gesagt, war der Kalk zugesetzt, um die Säure zu binden. Ich glaube nicht, daß das letztere in dem Maße

1) Michaelis, Leonor und Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 4. 1910. p. 357.

möglich ist, um die Wirkung der Milchsäure zu eliminieren. Im Gegenteil: Sichtlich bildete sich in der zuckerhaltigen Kultur unter dem Einfluß der Keime viel Milchsäure, daneben aus dem Kalk Kohlensäure: Die Säuren wurden durch die aufsteigenden Gasblasen sehr in der bluthaltigen Flüssigkeit, ähnlich wie durch Schütteln, verteilt. So entstand die stärkere Hämolyse (verglichen mit der kalklosen Kultur) sichtlich auf chemischem Wege.

Vierfache Versuchsreihe (an verschiedenen Tagen).

| | Ohne Keime Bouillon + Blut + Kalk | Infiziert Bouillon + Blut + Kalk | Ohne Keime Bouillon + Blut + Zucker + Kalk | Infiziert Bouillon + Blut + Zucker + Kalk |
|--------------------|---|---|--|---|
| Nach 24 Stunden | Nicht eine Spur Hämolyse | Nur $\frac{1}{3}$ des Gläs- chens hämoly- tisch rot | Nicht eine Spur Hämolyse | Das ganze Gläs- chen stark rot- weinrot |
| Nach 48 Stunden | dgl. | Wie verdünnter Rotwein | dgl. | Tief dunkel wie Bordeauxwein |
| Nach 72 Stunden | dgl. | dgl. | dgl. | dgl. |

II.

Der wesentliche Teil der Hämolyse erfolgt auf fermentativem Wege.

An diesem Beweise haben sich schon viele Autoren vergebens versucht. Er geht am besten gerade aus unseren Kulturplatten mit Blutzuckeragar hervor: In wohl gelungenen Kulturen mit recht wenig Kolonien kann man ganz leicht jedem Interessenten die Machtbereiche der beiden Produkte des Keimwachstums — einerseits des Hämolytins — andererseits der Milchsäure — demonstrieren: denn wie ich es bereits in Langenbecks Archiv schilderte, sieht man auf solchen Platten

1) um die zentral gelegene dichte Kolonie einen scharf ausgeprägten (allerdings wesentlich kleiner und wesentlich weniger scharf wie auf der Kontrollplatte ohne Zucker) hämolytischen Hof in der Art wie immer,

2) um diesen Hof herum aber sieht man in einem ca. 10mal so großen Durchmesser einen zweiten Hof von graugrüner matter Farbe, ohne Hämolyse, das ist der Säurehof.

Aus diesem charakteristischen Bilde, das um so schöner ist, je dünner besät die Platten sind (sonst gehen die trüben Höfe rasch ineinander über und die ganze Platte ist grau und trübe) geht mit Evidenz hervor: daß Hämolytinswirkung und Säurewirkung getrennte Dinge sind, daß sie verschieden weit reichen, daß die Säure in den vorhandenen Konzentrationen nicht hämolytisch wirkt, daß ein Faktor mehr zur Hämolyse gehört, ja, das Gegenteil ist der Fall: die Platte beweist (wie wir noch in einem eigenen Kapitel ausführen werden), daß die Säure wahrscheinlich die Hämolyse hemmt.

Mit diesem unseren Versuche glauben wir die Frage der Hämolytins-Säurewirkung ein für allemal entschieden zu haben.

Seither begegnet uns in der Literatur in diesem Punkte eine stets wiederkehrende Unsicherheit. Es liegen zu der Frage eine Reihe von

Aeußerungen vor: Die meisten Autoren wollen den Kernpunkt der Hämolysewirkung in der „Säure“ sehen.

An der „fermentativen“ Wirkung kam man allerdings auch seither nicht ganz vorbei.

Und selbst Natwig, welcher die Säure sehr betont und ihrer Bedeutung sehr sympathisch gegenübersteht und am liebsten Hämolyse und Säureproduktion identifizieren möchte, ist vorsichtig und sagt:

„Durch den Stoffwechsel der Streptokokken in künstlichen Kulturen erfolgt hiernach Hämolyse, vielleicht auf zwei verschiedene Arten:

1) kommt unter gewissen Umständen eine von der Säureproduktion verursachte Hämolyse zustande, und eine solche ist anscheinend allen Streptokokken eigen;

2) kommt vielleicht eine Hämolyse vor, die durch die Bildung eines speziellen „Hämolsins“ mit fermentativen Eigenschaften hervorgerufen wird.

Natwig versuchte unter anderm, wie wir, durch Blutbouillonröhrchen die Frage zu entscheiden. Er fand deutliche Hämolyse

in Traubenzuckerbouillon am 3.—4. Tage,

„neutraler Bouillon „ 4.—6. „

„alkalischer Bouillon „ 5.—8. „

und schließt aus diesen Versuchen auf die Beteiligung der Säure an der Hämolyse.

Wir haben oben gezeigt, was wir an solchen Bouillonröhrchenversuchen zu tadeln haben. Auch können wir nach unseren Versuchen die Resultate nicht ganz verstehen.

Auch andere Autoren suchten bereits früher mehr oder minder zu beweisen, daß die Hämolyse in zuckerhaltigen Gärgemischen nicht durch Einfluß der Säure selbst als hämolytisches Agens, sondern trotz der Säure durch fermentative Einflüsse entsteht.

Der Analogie wegen sei ein Hinweis auf die gewöhnliche Fäulnis erlaubt. Daß bei dieser Eiweißfäulnis nicht die aus dem Zucker gebildete Säure die Ursache des Nichterscheinens der ersten und der letzten Eiweißspaltprodukte ist, beweisen die Versuche von einer Reihe von Autoren.

Hirschler¹⁾ hatte seinen Versuchen direkt CaCO_3 zugesetzt, um die Säurewirkung auszuschließen.

Auerbach hatte Magnesia usta zugesetzt und

Winternitz²⁾ betont eigens, „daß die hindernde Wirkung auf der Gegenwart des Milchsuckers beruht und sich unabhängig von der durch die Spaltung des Milchsuckers bedingten Säurewirkung geltend macht.

Direkte schon geht die Tatsache, daß die Hämolyse in den jeweils vorgelegenen Kulturen keine Säurewirkung war, aus den folgenden Versuchen von Kayser hervor.

Kayser bereits stumpfte die gebildete Säure in seinen oben genannten Versuchen über Hämolyse mit Staphylokokken durch CaCO_3 ab bzw. neutralisierte sie. Trotzdem nahm die Bildung des Hämolsins mit wenig Abschwächung seinen unbehinderten Fortgang.

Illustrativ beweisen unsere eigenen Versuche diese Dinge, namentlich in der Form, wie ich sie oben angeführt, auf Kulturen, wie ich sie z. B. p. 109 in Versuch VII schilderte.

Sehen wir nach dem Gesagten einerseits, daß die Hämolyse keine Säurewirkung ist, sondern ein selbständiger fermentativer Prozeß, sehen wir vielmehr andererseits, daß der hämolytische Ring in der säurebildenden Zuckerplatte kleiner ist, und dies in allen Kulturen, so müssen wir einen hämolysehemmenden Einfluß des Zuckers selbst annehmen. Wie sonst gezeigt, haben wir auch zahlreiche andere Belege für den hemmenden Einfluß des vergärenden Zuckers auf die Hämolyse.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10. 1886. p. 306.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16. 1892. p. 486.

Da bleibt natürlich dann, in der weiteren Verfolgung der Sache, die Frage: Auf welchem Wege wird auf der Zuckerplatte die Wirkung des Hämolysins gehemmt?

Hören wir hierzu das folgende Kapitel.

Kapitel V.

Wie ist die Hemmung der Hämolyse durch Zucker zu denken?

Nachdem die Hemmung der Hämolyse durch Zuckergegenwart erwiesen, hat es naturgemäß großes Interesse festzustellen, „wie diese Hemmung zustande kommt“. Es können da mehrere Faktoren in Wirkung treten:

I.

Zweifellos spielt hierbei eine reine Ablenkung der Keime aus dem karnivoren Stoffwechsel in einen herbivoren Stoffwechsel eine Rolle, d. h. die Keime schicken sich gar nicht an, die Blutkörperchen anzugreifen, sondern leben in der Hauptsache von Zucker.

Wir haben diese Frage ja bereits in Kapitel 2 bei der Besprechung der Bildung anderer Toxine gebracht. Eine ausführliche Abhandlung haben wir gerade diesem Kapitel in unserem Aufsätze in Langenbecks Archiv gewidmet¹⁾.

Nach dem dort Ausgeführten ist festzuhalten, daß die Bakterien ebenso wie die höheren Organismen bei Gegenwart von Zucker zumeist erst diesen spalten, dann erst die Eiweißkörper.

Ferner aber kann die Hemmung der Hämolysinbildung in Zuckernährböden in breitem Maße von der Säurebildung daselbst abhängen.

II.

Ist die Hemmung der Hämolyse in Zuckertlösungen oder Zuckeragar eine durch die Säure veranlaßte und durch sie erfolgende Einwirkung auf das entstehende Hämolysin?

Diese Frage zu beantworten, wird dauernd schwer bleiben. Denn nachdem wir wissen, daß Hämolysine in saurer Lösung, ebenso wie andere Bakteriengifte (vgl. p. 102), z. B. wie Diphtherie-, Tetano-, Rauschbrand-, Cholera toxin unschädlich werden, ist es nicht ausgeschlossen, daß auf das Hämolysin in statu nascendi die (wie der größere Hof auf der Blutagarplatte p. 113 es deutlich demonstriert und illustriert) vorausgeeilte Säure **entgiftend**, also hemmend und antihämolytisch wirkt.

Andererseits genügt aber zur Erklärung auch die unter 1 genannte ablenkende Wirkung.

III.

Neben den genannten beiden ist noch eine andere Erklärung der Hemmung der Hämolyse durch Zucker möglich. Es ist ein Einfluß von Zucker auf Ambozeptor oder Komplement möglich.

Zum Verständnis der dann in Frage kommenden Vorgänge sind einige Arbeiten, welche der Hämolysinbildung auf diesem Wege, dem Wege der Beeinflussung der Ambozeptoren und Komplemente näher-treten, heranzuziehen.

Wendelstadt²⁾ findet, daß das Glykogen einen Einfluß auf die Komplemente ausübt und dadurch hemmend auf die hämolytischen Vorgänge einwirken kann. Diese

¹⁾ Vgl. dieses Bd. 96. 1911. (H. 3) p. 790—806.

²⁾ Ueber die Wirkung von Glykogen auf hämolytische Vorgänge. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 831.)

Einwirkung tritt nur dann zutage, wenn in einem Serum im Verhältnis zur Menge der Komplemente wenig Ambozeptoren vorhanden sind; daher das Normalserum mehr beeinflusst, wie das Immunsrum.

Ähnliches fand Wendelstadt beim Inulin, das dem Glykogen $C_6H_{10}O_5$ ähnlich zusammengesetzt ist, v. Lingelsheim beim Schleim von Pflanzen; von diesen meinte L., daß der Schleim die Ambozeptoren und Komplemente ausfalle.

Nach unseren mit Dr. Tsiwidis angestellten Versuchen finden solche Einflüsse auf Ambozeptor oder Komplement nicht statt.

Zum Verständnis der Vorgänge in der sauer gewordenen Zone (um den hämolytischen Ring der Agarplatte) setze ich hier einige Einzelheiten, die an den anderen Bakterientoxinen beobachtet, kurz hierher:

Zunächst ist festzustellen, daß z. B. für die Bildung von Diphtherietoxin die Alkalianwesenheit und die Bildung von Toxin parallellaufende Vorgänge sind¹⁾:

Doerr²⁾ sagt: „Die alkalische Reaktion ist die notwendige Bedingung starker Toxinbildung: solange die Kultur sauer reagiert, wirkt sie nicht giftig.“

Für Cobragift haben Morgenroth und Pane³⁾ ähnliche Angaben gemacht.

Ähnliche Verhältnisse bestehen beim Dysenterietoxin und Cholera-toxin; dabei bleiben diese Gifte reversibel.

Kapitel VI.

Zusammenhang von Virulenz und Hämolyse.

Von eminent praktischer Wichtigkeit bleibt natürlich bei allen diesen Studien die Frage: „Ist die Hämolyse ein Gradmesser der Virulenz?“

Viele Autoren, wenn auch nicht gerade Gynäkologen [Flügge, Jos. Koch⁴⁾, Kayser⁵⁾], neigen zu einer Parallele. Die Gynäkologen verhalten bekanntlich sich, soweit eine Fragestellung für das Puerperium in Frage steht, ablehnend.

Sigward schreibt (p. 492): „Die Streptokokken nehmen im Lochialsekret die Eigenschaften der Hämolyse an, ohne daß sie mit den besseren Lebensbedingungen notwendig auch die Eigenschaft der Virulenz annehmen müssen. Den Erscheinungen der Virulenz, ihres Auftretens und Verschwindens, stehen wir nach wie vor trotz unserer Erfahrungen über die Hämolyse einem Rätsel gegenüber.“

Für die praktischen Bedürfnisse am Krankenbett stünde für jeden Arzt im Vordergrund die Frage des Zusammenhangs der Virulenz mit gewissen Merkmalen:

Zur Differenzierung arbeitete man daher schon mit den verschiedensten Methoden,

1) mit Agglutination, indem man die Sera auf die Keime wirken ließ. Man zog die

2) Komplementbindung heran, um aus ihr Aufschlüsse zu erhalten. Man machte

3) bakterizide Plattenversuche mittels Leukocyten (Schleissner u. Spät, Weil, Koch, Rolly),

1) Versuche mit stärker alkalisierten Zuckernährböden zur endgültigen Lösung der Frage habe ich im Gange, und werde die Resultate noch bringen.

2) Doerr, Ueber ungiftige, dissoziierbare Toxine. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. p. 5.)

3) Morgenroth u. Pane, Biochem. Zeitschr. Bd. 1. 1906. p. 354.

4) Dem Saprophytismus eines Keimes geht nach Koch auch die Virulenz parallel, d. h. sie nimmt mit zunehmend-saprophytischem Leben ab (contra Neisser und Wechsberg).

5) Siehe vorne p. 104.

4) prüfte auf Anaphylaxie (Rolly). Alles mit mehr oder weniger negativem Resultat. Auch die

5) Hämolyse auf Blutagarplatten ließ oft im Stich.

Rolly fand 15mal nicht-hämolytische Streptokokken direkt aus dem Blute Septischer von großer Virulenz. Nie Uebergänge (Grütz).

Sachs hält die Hämolyse für eine konstante Eigenschaft bestimmter Streptostämme. Die Versuche von Zöppritz sind durch Rollys Versuche bestritten.

Ein Fall von Hüsey ist wenig beweisend.

Zangenmeisters Annahmen betr. der Infektionen sind nicht erwiesen; auch durch den Aufpinselversuch auf die Schulterblätter nicht.

Mit einer Wachstumsänderung braucht ein Keim nicht ohne weiteres seine Virulenz zu ändern (wenn Beeinflussung auch wahrscheinlich), vielmehr kann die Virulenz bei einer einzigen Umzüchtung (z. B. bei starker vorhergegangener degenerativer Veränderung des Plasmas des Bakteriums durch eine lange fortbestandene herbivore Lebensweise) erst noch ganz die frühere, unschädliche sein (vgl. p. 100). Nach unserer Ansicht muß auf Grund des oben Gesagten, die Hämolyse eines Keimes etwas Aehnliches sein, wie der Ausdruck einer gewissen **karnivoren** Wachstums- und einer animalischen Stoffwechselrichtung, die er mehr oder weniger rasch einschlägt, wenn er auf alkalischen, kohlehydratfreien, dafür aber eiweißreichen Nährboden kommt.

Auf die Dauer, bei mehreren Umzüchtungen, möchten wir aber bei **zusagenden** Eiweißstoffen (natives Eiweiß, besonders konvenable Sera usw.) an dem Unbeeinflußtbleiben der Virulenz (vgl. Kayser, p. 101, Koch, p. 116) stark zweifeln.

Wir halten die Hämolyse nicht mit Virulenz identisch, aber für einen Schritt höher in dem Fortschreiten eines Keimes von einer herbivoren zu einer animalischen Lebensweise, bei welcher letzterer es nur noch besonderer, gut eignender Körpersäfte bedarf, um ihn zu einem pathogenen Parasiten des Menschen zu machen.

Kapitel VII.

Hämolyse und Artelgenschaft der Keime?

Aus all dem Vorstehenden geht hervor, daß die Hämolysinbildung sehr wesentlich von äußeren Umständen, von dem Stoffwechsel der Keime, von den Nährböden, auf denen sie wachsen, insbesondere von der Gegenwart von Zucker oder dessen Fehlen abhängig ist.

Trotzdem ist die Hämolyse eine spezifische Eigenschaft und Qualität des einen Keimes gegenüber dem anderen, und hebt ihn, sonst gleiche Bedingungen vorausgesetzt, von ihm ab, und wird mit bewundernswerter Zähigkeit erst von ihm festgehalten.

Aber ich glaube nicht an eine Artenverschiedenheit, sondern bei der Fortzüchtung gelingt es durch besondere Nährbedingungen, sie zu beeinflussen, so durch Tierpassagen (Neisser und Wechsberg sahen durch Tierpassagen den Staph. aureus, Schlesinger, Besredka und Marmorek die Streptokokken an Virulenz zunehmen) im Sinne der Steigerung, durch Zuckerpassagen im Sinne der Abschwächung.

Ich glaube daher, daß der Name „Eigenschaftsunterschied“ die Verhältnisse besser bezeichnet.

Dabei zeigt allerdings der eine Keim dem anderen Keime gegenüber größere Elastizität in der Anpassung, raschere Aufnahme eines neuen Stoffwechsels, z. B. eines vegetarischen statt eines animalischen.

Daher beweist es nach dem Gesagten gar nichts Besonderes, wenn entgegen den Befunden von Gonnet, Fromme, Heynemann u. a., z. B. Sigward zeigt, daß auch im Vaginialschleim saprophytär wachsende Streptokokken typisch hämolysieren können.

Ein derartig rasches Umspringen spricht nur für ein gewisse Elastizität eines Keimes (seinen Stoffwechsel rasch dem neuen Boden anzupassen), oder zeugt von der mehr oder minder zusagenden Zusammensetzung des neuen Testnährbodens [(auch daß dieser z. B. garantiert¹⁾ zuckerfrei, was oft erst durch Vergären zu erreichen. Vgl. was wir p. 103 über Diphtherietoxin sagen). Es bleibt festzustellen, wie sich einzelne Keime gelegentlich unter solch ausgesuchten Bedingungen verhalten, z. B. bei absolutem Fehlen von Zucker].

Wenn wir andererseits hören [Henkel²⁾], daß wir daran festhalten müssen, „daß jeder anscheinend harmlose saprophytär in der Vagina wachsende Streptococcus sich zum Erreger des schwersten puerperalen Fiebers entwickeln kann (Henkel), so ist es nach unserer Meinung auf Grund unserer Beobachtungen auch sehr wohl möglich, daß ein (vielleicht erst kurz in einer viel Kohlehydrate enthaltenden Scheide weilender) Keim, trotz momentanen saprophytären nicht hämolysischen Wachstums sich sehr viel Lebenskraft gewahrt hat, so daß er rasch und momentan auf einem ihm sympathischen Nährboden zur deletärsten Virulenz sich zu entwickeln imstande ist.

Schlusssätze.

1) Hämolysen ist eine wichtige, biologische Eigenschaft eines Keimes, wenn auch gerade nicht identisch mit Virulenz oder Pathogenität.

2) Der vollvirulente Streptococcus wirkt eo ipso hämolysisch (Sachs). Hämolysen ist für seine Qualifizierung eine wichtige, hinsichtlich seiner Einschätzung maßgebende Eigenschaft. Aber auf kohlehydrathaltigen Nährböden kann eben derselbe Keim (der vorher hämolysische Streptococcus) nach längerer oder kürzerer Zeit ein nicht-hämolysisches, das wäre saprophytisches Dasein, wenn auch nur erst **temporär**, führen. (Mein Streptococcus W.)

3) Dem sogenannten saprophytischen Streptococcus kann man seine wahre Wesenheit und klinische Qualität nicht ohne weiteres ansehen. Sein Saprophytismus kann verschiedener Art sein.

a) Der Keim kann wirklicher Saprophyt³⁾ geworden sein, weil er lange schon saprophytisch lebte, ganz herbivor seit vielen Stämmen sich nährte; dabei ist er in seinem Protoplasma denaturiert, degeneriert, er greift träge nach einem neuen Eiweißnährboden, den er kaum zersetzt. So läßt er auch Blutkörperchen unverändert, und ist niemals pathogen. Nach Bednikoff l. c. greifen die anhämolysischen Streptokokken Glykose am stärksten an.

1) Die Zuckerfreiheit der Nährböden ist bei Verwendung der gebräuchlichsten Bouillon stets eine sehr problematische (vergleiche was wir p. 103 über Diphtherie und Tetanuskulturen sagen). Bouillon von abgehangenem Fleisch enthält stets Zucker, ebenso meist Agar, wenn er gekocht wurde.

2) Henkel, Zur Aetiologie der puerperalen Wundinfektion. (Zeitschr. f. Geburtsh. Bd. 63. 1908. p. 91.)

3) Langenbecks Arch. Bd. 96. 1911. H. 3.

oder b) der Keim lebt noch nicht zu lange vegetarisch, d. i. herbivor, d. i. saprophytisch. Er hat wohl viel oder ganz seine Virulenz eingebüßt, ist aber doch noch von mancher Lebensenergie, greift sofort nach dargebotenem eiweißhaltigen Nährmaterial, und ist leicht und rasch imstande, es zu zersetzen. Natürlich hämolysiert dann der Keim.

oder c) der Keim lebt nur momentan, gleichsam zufällig, wohl erst seit kurzem herbivor, d. i. saprophytisch; dabei ist er aber nicht degeneriert. Er greift mit Gier nach einem ihm sympathischen Nährboden, und wird mit Macht hämolytisch und wohl vollvirulent.

4) Wir werden für die praktisch-klinische Betrachtung am besten drei Eigenschaften an den Keimen unterscheiden und demzufolge 3 Typen unterscheiden: den virulenten, den hämolyten, den saprophyten. Dazu ist dann ferner folgendes zu sagen: Es muß gelingen, bei systematischen Umzüchtungen auf kohlehydratreichen¹⁾ Nährböden den virulenten und den hämolytischen Keim zum Saprophyten zu machen, nicht so sicher umgekehrt den Saprophyten zum Hämolyten (Schottmüller) oder den Hämolyten zum Vollvirulenten²⁾.

5) Hämolyse ist gleichsam eine Stufe in der Virulenzleiter, ist eine Phase in der Betätigung eines Keimes im karnivoren Stoffwechsel, der für den Keim natürlich nötig ist, wenn er auf menschlichen Sekreten parasitieren will.

Die Hämolyse ist ein Weg zur Virulenz, identisch mit Virulenz ist Hämolyse nicht.

Nach der praktisch diagnostischen Seite erscheint uns auf Grund alles dessen, was wir in den oben zitierten Aufsätzen niedergelegt und in eigenen Experimenten festgestellt,

„die Hämolyse eines Keimes als ein Teil des Ausdruckes eines animalischen, karnivoren Stoffwechsels, einer animalischen Ernährung, die er betätigt, wenn er auf alkalischen, kohlehydratfreien, dafür aber an konvenablem Eiweiß reichen Nährboden wächst“.

Mit dieser Stoffwechselrichtung braucht seine Virulenz nicht ohne weiteres zusammenzuhängen, wenn diese auch auf die Dauer gewiß nicht unbeeinflusst bleibt. Die Hämolyse eines Keimes ist ein Zeichen einer höheren Stufe der Anpassung eines Keimes an eine tierparasitäre Lebensweise.

Und insofern als ohne eine derartige Anpassung an ein karnivores Wachstum auf lebendem Tierkörperblut eine eigentliche (!) Pathogenität nicht möglich ist, bleibt klinisch der Nachweis der Hämolyse eines Keimes von großem klinischen Interesse, als Zeichen einer gefährlicheren Wuchsform des Keimes.

1) Vielleicht sind dabei noch einige Hilfsfaktoren, z. B. Licht, Sonne, Sauerstoff usw. wirksam.

2) Die Ursachen liegen darin, daß wir für ersteres die Bedingungen, z. B. Zucker eher kennen; für das letztere sind die spezifischen Bedingungen komplizierter und uns erst noch wenig bekannt.

Wenn es also auch berechtigt sein dürfte, mit Sigward an der Auffassung festzuhalten, „daß es nicht angängig ist, den hämolytischen Streptococcus mit dem virulenten zu identifizieren“, so ist es doch begründet, den hämolytischen Streptococcus dem pathogenen als **näherstehend** anzusehen.

6) Vollvirulenz ohne Hämolyse ist der seltene Fall. Daher ist Hämolyse an sich noch kein alleiniger Maßstab (wenn auch ein großer) für die Pathogenität; ein saprophytischer Keim ist nie pathogen, aber er kann hämolytisch sein.

7) Die Hämolyse eröffnet einen Einblick in die Lebensverhältnisse eines Keimes, in seine biologische Energie und in die Qualität seines Protoplasmas, in die ihm gebliebene Lebenselastizität im Verhalten zu Nährmedien, besonders gegenüber lebendem Gewebe und gegenüber der Wunde, ferner in den größeren oder geringeren Grad seiner Degenerierung usw.

8) Zu den Substanzen, welche an den Bakterien die Hämolyse beeinträchtigen [gewisse normale Körpersäfte (Zangenmeister)] gehört vor allem der Zucker, und es ist von kulturell-technischem Interesse für den Untersucher, auf den **Zuckergehalt** seiner Nährböden stets besonders zu achten.

9) Es hat hierbei dann wohl nur botanisch-systematisches Interesse, die Keime als besondere Arten zu unterscheiden. Klinisch kann es für uns gleichgültig sein, welcher Species ein Keim zugerechnet wird, wenn er zu der Zeit, wo wir ihn vorfinden, die Voraussetzungen tierisch-parasitärer Lebensweise hat.

Einen Einblick in diese gewährt die Hämolyse, mehr aber noch die Art, wie ein Keim dieselbe gegenüber Ablenkungen durch Zucker festhält.

10) die Ablenkungsfähigkeit der hämolytischen Keime durch Traubenzucker ist in jedem Falle zu prüfen.

Nachdruck verboten.

A comparative study of methods for staining the capsules of bacteria.

By **George Baehr**¹⁾ and **John Kantor**, New York City.

The ever increasing number of methods for demonstrating the capsules of bacteria has been accompanied by little increase in our knowledge concerning the nature of the capsule, and by no agreement as to the possibility of morphologically differentiating the various types. It has been the experience of this laboratory that under certain favorable conditions a distinctive capsule could usually be demonstrated around

1) Work done under the tenure of the Eugene Meyer, Jr. Fellowship, in the Pathological Laboratory of the Mount Sinai Hospital.

the *Pneumococcus* and the *Streptococcus mucosus* which we were accustomed to regard as pathognomonic. The different types were first described by Buerger (1) and their existence has since been denied by some other observers. The following comparative study of the best methods for staining bacterial capsules was instigated primarily by a desire to determine the cause of this disagreement (2).

The various procedures suggested in the past have differed from each other chiefly in their respective methods of fixation. Of the numerous procedures in which fixation is accomplished by heat, we have chosen the Hiss methods (3) as representative, the advantage in these being that after fixation and staining, copper sulphate or potassium carbonate is employed to clear the field. Of the other methods studied, heat fixation plus the use of an acid is best exemplified by the Welch method (4), formalin fixation by the Wadsworth method (5), bichloride by the Medalia (6), the use of Zenker's fluid minus acetic acid by the Buerger (7), and the use of osmic vapor by the Weidenreich technic as described by Hamm (9). Lastly must be mentioned the procedure most recently introduced by Rosenow (10), in which tannic acid is the fixative.

In the following descriptions of the technic used it must be understood that the smears in each instance were made on a cover glass by mixing a loopful of the material to be examined with an equal amount of ascitic or hydrocele fluid and then thinly spreading the mixture over the surface. If the growth on an agar slant was to be examined, a very small amount of the culture was emulsified on the cover glass with a loopful of normal salt solution and then the ascitic fluid added and the mixture spread.

Welch's method (4). Smear dried and fixed by heat and then covered with glacial acetic acid for a few seconds. After pouring off the acetic acid, it is covered with anilin-water gentian-violet, renewing the stain three or four times until all acid is removed. This is then left on for three minutes, washed in two per cent salt solution and examined in this solution.

Hiss' methods (3). 1) Copper sulphate method. Smear dried and fixed by heat, covered with a saturated alcoholic solution of gentian-violet or fuchsin and held over a flame for a second until it steams. The dye is then washed off with a twenty per cent copper sulphate solution, blotted dry (not washed) and mounted in balsam. — 2) Potassium carbonate method. This differs from the previous method in that the dye used is a half saturated solution of gentian-violet. This is left on the cover slip for a few seconds and is washed off with a twenty-five-hundredth per cent solution of potassium carbonate in water. The smear is studied in this solution, the cover slip being inverted on a slide and rimmed with vaseline.

Buerger's method (7). The smear having been made, the fixing fluid, which consists of Mueller's fluid saturated with bichloride of mercury (Zenker's fluid minus acetic acid¹) is poured on just as the edges begin to dry and the cover glass gently warmed over the flame for three seconds. It is then rapidly washed with water, flushed once with 95 per cent alcohol and tincture of iodine added. This is permitted to remain for one minute, renewing the iodine frequently and is then thoroughly washed off with alcohol and the specimen dried in the air. Staining with anilin-water gentian-violet (5 per cent preferably, except for the *Bacillus Welchii*.) for two seconds and washing with two per cent salt solution completes the process. The specimen is mounted in the salt solution and ringed with vaseline. When desired the Gram procedure can be combined with this technic. Permanent mounts can also be made by using a modification devised by Buerger.

Wadsworth's method (5). The smear is dried and fixed in formalin, 40 per cent, for two to five minutes and washed in water for five seconds. It is then stained with ten per cent aqueous gentian-violet, washed in water rapidly, dried and mounted

1) The formula is potassium bichromate 2.5 mg, sodium sulphate 1 mg, water 100 c. c., saturated with bichloride of mercury (ordinarily about 5 per cent).

in balsam. If the Gram procedure is also desired anilin-gentian-violet is used as the stain and this is followed by the routine Gram technic.

Weidenreich's method (9). Hamm's modification. The cover glass, chemically cleaned, is placed in a special receptacle containing 5 c. c. of a one per cent solution of osmic acid, but not in contact with the solution. (A one per cent solution of osmium tetroxyd in one per cent chromic acid solution can also be used and is more stable.) After one or two minutes it is removed and the spread made upon it in the usual fashion. Before the smear has a chance to dry, the cover glass is again placed in the dish and removed after twenty to forty seconds. The smear is then dried in the air and stained with Giemsa (one drop in 1 c. c. of distilled water) which is warmed slightly for three to five seconds. The Kayser modification (8) was also tried but was less satisfactory.

Medalia's method (6). After drying, the smear is fixed by immersion in a saturated solution of bichloride of mercury for ten to twenty seconds and then washed in running water. It is stained with a one per cent methylene blue solution containing one per cent of sodium carbonate, washed rapidly in water, dried between filter papers and mounted in balsam.

Rosenow's method (10). As the edges of the smear dry it is covered with a five to ten per cent solution of tannic acid for ten to twenty seconds, then washed in water and blotted. The smear is stained in anilin-water gentian-violet for one half or one minute by heating gently over a flame. It is again washed in water, Gram's iodine solution applied for one half to one minute and finally decolorized in 95 per cent alcohol. As a counterstain a saturated solution of Grüber's eosin in 60 per cent alcohol is used. The smear is again washed rapidly in water, blotted dry, cleared in xylol and mounted in balsam.

The method of Smith (11) in which phosphomolybdic acid is the fixative employed was not tried because it involves essentially the same principles as the Rosenow. Furthermore Rosenow has used the phosphomolybdic acid and has found it to be inferior to tannic acid.

At the outset it must be mentioned that drying of the smear previous to fixation usually had a deleterious effect upon the capsule. Subsequent staining demonstrates a distinct shrinkage, and frequently a marked distortion of the capsular substance. This is a distinct defect in such methods as those of Welch, Hiss, Wadsworth and Medalia, and is not present in the methods of Buerger, Rosenow, and in the osmic vapor method of Weidenreich. In our experience the capsules of organisms stained by these last named methods are usually larger and better preserved than after those procedures in which drying is employed preliminary to fixation, and although the drying of the smear is not the only reason for this observation, it seemed to be an important factor. Excellent capsules can frequently be obtained by the Welch, Hiss or Wadsworth methods, but in those instances where the capsules with the Weidenreich, Buerger or Rosenow methods appeared poorly formed, the former stains often failed entirely. In other words, drying previous to fixation is seldom an important factor where the bacterial capsules are well developed, but exceedingly important when they are poorly formed.

The same applies with even greater truth to heat fixation. Drying of the smear followed by heat fixation as in the Welch and Hiss methods, though sometimes productive of good capsule stains, as we have just observed, usually showed even poorer preservation of the capsule than if, after drying, the fixation was accomplished by formalin or Zenker minus acetic acid or by tannic acid. And it can be easily proven that this was not entirely due to the fact that the capsule was not stainable. The results obtained with the Welch method, on the other hand, were distinctly superior to those with the Hiss. In accordance with Rosenow's experiments (12) we interpret this as being due to the use of glacial acetic acid in the former.

Staining of the background. Many of the methods leave the albuminous menstruum with which the smear is made as a more or less deeply stained background. This has several disadvantages. For example, if fixation of the smear is accomplished by a concentrated aqueous solution of bichloride of mercury or by the osmic acid vapor, the capsule remains transparent and completely unstained and not infrequently the edge of the albuminous background which surrounds it takes an intense stain simulating a capsule. This holds true provided that after fixation the smear is not treated with anything acid.

Furthermore after the use of such stains as the Weidenreich, Medalia and Rosenow which retain the albuminous background, similar clear spaces are often seen around bacteria which are not supposed to have capsules, and here again the adjacent margin of the albuminous background may be sharply stained. These are retraction zones. Rosenow has called attention to their occurrence around real capsules and we can not only support his observation but sometimes find these retraction zones around foreign bodies in specimens stained by his method.

It must be admitted that such retraction zones were much less frequent after Rosenow's method than after the other methods which retain the albuminous background. Knowing from Rosenow's work that the entire capsular substance is stained by his method, when this retraction zone was wide we could easily see that it was transparent and unstained and ruled it out as an artefact. But when the retraction zone was exceedingly narrow, the stained margin of the albuminous background enveloped the organism very closely, simulating a capsule almost exactly. In such a case the capsular substance was not wide enough to permit one to determine whether or not it was stained. In fact the impression obtained was that it was stained. Such a pseudo-capsule we have observed with *B. coli*, *B. typhosus* and other non-encapsulated bacilli when using the Rosenow method and the other methods which retain the background.

A method invented by Boni (13), in which the bacteria were spread with a drop of a mixture of glycerin, egg albumin and formalin and the spread steamed, exaggerated this fault and uniformly created a pseudo-capsule around all organisms. For this reason he, and later Hamm, whose observations were made with the osmic vapor fixation of Weidenreich, concluded that all bacteria are surrounded by a slight envelope which differs from a true capsule only quantitatively.

With the methods such as the Hiss, Buerger and Wadsworth which do not retain the background these pseudo-capsules are not encountered. Whereas occasionally with the Buerger stain the background is retained, if the technic is carried out properly, all or nearly all of it can be avoided and excellent pictures obtained. Furthermore the fixing fluid must not be left on the cover slip longer than three to five seconds. That Wadsworth could not obtain satisfactory capsules with the Buerger stain is not surprising, when we consider that he left the fixative on the cover slip for one half minute and even longer. Rosenow who thinks that "what has been looked on as a capsule around the coccus in former methods (in which category he includes Buerger's) is only a retraction zone of the albuminous film, the result of the fixing process", must either have done what Wadsworth did or have varied the technic in some other manner. During the past seven years' experience in the laboratory with the Buerger method, it has been found that if the fixative is applied immediately as the edges

begin to dry and left on the cover slip for from three to five seconds, and the rest of the procedure carried out correctly, the organisms and their capsules are well fixed and the capsular outline in the case of the *Pneumococcus*, for example, stained intensely, the capsular material stained much less deeply than the outline and the background entirely absent or a negligible amount of granular looking material here and there visible.

Staining of the capsular margin. Buerger speaks of the deeply stained margin of the capsule as the limiting membrane; this view has been criticized with some justice. But he has apparently made this statement with some limitation, for he has also suggested that the deep staining of the capsular margin may be due to condensation at this point. This is probably very near the exact truth.

Some sort of a membrane must be present at the surface of the capsule just as it must be present around protoplasmic material. Ramsden (14), Robertson (15) and others have demonstrated that on the surface of any protein solution solid or highly viscid films are formed. In this connection Hardy (16) has shown that the reason why droplets of concentrated protein can retain their integrity when suspended in water or, better, in a solution of the protein in a certain dilute concentration, is the formation of a membrane or film due to an increase of concentration of protein at the limiting surface.

Hamm (9) has analyzed the capsules of *B. mucosus* and has arrived at the conclusion that they consist of a protein, probably a nucleo-protein. His analytical methods as well as his conclusions are open to considerable doubt. In 1901 Heim (17) discovered that all bacterial capsules will take a meta-chromatic stain more or less intensely with Unna's polychrome methylene blue, and from this observation drew the conclusion that the capsular substance was composed of mucin. But whatever the composition of the capsular material, a concentration film must be present at the limiting surface, for according to Hardy the same considerations hold good for all substances containing water as solvents.

There are no observations which permit us to assert that this concentration film is wide enough to be demonstrable by ordinary staining methods, but by the method of fixation employed by Buerger it is apparently very much exaggerated and thus rendered stainable. Evidence of the possibility of this exaggeration is supplied by the similar intense staining that is sometimes seen at the margin of the albuminous background immediately contiguous to the capsule even when no retraction has occurred. Here also a concentration film must be present and not only is it fixed by the Zenker fixative but it is markedly intensified and also rendered stainable.

Shrinkage of the capsular substance occurs more or less after every method of fixation though less with the Buerger and Rosenow methods than with any of the others. It probably also plays a role in the production of the stained margin. But appreciable shrinkage is probably not an essential factor in the production of this stained capsular margin. Two observations speak in proof of this. Firstly pneumococci fixed and stained by both the Rosenow and Buerger methods will show capsules of equal width in the respective stains, yet frequently under these circumstances the capsules stained by the Buerger method will have sharply stained margins, whereas those stained by the Rosenow will not. And this does not depend upon the greater depth of staining of the capsular substance in the Rosenow stain. Secondly, though a minute amount of shrinkage which is barely visible with the microscope

is, as we have said, probably a factor, yet even if the capsules be examined unfixed and unstained they will frequently not look any larger than the capsules from the same culture fixed and stained according to the Buerger procedure.

Examination of capsules in the unstained and unfixed state is very easily accomplished by the study of a hanging drop. All that is necessary is to emulsify a small amount of the culture material, of a *Pneumococcus* for example, and mix with this a loopful of a one per cent aqueous collargol suspension. By continuing to focus slowly up and down, the pneumococci and their capsules are rendered distinctly visible against a brownish background, the organism as a dark body surrounded by a transparent area, its capsule. This method was first used by Hamm to demonstrate that the capsule was an integral part of the organism and present even when not in an albuminous menstruum. This would be an ideal method from the standpoint of simplicity to demonstrate the presence of capsules were it not for two factors. Firstly, in the examination of exsudates the procedure is very unsatisfactory; secondly, the surface of non-encapsulated organisms refract light so that they appear to be surrounded by a narrow iridescent zone indistinguishable from a poorly developed capsule.

Rosenow had demonstrated that the capsules of pneumococci and allied organisms are not readily soluble in water. But the credit for this demonstration belongs to Ffirst (18) who described experiments in October, 1910, which were similar to those of Rosenow and upon which was based the proof of their relative insolubility in physiological salt solution.

Staining of the capsular substance. As Rosenow has observed, to render the capsular substance stainable is a problem, though we do not agree that it is the only problem. To accomplish this he utilizes the various weak acids and finds that after fixation in a saturated aqueous solution of bichloride of mercury, and then washing in water, the capsules will remain unstained unless the smear be treated with an acid. In our experience with the Wadsworth method, sometimes excellent capsule stains can be secured without treatment with an acid, especially if the stain be left in the 40 per cent formalin for five minutes. The entire capsular substance is frequently seen to be well stained. This perhaps may be accomplished by the formic acid present in the fixative, though whether the reducing action of formaldehyde plays a role is still to be determined.

Why acid should increase the receptive power of the capsule for various dyes can only be conjectured. Most probably the production of an acidophilia is a factor, as is suggested by the diminished basophilia of the organism after the application of the acid. Very suggestive in this regard is the observation that we have repeatedly made, that those capsule staining methods (e. g. Buerger) which brings out the outline intensely, usually stain the rest of the capsular substance less deeply than do those methods (e. g. Rosenow) in which the outline is not rendered prominent. This inverse proportion between the depth of staining of the capsular substance and its margin is worthy of consideration. It seems to indicate that the membrane may not be due solely to slight shrinkage but also lends credence to the assumption previously mentioned, that the stained margin may be in part due to condensation with a resultant rarefaction of the inner capsular substance. Acid tends to diminish the condensation and hence the depth of staining of the membrane, and to increase the staining capacity of the capsular substance.

The Zenker fluid without acetic acid is also somewhat acid. According to Rosenow's observations, this is what renders the capsular substance stainable. After its use no matter how faintly the capsular

substance may stain, it does not look transparent and empty like the unstained capsule. One can always easily see that something is there. But the great advantage of the Zenker fixation was found to be the fact that it produced such an exaggeration of the capsular outline that recognition of the various types of capsules was rendered simple.

Type capsules. Buerger has claimed that some of the encapsulated bacteria when grown on a 0.5 or 2 per cent glucose-serum-agar made up with ascitic fluid, the latter constituting about one fourth the volume of the medium, exhibit type capsules. He has described a *Pneumococcus* type, a *Streptococcus* type and a mucoid type, the latter being characteristic of the *Streptococcus mucosus*, *Bacillus mucosus capsulatus* and the *Micrococcus tetragenus*. Some of those (19—5) who have taken exception to this, overlooked the fact that he did not claim that the different types could be obtained with every method, nor that these types were always found. For he has made the statement that when the conditions for growth are unfavorable, or after a number of transplantations or at times in the very first cultures from the blood or exudate of patients who have harbored the organisms for a considerable period of time, these typical appearances may be absent. But even then, by inoculation into a susceptible animal (mouse), or by subinoculations on very favorable media, the usual typical or well matured form is restored.

The laboratory experience of seven years with his method warrants us in supporting Buerger's contention. Frequently many of the other methods used in our comparative studies also demonstrated the type capsules. But the method which approached nearest to the Buerger in the constancy with which it demonstrated the presence of the type was the Rosenow. Yet even this did not serve as well. It seems to us that the comparative intensity with which the outline is demonstrated after the Zenker fixation, especially in the case of the *Pneumococcus*, accounts for the ease with which after this technic one can recognize the type. Even if one were to grant that what was described by Buerger were artefacts, the constancy with which they occur and the fact that they are differential is sufficient to warrant the use of his method. But that they are not artefacts is easily demonstrated by examining a hanging drop of the various organisms to which has been added a loopful of one per cent aqueous suspension collargol. By such an examination in the unstained and unfixed condition one can easily prove that the various type capsules are real and not the result of the fixing process. The capsule of the *Pneumococcus* shows a comparatively sharp elliptical outline and there are distinct indentations between most of the diplococci. On the other hand, the capsules of the *Bacillus mucosus* and to an even greater extent of the *Streptococcus mucosus* show a very hazy diffuse outline with little or no indentation between the individuals in the chains.

Value of the type capsules. From our observations we believe that the chief reason why other observers failed to recognize these types lay in the capsule staining method employed. The importance of their recognition is also not sufficiently appreciated. At the present day the therapy of an infection depends in great part upon the invading organism and therefore its recognition at the earliest possible moment is of importance so that treatment with the appropriate vaccines, immune sera, etc. can be immediately instituted.

And from the surgical standpoint Libman has made the following very pertinent observations in this regard. In his experience (20) thrombosis of the lateral sinus has never been caused by the *Pneumococcus*. If in a case suspected of having this condition the blood culture contains an organism with the typical *Pneumococcus* capsule, the surgeon is advised to delay operation even before the cultural characteristics have been determined. In such conditions central pneumonias have subsequently been discovered. If the blood culture contains a coccus having the type capsule of the *Streptococcus mucosus* or no capsule whatever, it is reasonable to assume, especially when mastoid symptoms are present and there is no other apparent focus, that a lateral sinus thrombosis is present. To delay operation until the cultural characteristics have been ascertained is often impossible and even fatal. Similarly, when the surgeon is operating upon a case suspected of being a peritonitis of cryptogenic origin, if the report can be immediately made that the pus contains pneumococci, the search for a portal of entry can be discontinued and the abdomen closed (21). One can conclude with safety that the infection is not due to any discoverable intraabdominal lesion.

Other situations could also be mentioned in which an early differentiation between the *Pneumococcus*, and the *Streptococcus* and *Streptococcus mucosus* has proven invaluable. It has been the custom in this laboratory to regard the type capsules as of equal differential value with the inulin fermentation, the solution of bile, the growth on blood agar and the precipitation phenomenon described by Libman (22).

In concluding, let us state that besides preserving the type capsule there are two other things that a good capsule stain must do. It must bring out the poorly developed capsules, and must not produce pseudo-capsules around the non-encapsulated bacteria. With many of the methods, for example the Welch, Hiss and Wadsworth, we frequently could not demonstrate these degenerate capsules. The Buerger and Rosenow procedures proved most satisfactory in this regard. The Rosenow, the osmic vapor and the other methods in which a uniform background is retained, on several occasions, produced pictures with non-encapsulated organisms which were very confusing. On the other hand it has been our experience during this study that the Buerger method when executed properly never failed to show a capsule when one could be demonstrated by any other method, never produced anything around a non-encapsulated bacterium that could be easily mistaken for a capsule and most uniformly and distinctly demonstrated the various types.

Dr. Levy, pathological interne at the hospital, has recently been experimenting with various modifications with a view to devising a simple method which would also retain all the principles for capsule staining as developed in this work. Several procedures have thus far proven satisfactory from the standpoint of simplicity and clearing of the background. More experience is still needed to determine whether these methods properly preserve the type capsules and demonstrate the poorly developed capsules. The technic will be published by Dr. Levy as soon as sufficient experience in their use has been obtained.

In conclusion we desire to express our indebtedness to Dr. E. Libman for much advice and numerous suggestions during the course of his work.

References.

- 1) Buerger, L., Journ. Infect. Dis. Vol. 4. 1907. p. 426. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 216, 335.
- 2) Baehr and Kantor, Proc. New York Pathol. Soc. N. S. Vol. 9. 1911. p. 69
- 3) Hiss, P. H. jr., Journ. Exper. Med. Vol. 6. 1902. p. 317.
- 4) Welch, Wm. H., Johns Hopkin's Hosp. Bull. Vol. 13. 1892. p. 125.
- 5) Wadsworth, A., Journ. Infect. Dis. Vol. 3. 1906. p. 610.
- 6) Medalia, L. A., Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 56. 1911. p. 1189.
- 7) Buerger, L., Med. News. Vol. 85. 1904. p. 1117.
- 8) Kayser, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 138.
- 9) Hamm, A., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. p. 287.
- 10) Rosenow, E. C., Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 9. 1911. p. 1.
- 11) Smith, W. H., Boston Med. and Surg. Journ. 1910. p. 791.
- 12) Rosenow, E. C., Journ. Infect. Dis. Vol. 9. 1911. p. 1.
- 13) Boni, I., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 28. 1900. p. 705.
- 14) Ramsden, W., Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. 47. 1904. p. 336.
- 15) Robertson, T. B., Journ. Biol. Chem. Vol. 4. 1908. p. 1.
- 16) Hardy, W. B., Journ. Physical. Chem. Vol. 4. 1900. p. 255 and 259.
- 17) Heim, L., Arch. f. Hyg. Bd. 40. 1901. p. 56. — München. med. Wochenschr. 1904. p. 426. — Lehrb. d. Bakteriologie. 3. Aufl. 1906. p. 182.
- 18) Fürst, Th., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 97.
- 19) Hiss, P. H. jr., Journ. Exper. Med. Vol. 7. 1905. p. 547.
- 20) Libman and Celler, Amer. Journ. Med. Sc. Vol. 138. 1909. p. 409.
- 21) Libman, E., Discussion, Proc. New York Pathol. Soc. N. S. Vol. 9. p. 72.
- 22) —, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 28. 1900. p. 293. — Journ. Med. Research. Vol. 1. 1901. p. 84.

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Baehr, George and Kantor, John, A comparative study of methods for staining the capsules of bacteria, p. 119.</p> <p>Bessau, Georg u. Paetsch, Bernhard, Ueber die negative Phase, p. 67.</p> <p>Douglas, S. R. et Distaso, A., Etudes sur le noyau des bactéries, p. 1.</p> <p>Galli-Valerio, B., Observations sur les corpuscules de la vaccine, p. 53.</p> <p>Kaspar, F. u. Kern, W., Micrococcus tetragenus als Erreger einer Meer-schweinchenseuche, p. 7.</p> | <p>Kuhn, Franz, Einfluß von Zucker auf Hämolyse und Virulenz, p. 97.</p> <p>Mandelbaum, M., Ueber das Bacterium metatyphi, p. 46.</p> <p>Sangiorgi, Giuseppe, Beitrag zur Kenntnis der pathogenen Blastomyceten, p. 58.</p> <p>Scordo, Francesco, Die Vitalität der Leishmania Donovanii in Berührung mit den Bakterien des Verdauungstraktus der Flöhe und Wanzen, p. 62.</p> <p>Zachokke, F., Gordius als Parasit des Menschen, p. 64.</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

Nachdruck verboten.

Weiteres über die Biologie des Fränkelschen Pneumococcus (ödematogene Varietät von Foà)¹⁾.

[Aus der Medizinischen Klinik der Universität Genua (Vorsteher: Prof. E. Maragliano) und dem Laboratorium f. Mikroskopie u. Bakteriologie (Vorsteher: Dr. L. Panichi, Dozent).]

Von **G. Porrini**, Assistenten.

Mit 4 Figuren.

Durch die während der letzten Jahre von Dr. Panichi und mir fortgeführten Untersuchungen über den Fränkelschen Pneumococcus konnten unsere Kenntnisse über denselben bereichert werden.

Einen Teil unserer Beobachtungen haben wir bereits veröffentlicht (2); die im folgenden zu berichtenden Untersuchungen bestätigen einige bereits früher gemachte Beobachtungen, bringen Licht über andere und fördern neue Tatsachen zutage. Was die Modalitäten unserer Untersuchungen anbelangt, so sind wir stets in der seinerzeit beschriebenen Weise vorgegangen, d. h. bei jeder Reihe von Versuchen wurden den einzelnen Kaninchen (möglichst gleichen Gewichtes) 0,2 ccm des aus einer verschiedenen alten Bouillonkultur entnommenen Virus in die Ohrvene eingespritzt. Die Entnahme des Virus geschah zuerst nach 8-stündigem Verweilen der Kultur im Thermostaten, und wurde dann alle 4 Stunden bis zur 24. bis 48. Stunde wiederholt.

Im ganzen wurden 30 Reihen von Versuchen ausgeführt; wenn wir die 12 Reihen hinzuzählen, welche wir in der vorigen (1) Arbeit mitteilten, so handelt es sich im ganzen um 42 Beobachtungen. In unseren Protokollen sind diese Serien der Reihenfolge nach numeriert; die 16a-Serie ging verloren und wurde durch die Reihe 16 bis ersetzt; die Reihe 29 ging infolge eines Versehens ebenfalls verloren, und wurde nicht ersetzt; ich berichte somit im folgenden über 29 Reihen von Versuchen.

Da wir, je nach dem Verhalten der Kraft, welche das Virus in vivo zeigte, bereits einen M-Typus und einen Parabel-Typus unterschieden haben, gehe ich auf diese Unterscheidung nicht mehr näher ein, und beschränke mich auf die Angabe, daß in dieser Hinsicht die gegenwärtigen Untersuchungen die früheren in dem Sinne bestätigen, daß der M-Typus viel häufiger als der Parabel-Typus vorkommt; jenen beobachtete ich 12mal, diesen 5mal.

Ferner steht der M-Typus, wie ich weiter unten genauer darlegen werde, auch gegenüber allen übrigen möglichen Verhaltensarten des Virus im Vordergrund. Diese verschiedenen Abweichungen haben wir bereits in unserer früheren Arbeit (1) erwähnt, als wir das verschiedene Verhalten der pathogenen Tätigkeit des Pneumococcus, je nachdem dieser in gewöhnlicher Bouillon, in Blut oder in unserer, einfacher zusammengesetzten Bouillon gezüchtet wird, schilderten. Bei den 29 Reihen beobachteten wir diese Abweichungen 8mal.

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl, Turin.

Bei einer einzigen Reihe beobachteten wir jenen Typus, welchen Panichi als Mischtypus bezeichnete, weil die Kraft des Virus zwischen dem ursprünglichen Grade von Virulenz und der ersten Reaktivierung leichte Schwankungen nach oben oder nach unten, aber keine sofortige Tendenz zu einer starken Verminderung wie bei dem echten W-Typus zeigt.

Während jedoch, wie die erwähnten Untersuchungen von Panichi über die Schwankungen des Stickstoffs gezeigt haben, diese drei Typen: M-Typus, W-Typus und Mischtypus infolge des bei allen drei Typen gleichen Verhaltens des Stickstoffs während des ersten Teiles des Experimentes (während der ersten 8 Stunden des Verweilens im Thermo-taten) als einander äquivalent zu betrachten sind, während sie in bezug auf das Verhalten des Stickstoffs grundsätzlich verschieden vom Parabeltypus sind, müssen wir hervorheben, daß die 12 Reihen mit M-Typus die 8 Reihen mit W-Typus und die einzige Reihe mit Mischtypus eine Summe von 21 Reihen darstellen, welche, bei der hier berichteten Gesamtzahl von 29 Reihen, angeben, welches das gewöhnliche und häufigste Verhalten des Pneumococcus-Virus in bezug auf sein pathogenes Vermögen während der ersten 24 bis 48 Stunden der Entwicklung des Keimes auf Bouillon ist. Und wenn wir unsere vergleichende Betrachtung weiter ausdehnen wollen, so sehen wir, daß wir bei 41 Reihen (die früheren und die gegenwärtigen zusammengezählt) 28mal den Grund-M-Typus (hiermit meinen wir den echten M-Typus, den W-Typus, ferner den gemischten Typus) und nur 9mal den Parabeltypus beobachteten.

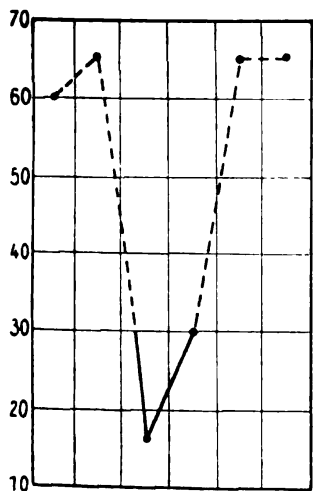
Ebenso kann bezüglich der einzelnen Eigentümlichkeiten dieses M-Typus nur das wiederholt werden, was wir in unserer ersten Arbeit mitgeteilt haben, d. h. sie wechseln von Reihe zu Reihe, ohne daß sich jedoch der Grundcharakter dieser abändert: konstant ist die erste Reaktivierung, welche am spätesten 20 bis 24 Stunden nach der Einimpfung, meistens aber zwischen der 12. und der 16. Stunde eintritt. Der W-Typus kann in kürzerer Zeit als der M-Typus ablaufen, so daß er sogar nach 24 Stunden schon vollendet sein kann (Reihe 22 und 28). Allerdings kann auch der M-Typus in gleicher Zeit alle seine Phasen ablaufen; ja in diesem einzigen Falle (Reihe 15) wurde bei verlängerter Beobachtung eine dritte Abschwächung um die 28. Stunde, dann eine dritte Reaktivierung um die 32. Stunde gesehen, nach welcher das Virus sich unwirksam erwies, das Kaninchen zu töten.

Was den Parabeltypus anbelangt, so hatten wir anfangs geglaubt, daß in den Fällen, wo der entsprechende Zyklus nach 24 Stunden vollendet ist, eine länger dauernde Beobachtung vielleicht zeigen könnte, daß es sich nur um den ersten Teil eines M-Typus handle; heute können wir aber angeben, daß bei 3 solchen Reihen mit Parabeltypus, bei welchen die Einspritzungen des Virus bis zur 39., 48. und 48. Stunde der Entwicklung der Kultur wiederholt wurden, auf die zweite Abschwächung keine neue Revirulentation folgte, was beweist, daß der Zyklus gänzlich vollendet war.

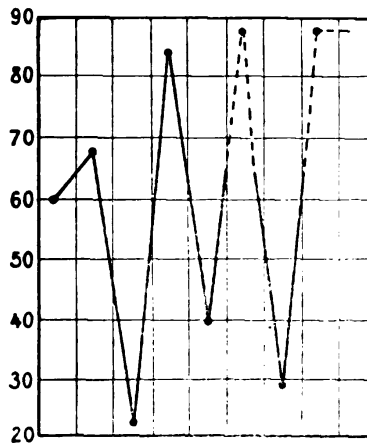
Bei dem Parabeltypus trat die Revirulentation nie vor der 16. Stunde ein, so daß man, wenn die Pathogenität des Virus bereits nach 12 Stunden zunimmt, voraussehen kann, daß sie bei den folgenden Aenderungen den W-Typus oder den gemischten Typus, aber nicht den Parabeltypus zeigen wird.

Ueber die 3 Kulturen (Reihe XIII, XVII und XXIV/α), bei welchen das Virus zeigte, daß seine Kraft in außergewöhnlicher Weise schwankte, will ich der Reihenfolge nach berichten.

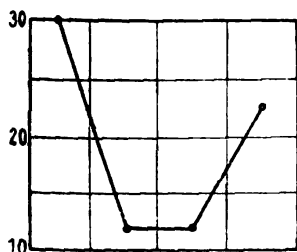
Bei der Reihe XIII war der Keim schon beim Beginn seiner Entwicklung so wenig aktiv, daß er das Kaninchen erst in 6 Tagen tötete und demselben erlaubte zu leben, als er eine 12-stündige Entwicklung



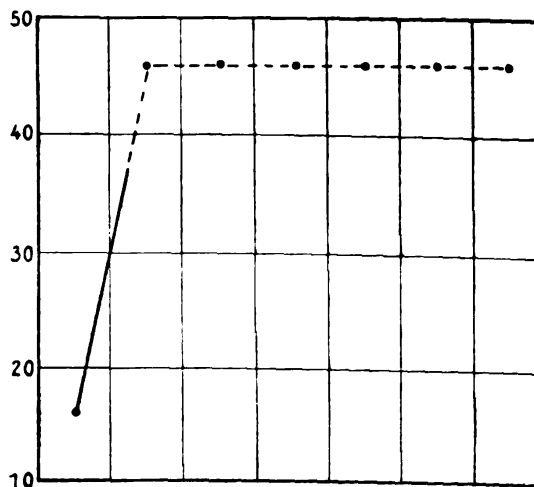
XIII



XV



XVII



XXIV α

hinter sich hatte; die Revirulentation trat in der 16. und 20. Entwicklungsstunde ein, so daß das Kaninchen in 16 resp. 30 Stunden getötet wurde. Nach dieser kurzen Periode der Aktivität erwies sich aber der Keim dauernd abgeschwächt, so daß die Kaninchen, denen das Virus der 24. resp. 29. Stunde eingepfist war, überlebten. Es entstand somit, bei graphischer Darstellung des Verhaltens des pathogenen Vermögens, eine N-Figur, welche (wenn wir den ersten steigenden Schenkel beiseite lassen) uns eine annähernde Vorstellung von dem geben kann, was bei der Reihe VIII geschehen sein muß, bei welcher die Kraft des Virus sich derart änderte, daß sie zwei spitzwinkligen oder konvergierenden geraden Linien folgte, welche somit eine Art V bildeten.

Die soeben erwähnte Deutung der Reihe VIII erscheint aber noch richtiger, wenn man die Reihe XVII betrachtet, bei welcher sich die Pathogenität des Virus in einer ungewohnten Weise verhielt, d. h. fast einer Art U folgte, indem die Steigerung und die Abnahme der Pathogenität durch eine Periode verbunden sind, wo keine Aenderung eintrat. Ohnedies hätten sich die beiden Linien spitzwinklig wie bei Reihe VIII getroffen. Sowohl bezüglich dieser wie hinsichtlich der Reihe XVII drängt sich die Frage auf, ob alle Eigentümlichkeiten des verschiedenen Verhaltens des Virus nicht auf unvollständiger Beobachtung beruhen, d. h. die bei den beiden Reihen beobachteten Erscheinungen könnten dem ersten Teile der Erscheinungen entsprechen, welche in den Fällen beobachtet wurden, wo das nach der 20. (Reihe XVII) resp. 24. Stunde (Reihe VIII) geprüfte Virus seine Kraft dem W-Typus gemäß geändert hat: Die beiden in Frage stehenden Reihen stellen das erste V dar (1).

Bei dieser Annahme liegt als eine Varietät — deren Ursache ich weiter unten erwähnen werde — nur die Reihe XIII vor, weil bei dieser der in der 20. Stunde geschlossene Zyklus den Beweis der nach 24 bis 29 Stunden wiederholten stabilen Abschwächung hat (2).

Wenn das Virus sich bei sukzessiven Proben abgeschwächt erweist, wenn es nach einer Probe, bei welcher es kein pathogenes Vermögen zeigte, seine Aktivität nicht wieder annimmt, dann ist seine Abschwächung in der betreffenden Kultur eine dauernde. Ein Beispiel gibt die Beobachtung der Reihe XXIV/ α (die letzte der atypischen Kurven); bei derselben war das Virus nach 8 Stunden aktiv, und zwar sehr aktiv (so daß es das Kaninchen in 19 Stunden tötete), während es sich bereits nach 12-stündiger Entwicklung inaktiv zeigte und sich auch nach 16, 20, 24, 28 und 32 Stunden inaktiv erwies. Von den 7 Kaninchen der Reihe überlebten 6, indem nur das erste starb.

Diese Beobachtung ist aus einem anderen Grunde interessant. Sie trägt die N. XXIV/ α , weil sie ein Analogon der Reihe N. XXV/ β bildet, d. h. es handelt sich um zwei Reihen, bei welchen die Kulturen, soweit es überhaupt möglich ist, zu gleicher Zeit und in derselben Weise hergestellt wurden. Aus demselben mit Blut gefüllten (2) Glaskolben wurden 2 Tropfen Virus (einer auf einmal) entnommen, welche (mit derselben Pipette) in 2 Glaskolben übertragen wurden, welche in ein und derselben Weise hergestellte Bouillon enthielten. Die in diesen beiden Kolben enthaltene Bouillon entstammte ein und derselben Art Bouillon und der Stickstoffgehalt der beiden Glaskolben erwies sich gleich. Es trat zwar unmittelbar nach dem Zusatz der Blutkultur in beiden Kolben eine Abänderung des Stickstoffgehaltes ein (und zwar eine größere im zweiten Kolben — um 0,26 — als im ersten — um 0,24), vielleicht weil dem gleichen Volumen des eingepfunden Materials nicht eine gleiche Zusammensetzung und ein gleicher Gehalt entsprochen hatte, aber dieser geringe Unterschied genügte, um die Entwicklung der Kultur bei den beiden Reihen sehr verschieden zu gestalten.

Bei der ersten Reihe (XXIV/ α), wo bei der Impfung eine geringere Stickstoffmenge transportiert wurde, schwächte sich der Keim sofort ab; bei der zweiten (XXV/ β) erfuhr die Kraft des Keimes eine Umwandlung nach dem gemischten M-Typus.

Aus einem Vergleich zwischen diesen beiden Reihen geht hervor, daß eine eventuelle Verschiedenheit in der chemischen Zusammensetzung (und zwar selbst eine ganz geringe und nur quantitative) ein derartig verschiedenes Resultat zur Folge haben kann, daß einem und demselben

Kolben zwei Kulturen entstammen, welche beide nach 8-stündiger Entwicklung dieselbe Aktivität aufweisen, aber sich von da ab sehr verschieden verhalten, indem die eine sich rasch dauernd abschwächt, während sich die andere bis zur 36. Stunde aktiv erhält und sich erst in der 40. Stunde abschwächt.

Diese glückliche, zufällige Beobachtung zeigt, wie viele Elemente und welche minimalen Unterschiede derselben imstande sind, auf die Umwandlung der Pathogenität des Virus während seiner Entwicklung einen Einfluß auszuüben, sie erklärt die Variationen des Typus und zeigt, mit welcher sorgfältigen und strengen Technik unsere Versuche ausgeführt wurden, bei welchen (im Verhältnis von 3 : 4) ein konstanter Typus für die Entwicklung des Fränkelschen Pneumococcus während der ersten 24—48 Stunden der Entwicklung im Thermostaten hervortrat.

Aus dem Gesagten kann man folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Daß der Fränkelsche Pneumococcus (ödematogene Varietät) bei seiner Entwicklung auf künstlichen Nährböden Aenderungen seiner pathogenen Aktivität zeigte, welche einer M-förmigen Kurve folgte.

2) Daß die Schwankungen der pathogenen Kraft selbst mit minimalen quantitativen Aenderungen der Bestandteile der Kultur zusammenhängen können.

3) Daß, wenn die erste Reaktivierung des Virus vor der 16. Entwicklungsstunde eintritt, voraussichtlich die Kurve des pathogenen Vermögens eher den M-Typus als den Parabel-Typus zeigen wird.

4) Daß die Kultur, wenn sie sich bei zwei sukzessiven Proben unfähig erwies, das Kaninchen zu töten, d. h. sich viel länger als 8 Stunden inaktiv erwies, keine Virulenz mehr annimmt, während sie diese wieder annehmen kann, wenn sie sich nur bei einer Probe, d. h. während einer Periode von 4 Stunden, inaktiv zeigte.

Literatur.

- 1) Panichi, L. e Porrini, C., Sulla biologia dello pneumococco di Fränkel. (Annali d. Ist. Maragliano. Vol. 3. Fasc. 1.)
— —, Ueber die Biologie des Pneumococcus von Fränkel. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)
- 2) Panichi, L., Sull'azoto totale nelle colture di pneumococco di Fränkel. (Arch. di Farmacolog. speriment. e Scienze affini. 1910.)

Nachdruck verboten.

Berichtigung

zu der Arbeit: Ueber Kapselbildung der Milzbrandbacillen bei der Züchtung auf Schrägagar.

Von H. Kodama.

Auf Seite 177 des Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 62. H. 3/4 vorletzte Zeile von unten muß es heißen: „daß sie etwa einer 200-fach verdünnten Normalsodalösung entspricht“, und auf Seite 178 unten: (dessen Alkalität der 100–400-fach verdünnten Normalsodalösung entspricht — die der 200-fach verdünnten Normalsodalösung entsprechende Alkalität ist die beste). Auf Seite 179 möchte ich nach Zeile 39 zum besseren Verständnis beifügen: die für die Gesamtmenge des Agars notwendige Sodalösung wurde dann aus dieser mit 5 ccm angesetzten Probe berechnet.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen bei der Lungenpestepidemie in der Mandchurei 1910[11.

[Aus dem Süd-Mandschuri Eisenbahngesellschaftshospital zu Dairen; Direktor: Prof. Dr. Kenji Kasai.]

Von Hideo Toyoda.

Die Lungenpest, die als die furchtbarste Seuche des 14. Jahrhunderts unter dem Namen des „Schwarzen Todes“ bekannt ist, trat im Laufe der Jahre gegenüber der Drüsenpest an Häufigkeit zurück und galt so ziemlich als eine Seuche der Vergangenheit, wenn auch vereinzelt Fälle (1) in den Epidemien von Drüsenpest erwähnt werden. Zu unserer Ueber- raschung brach jedoch eine Epidemie von Lungenpest im letzten Winter in der Mandchurei aus und entfaltete, über weite Strecken sich ausbreitend, eine nie dagewesene Bösartigkeit, so daß Tausende und Aber- tausende elend dahingerafft wurden.

Die Seuche brach am 27. Oktober 1910 in Mandchuria aus, befief dann Zjalainol, Chailar und Tsitsikar, westlich von Mandchuria dem ost- chinesischen Eisenbahnwege folgend. Anfangs November wurde die Stadt Charbin verseucht, und von hier drang die Seuche unaufhaltsam nach allen Richtungen vor. Ende Dezember wurde die Seuche nach Osten bis in die Nähe von Wladiwostok, nach Süden an Changchun und Mukden vorbei bis nach Dairen — 1100 Meilen von Mandchuria entfernt gelegen — darauf noch über das Meer nach Tientsin und Shanghai verschleppt, und überall, wo die Pest hin kam, forderte sie ungeheuere Opfer; so wurden z. B. in Fudjadjan — der Charbin nahe liegenden chinesischen Oertlichkeit — 6000 von 40000 Bewohnern von der Seuche dahingerafft. Worauf muß man eine solch rasche Ausbreitung der Erkrankung zurück- führen? Zieht man das Ueberwiegen der Mortalität unter den chine- sischen ländlichen Arbeitern und die Verbreitungsweise der Epidemie in Betracht, so muß man die gegen das Jahresende einsetzende gemein- same Rückwanderung der Arbeiter nach ihren Heimatorten zur Feier des Jahreswechsels und das gedrängte Zusammenwohnen in engen Wohn- häusern als Ursache für die rapide Verbreitung der Epidemie ansprechen.

Gegen Mitte März 1911 nahm dann die Seuche ab, um gegen Mitte April an allen verseuchten Orten ziemlich plötzlich zu erlöschen.

Die Gesamtzahl der Toten betrug nach den Berichten der russischen, chinesischen und japanischen Beamten gegen 46 000, in Wirklichkeit muß sie unendlich viel höher gewesen sein. So zählte man z. B. in Fudjadan nach der amtlichen Meldung 6000 Verstorbene, in Wirklichkeit soll die Zahl über 10000 betragen haben.

Die während dieser Epidemie von mir beobachteten besonders interessanten Tatsachen sind die folgenden:

1) Unter den unzähligen Pestkranken gab es nur einen einzigen Fall von Drüsenpest in Changchun, alle anderen waren Lungenpestkranke.

2) Die Uebertragung des Pestvirus erfolgte ausschließlich unmittelbar von Pestkranken auf Gesunde, nicht durch Vermittelung lebloser Gegenstände.

3) Alle Bemühungen japanischer und chinesischer Aerzte, in den dem Eisenbahnwege entlang liegenden verseuchten Oertlichkeiten eine Pestepizootie unter den Ratten aufzufinden, wofür namentlich viele japanische Aerzte angestellt waren, waren erfolglos.

4) Zur Zeit der Epidemie wurden viele Esel und ein Hund spontan von der Seuche dahingerafft. Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen dieser Tiere wurden in den bakteriologischen Stationen für Pestbekämpfung zu Fushun und Changchun ausgeführt.

5) Der Abfall der Epidemie erfolgte an allen verseuchten Stellen gleichzeitig, indem die Zahl und die Schwere der Erkrankung ziemlich plötzlich abnahm.

Da eine solche ausschließliche Epidemie von Lungenpest an und für sich epidemiologisch von besonderer Bedeutung ist und dazu noch die eben erwähnten beachtenswerten zur Zeit der Drüsenpestepidemie nie beobachteten Tatsachen vorkamen, hielt ich es für wichtig, eine vergleichende bakteriologische Untersuchung von Pestkulturen verschiedener Herkunft auszuführen.

Zu diesem Zwecke wurden die folgenden Bacillenkulturen benutzt:

Verzeichnis und Herkunft der Kulturen.

| No. | Herkunft der Kulturen |
|-----|---|
| 1 | aus einem Lungenpestkranken in Charbin |
| 2 | " " " " Changchun |
| 3 | " " " " Mukden |
| 4 | " " " " Dairen |
| 5 | aus dem einzigen Drüsenpestkranken in Changchun |
| 6 | aus einem Lungenpesthunde in Changchun |
| 7 | " " Lungenpestees in Fushun |
| 8 | " " Drüsenpestkranken in Kobe |
| 9 | " " " " Tokyo |

Es sei mir hier gestattet, den Herren Doktoren an den japanischen bakteriologischen Stationen für Pestbekämpfung zu Fushun und Changchun, die mir diese Stämme aus den Tieren zugesandt hatten, meinen besten Dank auszusprechen.

1. Ueber die Morphologie und die kulturellen Eigenschaften der verschiedenen Pestbacillenstämme.

Da die Bacillen aus den verschiedenen Stämmen bezüglich ihres morphologischen und kulturellen Verhaltens alle untereinander gleich waren und keine Unterschiede aufwiesen, möchte ich hier der Einfach-

heit halber die Beschreibung derselben weglassen. Es muß jedoch noch erwähnt werden, daß man häufig die merkwürdigsten Involutionsformen im frischen Sputum beobachtet hat.

2. Virulenz gegen Tiere.

Da die Lungenpest während der letzten Epidemie direkt von Mensch zu Mensch übertragen wurde, so müssen, für eine einmalige Passage 7 Tage angenommen, in der 180 Tage langen Periode wenigstens 26 Passagen durchgemacht worden sein, vielleicht aber auch noch eine größere Zahl von Passagen, weil auch eine frühere Uebertragung z. B. in der Inkubationszeit oder am ersten Krankheitstage denkbar ist. Und dabei ist noch zu berücksichtigen, daß die Pestbacillen infolge der wiederholten Passagen durch empfängliche Tiere in ihrer Virulenz gesteigert werden, daß ferner das Virus der letzten Epidemie so hochgradig virulent war, daß selbst unter den dafür relativ schwer empfänglichen Haustieren eine Epizootie herrschte. Es schien mir daher von großem Interesse zu sein, das Verhalten verschiedener Tiere diesen hochvirulenten Bacillen gegenüber zu untersuchen.

Tabelle I.

a) Weiße Ratten (etwa 100 g schwer). Subkutane Impfung.

| Menge der Kultur in Oesen ¹⁾ | Art der Kultur | | | |
|---|-----------------|---------------------------|-----------------|-----------------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 |
| $\frac{1}{100}$ | † nach 4 Tagen | † nach 3 Tagen | † nach 5 Tagen | † nach 4 Tagen |
| $\frac{1}{1000}$ | † " 4 " | † " 28 Tag. ²⁾ | Bleibt am Leben | † " 4 " |
| $\frac{1}{10000}$ | † " 5 " | † " 3 Tagen | † nach 4 Tagen | † " 5 " |
| $\frac{1}{100000}$ | † " 6 " | † " 3 " | † " 7 " | † " 5 " |
| $\frac{1}{1000000}$ | † " 10 " | † " 5 " | Bleibt am Leben | † " 7 " |
| $\frac{1}{10000000}$ | Bleibt am Leben | Bleibt am Leben | " " " | Bleibt am Leben |

Tabelle II.

b) Graue Wanderratten (80—120 g schwer). Subkutane Impfung.

| Menge d. Kultur in Oesen | Art der Kultur | | | | | | |
|--------------------------|-----------------|----------------|---|---|----------------|----------------|-------------------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 5 | No. 6 | No. 7 |
| $\frac{1}{100}$ | † nach 2 Tagen | † nach 3 Tagen | — | — | — | — | — |
| $\frac{1}{1000}$ | † nach 3 Tagen | † nach 4 Tagen | † nach 3 Tag. | † nach 3 Tag. | — | † nach 6 Tagen | † nach 3 Tagen |
| $\frac{1}{10000}$ | † nach 3 Tagen | † nach 5 Tagen | am 12. Tage nach d. Impfung getötet ³⁾ | am 12. Tage nach d. Impfung getötet ⁴⁾ | † nach 4 Tagen | † nach 6 Tagen | † nach 4 Tagen |
| $\frac{1}{100000}$ | Bleibt am Leben | † nach 3 Tagen | † nach 2 Tag. | † nach 4 Tag. | † nach 5 Tagen | † nach 4 Tagen | † nach 9 Tagen |
| $\frac{1}{1000000}$ | — | — | Bleibt am Leben | am 12. Tage nach d. Impfung getötet ⁵⁾ | † nach 4 Tagen | † nach 4 Tagen | 4 Bleibt am Leben |

- 1) Eine Oese Kultur betrug bei Typhusbacillen ca. 2 mg.
- 2) In den regionären Leistendrüsen waren Bacillen nachgewiesen.
- 3) Die Impfstelle geschwürig.
- 4) Die regionären Drüsen enthielten Bacillen welche verschiedene Involutionsformen aufweisen.
- 5) Die regionären Drüsen angeschwollen, reichlich Bacillen enthaltend.

Tabelle III.
c) Weiße Mäuse (ca. 10—14 g schwer). Subkutane Impfung.

| Menge der Kultur in Oesen | Art der Kultur | | | |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 |
| 1/100 | † am Tage der Impfung | † am Tage der Impfung | † am Tage der Impfung | † am Tage der Impfung |
| 1/1000 | dgl. | dgl. | dgl. | dgl. |
| 1/10000 | dgl. | dgl. | dgl. | dgl. |
| 1/100000 | † am nächst. Tage | † am nächst. Tage | † am nächst. Tage | † am nächst. Tage |
| 1/1000000 | † am 3. Tage | † am 4. Tage | † am 4. Tage | † am 4. Tage |
| 1/10000000 | † „ 4. „ | dgl. | dgl. | † „ 5. „ |
| 1/100000000 | † „ 6. „ | † am 7. Tage | † am 5. Tage | † „ 6. „ |
| 1/1000000000 | † „ 8. „ | — | † „ 7. „ | — |

Bemerkung: Die Pestbacillen wurden in allen folgenden Versuchen stets auf Agarnährboden bei 30° C 2 Tage kultiviert und in 0,8-proz. Natriumchloridlösung aufgeschwemmt, den Tieren appliziert. Die Tiere wurden nach dem Tode alle sezirt, ein pathologisch-anatomischer Befund aufgenommen und die bakteriologische Untersuchung ausgeführt.

d) Ziesel.

Der Ziesel gehört zu den Nagetieren und steht den Murmeltieren nahe, er hat die Größe einer Ratte und ist mit dicht behaartem rotgelbem Pelz bekleidet. Er kommt massenhaft in der Nähe der Stadt Mukden vor.

Während der letzten Epidemie vertrieben die unzivilisierten Chinesen die Kranken aus dem Hause und warfen die Toten auf die Straße, um aus Abneigung gegen die amtlichen Pestbekämpfungsmaßregeln die Erkrankung möglichst zu verheimlichen. Die Leichen blieben unbeerdigt im Freien liegen, eine Beute der Raubtiere. Es lag die Vermutung nahe, daß auch die Ziesel, obwohl sie anscheinend eine Abneigung haben, angefaulte Kadaver ihrer Artgenossen zu fressen, dennoch die Menschenleichen annagten und dadurch von der Seuche angesteckt wurden und so bei der Weiterverbreitung der Seuche eine nicht untergeordnete Rolle spielten.

Bereits bei der Pestepidemie in Kolobowka im Jahre 1900 hatte Tartakowsky (2) durch Versuche erwiesen, daß die Ziesel eine große Empfänglichkeit für die Pest besitzen.

Zum gleichen Resultat führten auch meine diesbezüglichen Versuche an den Zieseln. Durch Virulenzprüfungen auf verschiedenen Wegen wies ich nach, daß sie ebenso stark empfänglich wie die Ratten waren.

Tabelle IV.
Kultur No. 3. Subkutane Impfung.

| Menge der Kultur in Oesen | Lebensdauer nach der Impfung in Tagen | Obduktionsbefunde |
|---------------------------|---------------------------------------|---|
| 1/100 | 3 | Die Impfstelle hämorrhagisch entzündet, regionäre Leistendrüsen und Milz geschwollen, Lungen und Leber hyperämisch. |
| 1/1000 | 5 | do. |
| 1/10000 | 4 | do. |
| 1/100000 | 6 | Die hämorrhagische Entzündung an der Impfstelle etwas geringer, sonst wie oben. |
| 1/1000000 | 7 | do. |

Daraus geht hervor, daß man nicht versäumen darf, bei der Pestbekämpfung in der Mandschurei außer den Ratten auch dem Ziesel seine Aufmerksamkeit zuzuwenden.

e) Tarbagan (3).

Die Beobachtung der russischen Aerzte Bieliarsky und Rosch-tinikoff, daß die unter den in der Mongolei und im transbaikalischen Gebiete massenhaft lebenden Tarbaganen (*Arktomys bobac*) herrschende, mit Pest völlig übereinstimmende Epizootie gelegentlich auf Menschen übertragen wurde, rief die Aufmerksamkeit der Forscher hervor, und wurde alsbald durch verschiedene interessante Berichte von anderer Seite bestätigt. Aus diesen Schilderungen kann man mit Sicherheit schließen, daß es sich bei dieser Tiererkrankung um die wahre Pest handelt, obwohl die bakteriologische Identifizierung in diesen Fällen bisher noch nicht erfolgt war. Inzwischen hat jedoch Zabolotny bei spontan pestkranken Tarbaganen Pestbacillen mit Sicherheit nachgewiesen.

Da man beim Ausbruch der letzten Epidemie die Tarbaganen ganz allgemein als die Ueberträger des Pestvirus auf den Menschen zu betrachten geneigt war, führte ich den folgenden Versuch aus, um die Empfänglichkeit dieser Tiere gegen Pest zu prüfen.

Am 21. März nachmittags um 2 Uhr wurde einem Tarbagan $\frac{1}{100000}$ Oese Kultur No. 1 an der rechten Bauchseite subkutan einverleibt. Am 29. desselben Monats um 9 Uhr vormittags starb das Tier.

Obduktionsbefund: Die entzündlichen Veränderungen an der Impfstelle waren geringgradig, die regionären Leistendrüsen waren geschwollen, enthielten eine geringe Menge Bacillen. Die Milz war vergrößert, von einer enormen Menge Bacillen durchsetzt, weich und schwarzrot, sie wies Knotenbildung auf. Die Hyperämie der Lunge und Leber war hochgradig, in der letzteren befand sich ebenfalls Knotenbildung mit geradezu enormem Bacillengehalt.

Hieraus geht mit Sicherheit hervor, daß das genannte Tier für Pest ebenso stark empfänglich ist wie die Ratte.

f) Kaninchen.

2 großen Kaninchen wurde je 1 Oese Kultur No. 1, und zwar dem einen intraperitoneal, dem anderen subkutan einverleibt. Das erste ging nach 4 Tagen an Pest zugrunde, das letztere war nach 10 Tagen noch am Leben und blieb dauernd gesund.

g) Hunde.

Die Angaben über die Virulenz der Pest für Hunde lauten verschieden, bald wurde eine größere, bald eine geringere Empfänglichkeit dieses Tieres durch Impfversuche festgestellt. Von einer spontanen Infektion, wie sie in der letzten Epidemie in Chang-chun beobachtet wurde, war bis jetzt nichts bekannt. Dieses veranlaßte mich, auch eine Virusprüfung des Lungenpestkeimes an Hunden auszuführen.

I. Versuche mit Stamm No. 1.

1) Am 10. März wurden $1\frac{1}{2}$ Oesen Kultur einem Hündchen von 3000 g Körpergewicht intraperitoneal eingepflegt. Unter stetiger Abmagerung ging es am 20. desselben Monats zugrunde. Von pathologisch-anatomischen Veränderungen wären nur einige Mesenterialdrüsen von fleckig-roter Farbe in Erbsengröße anzuführen. Geringe Mengen Pest-

bacillen, und zwar Involutionsformen, fanden sich in den Mesenterialdrüsen und Lungen.

2) Bei der subkutanen Einverleibung der gleichen Dosis Kultur wie oben blieb das zweite Hündchen am Leben. Nach etwa 3 Wochen getötet, erwies es sich als gesund.

3) Am 9. Mai wurde einem dritten Hündchen durch die Brustwand 1 Oese Bacillenkultur in die rechte Lunge eingepft. Unter Abmagerung starb das Tier am 20. desselben Monats. Durch die Obduktion wurde bestätigt, daß die rechte Lunge hyperämisch, deren Alveolen mit blutigem Exsudat durchtränkt und die vergrößerte Leber mit mehreren Knoten durchsetzt war, während die Milz verschont geblieben war. Dagegen konnte man in keinem Organ eine genügende Menge Bacillen auffinden, welche die oben beschriebenen Veränderungen hätten erklären können. In den Präparaten finden sich nur außerordentlich spärlich Bacillen. Diese paradoxe Erscheinung dürfte wohl auf die geringe Empfänglichkeit des Hundes gegen Pest zurückzuführen sein. Wahrscheinlich haben die Bacillen bei ihrer hochgradigen Virulenz zunächst reaktive entzündliche Veränderungen im Tierkörper hervorgerufen, sind aber dann der bakteriziden Wirkung des Gewebes erlegen und zugrunde gegangen. Durch Intoxikation durch die aus den zerfallenen Bakterienleibern frei werdenden Toxine wurde der Tod des Tieres hervorgerufen.

II. Versuche mit Stamm No. 6.

1) Am 11. März wurde 1 Oese Kultur dem vierten Hündchen intraperitoneal einverleibt; es verendete am 18. desselben Monats unter Abmagerung. Es fanden sich keine bemerkenswerten pathologischen Veränderungen mit Ausnahme von Mesenterialdrüsenanschwellung und hämorrhagischen Herden im Lungengewebe. Pestbacillen kamen nur in geringer Menge in den Organen vor, und zwar zeigten die meisten Involutionsformen.

2) Das fünfte Hündchen, dem 1 Oese Kultur subkutan an der Bauchseite injiziert wurde, ging unter Abmagerung nach 7 Tagen zugrunde. Die Impfstelle war eitrig entzündet und von einer geringen Menge Pestbacillen durchsetzt. Beim Züchten aus Eiter gingen unzählige Pestkolonien auf. Die regionären Leistendrüsen waren angeschwollen und enthielten eine unbedeutende Menge Involutionsformen aufweisender Bacillen. Die Leber, Milz und Lunge zeigten keine besonderen Veränderungen.

Aus diesem Versuche geht hervor, daß der Hund eine gewisse Empfänglichkeit für hochvirulente Bacillen besitzt.

h) Tauben.

Die Pestbacillenkulturen No. 1, 6, 7 und 8 wurden den Vögeln bald intramuskulär, bald intraperitoneal injiziert, aber stets erfolglos. Die Tauben erwiesen sich gegen Pest immun.

i) Meerschweinchen.

Durch die Obduktion von zwei mit Pestbacillen geimpften graviden Meerschweinchen wurde bestätigt, daß die Embryonen zwar Hautblutungen an mehreren Körperteilen zeigten, aber bakteriologisch ganz steril waren. Ganz entsprechende Beobachtungen sind von der Deutschen Pestkommission bei der Untersuchung der von pestkranken Müttern ausgestoßenen Föten gemacht worden.

j) Kutane Impfversuche an Tieren.

Die Einreibung von Reinkultur oder Pestkrankenauswurf auf die rasierte Bauchhaut führte in einigen Tagen den Tod der Versuchstiere (Meerschweinchen, weiße Ratten und Ziesel) herbei, die alle die gleichen pathologischen Veränderungen zeigten.

Daraus geht hervor, daß die Lungenpestbacillen betreffs ihrer kutanen Ansteckungsfähigkeit sich von den Drüsenpestbacillen nicht wesentlich unterscheiden. Trotzdem war bei der letzten Epidemie, wie erwähnt, nur ein einziger Fall von Hautinfektion (Drüsenpest) zu unserer Beobachtung gekommen.

k) Fütterungsversuche an Tieren.

Verfütterung von Reinkulturen oder von Auswurf Lungenpestkranker hatte bei weißen Ratten und Wanderratten tödlich verlaufende Darm- oder Submaxillardrüseninfektionen zur Folge. Von 4 mit auf Gemüse anhaftendem Kulturmaterial gefütterten Zieseln war nur eines an Maxillarbubonen gestorben.

3. Die Giftigkeit der Filtrate der Lungenpestbacillenbouillonkulturen.

Die wichtigen, auf die Giftigkeit der Pestbacillen bezüglichen Arbeiten von Yersin, Calmette und Borrel (4), der Deutschen Kommission (1) und von Hata (5) führten zu dem Resultate, daß die Toxine der Pestbacillen wesentlich an die Leibessubstanz der Bakterien gebunden sind, und daß es sich bei den Giftwirkungen des Filtrates der alten Kulturen, welche zuweilen die Existenz eines löslichen Toxins vortäuschen können, vielleicht um durch längere Mazeration in die Nährflüssigkeit übergegangene, toxische Substanzen der Bakterienleiber handelt. Dem stehen gegenüber die Berichte von Albrecht und Ghon (7), Wernicke (6) die sich dahin aussprechen, daß die Anwesenheit der toxischen Substanz im Bouillonkulturfiltrat wirklich nachzuweisen war, und daß dessen Giftigkeit mit dem Alter der Kultur in gewissem Grade zunimmt. Markl (8) beobachtete sogar, daß junge, 24-stündige, flüssige Kulturen schon toxische Substanzen, und zwar Stoffwechselprodukte der Bakterien, enthielten. Diese Verschiedenheit der Meinungen über die Giftbildung der Pestbacillen in der Nährlösung veranlaßten mich, die folgenden Untersuchungen mit den hochvirulenten Lungenpeststämmen auszuführen.

12-tägige neutrale Bouillonkulturen der Lungenpeststämmen No. 1, 2, 3, 4 und daneben als Kontrollmaterial solche der Drüsenpestkulturen No. 8 und 9 wurden durch Chamberland-Filter filtriert; die Filtrate wurden, nachdem sie sich bei Kulturversuchen als steril erwiesen hatten, unter Zusatz einer kleinen Menge Thymol aufbewahrt. Sie wurden den Tieren subkutan unter die Bauchhaut appliziert (Tab. V s. p. 141).

Die durch die Filtrateinspritzung hervorgerufenen pathologischen Veränderungen waren je nach der Menge des injizierten Filtrates verschieden stark. Bei den schwersten Fällen wurde eine nekrotisierende Entzündung der Impfstelle, Vergrößerung der regionären Lymphdrüsen und der schwarzrot verfärbten Milz, sowie Hyperämie der Leber und Lunge, bei den leichtesten Fällen nur eine Infiltration der Injektionsstelle beobachtet. Bei der bakteriologischen Untersuchung erwiesen sich pathologisch veränderten Stellen immer steril.

a) Versuche mit 10—14 g schweren Mäusen.
Tabelle V.

| Menge des Bouillonfiltrates in ccm | Art der Kultur | | | | | |
|------------------------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 8 | No. 9 |
| 0,3 | † nach 3 Tagen | † am nächsten Tage | † am nächsten Tage | † am nächsten Tage | † nach 2 Tagen | † nach 2 Tagen |
| 0,1 | Bleibt am Leben | dgl. | dgl. | dgl. | † nach 4 Tagen | † nach 3 Tagen |
| 0,05 | dgl. | † nach 2 Tagen | Bleibt am Leben | † nach 2 Tagen | Bleibt am Leben | Bleibt am Leben |
| 0,01 | „ | Bleibt am Leben | dgl. | † nach 4 Tagen | dgl. | dgl. |

b) Versuche mit Meerschweinchen von 200—300 g Körpergewicht.
Tabelle VI.

| Menge des Bouillonfiltrates in ccm | Art der Kultur | | | | | |
|------------------------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 8 | No. 9 |
| 5,0 | lebt | lebt | lebt | lebt | lebt | lebt |

Als die Versuchstiere nach mehr als 2 Wochen nach der Injektion alle munter am Leben geblieben waren, wurden sie durch Chloroform getötet und obduziert. Was die pathologische Veränderung anlangt, so handelte es sich in den meisten Fällen um eine leichtgradige entzündliche Anschwellung der regionären Lymphdrüsen. Nur in einem mit Kultur No. 3 behandelten Fall wurde Lymphdrüsenvereiterung beobachtet.

Die obigen Versuche zeigen, daß die Filtrate der Pestbacillennährflüssigkeiten Tieren gegenüber nicht stark giftig wirken, und daß auch ihre Toxizität vom Virulenzgrade der Bacillen nicht abhängt. Daraus muß man schließen, daß die geringe Giftwirkung der Filtrate nicht auf sezernierten Toxinen, sondern auf den beim Absterben der Bakterien in alten Kulturflüssigkeiten ausgelaugten Endotoxinen beruht.

4. Giftigkeit der abgetöteten Pestbacillen.

Da die Bacillen, wie oben erwiesen, nicht imstande sind, sezernierte Toxine zu bilden, muß man in bezug auf ihre Giftigkeit zunächst die Aufmerksamkeit auf die Endotoxine lenken.

Zweitägige Agarkulturen wurden in 8-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch 30 Minuten dauerndes Erwärmen auf 60° C vollständig abgetötet. Diese sterile Aufschwemmung wurde Mäusen von 12—15 g Körpergewicht subkutan unter die Bauchhaut eingepft (Tab. VII s. p. 142.)

Die hauptsächlichsten pathologischen Veränderungen, welche bei der Obduktion der verstorbenen Tiere gefunden wurden, waren Nekrose der Impfstelle und entzündliche Vergrößerung der Milz und der Lymphdrüsen. Bacillen waren nicht nachzuweisen. Die pathologischen Veränderungen waren sonach dieselben, wie sie auch bei den mit Bouillonfiltraten behandelten Tieren beobachtet worden waren.

Ferner zeigen die Versuche, daß sich die Endotoxine der virulenteren Lungenpestbacillen und der weniger virulenten Drüsenpestbacillen be-

Tabelle VII.

| Menge der Aufschwemmung in Oesen | Art der Kultur | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|--------------------|----------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 6 | No. 7 | No. 8 | No. 9 |
| 1 | † am nächsten Tage lebt | † an demselb. Tage | † nach 2 Tagen | † am nächsten Tage dgl. | † am nächsten Tage dgl. | † nach 2 Tagen | † am nächsten Tage | † am nächsten Tage |
| $\frac{1}{10}$ | | † nach 3 Tagen | † nach 4 Tagen | | | † am nächsten Tage | † nach 2 Tagen | † nach 3 Tagen |
| $\frac{1}{100}$ | „ | dgl. | lebt | lebt | † nach 2 Tagen | † nach 2 Tagen | † nach 3 Tagen | lebt |

zügig ihrer Toxizität gleich verhalten und daß, da in dieser Hinsicht sich kein wesentlicher Unterschied zwischen diesen Stämmen bemerkbar macht, auch die Virulenz der Pestbacillen in keinerlei Beziehung zu der Stärke der Endotoxine steht.

5. Verhalten der im Auswurfe vorkommenden Pestbacillen gegen schädliche Einflüsse.

Auf diese für die Epidemiologie der Pest so wichtige Frage werde ich mit T. Yasuda in einer besonderen Arbeit näher eingehen. Hier sollen nur folgende Beobachtungen kurz erwähnt werden.

a) Widerstandsfähigkeit der Bacillen im Sputum gegen Sonnenlicht.

Diese Versuche wurden am 3. März bei schönem Wetter in Changchun mit den schaumig dünnen, rostfarbigen Auswürfen von Pestpneumoniern, in welchen die Pestbacillen wie in Reinkultur vorkamen, ausgeführt. Die Sputa wurden in Petri-Schalen in ganz dünner Schicht ausgestrichen und dem Sonnenlicht ausgesetzt. Nach der Besonnung wurden sie in kleinen Bouillonmengen aufgeschwemmt und Mäusen subkutan injiziert. Die Resultate lauten:

Tabelle VIII.

| Dauer der Besonnung in Stunden | Lufttemperatur während der Besonnung | Zustandsänderung des Sputums nach der Besonnung | Beobachtungen an Mäusen |
|--------------------------------|--------------------------------------|---|--|
| 2. Von Mittag bis 2 Uhr | 2°—4° C | fast getrocknet | † nach 5 Tagen. Bacillen nachgewiesen. |
| 4. Von Mittag bis 4 Uhr | dgl. | ganz getrocknet | lebt |
| Nicht belichtet | „ | dünflüssig | † am demselben Tage. Bacillen reichlich vorhanden. |

Unter den damals in Changchun herrschenden klimatischen Verhältnissen besaß sonach die Sonne die Kraft, die in ganz dünner Sputumschicht enthaltenen Pestbacillen innerhalb 4 Stunden zu vernichten.

b) Lebensfähigkeit der in Auswürfen vorkommenden Pestbacillen im Winterklima in der Gegend von Charbin.

Während meines Aufenthaltes in Fudjadan in den letzten Wintermonaten hatte ich Gelegenheit, nachstehende Beobachtung zu machen. Am 1. Januar 9 Uhr morgens wurden zwei frische Menschenleichen, die

vielleicht in der vorangegangenen Nacht gestorben waren, auf der Straße aufgefunden. Der Mund der Leichen war mit vollständig gefrorenem Sputum bedeckt. Gegen 4 Uhr nachmittags desselben Tages wurden diese Sputummassen aufgetaut und auf Nährböden ausgestrichen. Pestkolonien kamen reichlich zur Entwicklung. Die Pestbacillen waren sonach in dem gefrorenen Auswurf auch nach 10-stündiger Einwirkung diffusen Tageslichtes bei einer Lufttemperatur von -4 bis -22° C noch lebensfähig.

6. Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Lungenpestbacillen.

Je $\frac{1}{2}$ Oese einer 2 Tage alten Agarkultur wurde jeweils in 5 ccm verschiedener antiseptischer Lösungen aufgeschwemmt. Aus den bei 20° C gehaltenen Aufschwemmungen wurde nach verschiedenen Zeiten (zwischen 1—20 Minuten) je 1 Oese auf Agar oder in Bouillon übertragen. Die geimpften Nährböden blieben alle steril.

Tabelle IX.

| Desinfektionsmittel | Dauer der Einwirkung nach Minuten | Art der Kultur | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------|-------------|-------------|
| | | No. 1 | No. 3 | No. 8 |
| 0,1-proz. wässrige Sublimatlösung | 1 | abgestorben | abgestorben | abgestorben |
| 1,0-proz. wässrige Karbollösung | 10 | „ | „ | „ |
| 1,0-proz. wässrige Lysollösung | 10 | „ | „ | „ |
| Destilliertes Wasser (als Kontrolle) | 20 | lebt | lebt | lebt |

Die hochvirulenten Lungenpestbacillen sind nach den erhaltenen Ergebnissen sonach gegen Desinfektionsmittel ebensowenig widerstandsfähig wie die schwächer virulenten Drüsenpestbacillen.

7. Widerstandsfähigkeit der Lungenpestbacillen gegen feuchte Hitze.

Je $\frac{1}{4}$ Oese Agarkultur wurde in 5 ccm Peptonwasser aufgeschwemmt. Die Aufschwemmungen wurden während 5 und 10 Minuten Temperaturen von $50-80^{\circ}$ C ausgesetzt und dann auf Sterilität geprüft.

Tabelle X.

| Temperatur | Dauer der Einwirkung der feuchten Hitze in Minuten | Art der Kultur | | |
|----------------|--|----------------|-------------|-------------|
| | | No. 1 | No. 2 | No. 8 |
| 80° C | 5 | abgestorben | abgestorben | abgestorben |
| 60° C | 10 | „ | „ | „ |
| 50° C | 10 | lebt | lebt | lebt |

Hiernach besteht auch hinsichtlich der Resistenzfähigkeit gegen feuchte Hitze kein Unterschied zwischen Lungenpest- und Drüsenpestbacillen.

8. Beobachtungen über die Agglutinabilität der Pestbacillen.

Indem Segawa (9) und Shibayama (10) durch das Kultivieren der Pestbacillen bald auf stärker alkalischem, bald auf gewöhnlichem

Agarnährboden bei Eisschranktemperatur die zäh-schleimige Eigenschaft der Kulturen beseitigten und die Agglutinabilität der so behandelten Stämme mit der gewöhnlicher Kulturen verglichen, kamen sie zu dem Ergebnis, daß die Agglutinabilität der Pestbacillen mit der Beschaffenheit der Kultur in engem Zusammenhang stand. Diese Beobachtung konnte ich durch die folgenden Versuche bestätigen. Für die Agglutination wurde Pestimmunserum aus dem Kaiserl. Institut für Infektionskrankheiten in Tokio benutzt.

I. Versuche mit gewöhnlichen, zäh-schleimigen Pestkulturen.

Tabelle XI.

| Art der Kultur | Serumverdünnungen | | | | | | Kontrolle |
|----------------|-------------------|------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 1:25 | 1:50 | 1:100 | 1:200 | 1:400 | 1:800 | |
| No. 1 | ++ | ++ | + | ± | — | — | — |
| „ 2 | ++ | ++ | ± | — | — | — | — |
| „ 3 | ++ | ++ | ++ | ± | — | — | — |
| „ 4 | ++ | ++ | + | — | — | — | — |

II. Versuche mit weniger zäh-schleimigen Pestkulturen.

Tabelle XII.

| Art der Kultur | Serumverdünnungen | | | | | | Kontrolle |
|----------------|-------------------|------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| | 1:20 | 1:50 | 1:100 | 1:200 | 1:400 | 1:800 | |
| No. 1 | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ | — |
| „ 2 | + | + | +++ | +++ | ++ | + | — |
| „ 3 | + | ++ | +++ | +++ | ++ | + | — |
| „ 4 | + | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ | — |
| „ 5 | + | ++ | +++ | +++ | ++ | + | — |
| „ 6 | + | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — |
| „ 7 | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | — |
| „ 8 | + | + | +++ | +++ | + | ± | — |
| „ 9 | + | ++ | +++ | +++ | ++ | + | — |

Nach dem Ausfall dieser Versuche komme ich zu derselben Schlußfolgerung wie vorher Shibayama, daß die Agglutinabilität der Pestkulturen nicht von ihrer Virulenz abhängt, sondern daß die stärkere oder schwächere zäh-schleimige Beschaffenheit der Kulturen dabei die Hauptrolle spielt.

9. Prüfung des Drüsenpestimmunserums auf seinen Schutzwert gegen Lungenpestbacillen.

I. Versuche mit Mäusen.

Je $\frac{1}{10000}$ Oese der Kultur No. 1 wurde mit 0,1 bzw. mit 0,05 ccm Drüsenpestimmunserum gemischt, unter Zusatz von 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 0,4 ccm gebracht und Tieren von 10—14 g Körpergewicht subkutan eingepft.

Tabelle XIII.

| Menge der Kultur in Oesen | Menge des Serums in ccm | Ergebnis |
|---------------------------|-------------------------|--------------------|
| $\frac{1}{10000}$ | 0,1 | † nach 5 Tagen |
| „ | 0,05 | † nach 5 Tagen |
| „ | 0 | † am nächsten Tage |

Das Drüsenpestserum scheint danach auch eine gewisse, wenn auch nur geringe Schutzkraft gegen Lungenpestbacillen zu besitzen.

II. Versuche mit Meerschweinchen.

Tabelle XIV.

a) Das Serum wurde den Tieren 3 Stunden vor der Impfung subkutan injiziert. Die Impfung erfolgte ebenfalls subkutan mit $\frac{1}{10000}$ Oese Kultur No. 1.

| Menge der Kultur in Oesen | Menge des Serums in ccm | Ergebnis |
|---------------------------|-------------------------|--|
| $\frac{1}{10000}$ | 2 | † nach 9 Tagen; die Impfstelle heftig hämorrhagisch entzündet, Knotenbildung an Milz und Leber reichlich vorhanden. |
| „ | 3 | † nach 12 Tagen. Derselbe Obduktionsbefund. |
| „ | 5 | lebt bis nach 27 Tagen. |
| „ | 0 | † nach 4 Tagen. Hämorrhagische Entzündung der Impfstelle. Anschwellungen der Leistendrüsen, Knotenbildung in der Milz. |

Tabelle XV.

b) Das Serum wurde den Tieren 3 Stunden nach der subkutanen Impfung mit $\frac{1}{10000}$ Oese Kultur No. 1 subkutan injiziert.

| Menge der Kultur in Oesen | Menge des Serums in ccm | Ergebnis |
|---------------------------|-------------------------|---|
| $\frac{1}{10000}$ | 2 | † nach 13 Tagen. Hochgradige blutige Entzündung der Impfstelle, Knotenbildung an Leber und Milz. |
| „ | 3 | † nach 12 Tagen. Dieselben pathologischen Veränderungen. |
| „ | 5 | † nach 12 Tagen. Impfstelle vereitert. |
| „ | 0 | † nach 3 Tagen. Hämorrhagische Entzündung der Impfstelle, Anschwellung der Milz und der regionären Leistendrüsen. |

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß das Serum nicht nur eine gewisse Schutzkraft besitzt, sondern auch im Heilversuch eine Verlängerung des Lebens bewirkte, die Tiere aber nicht von dem Tode zu retten vermochte.

10. Epidemiologische Betrachtungen.

Daß die Massenwanderungen und das enge Zusammenwohnen der chinesischen ländlichen Arbeiter, wodurch die direkte Uebertragung des Virus von Mensch zu Mensch außerordentlich begünstigt wurde, bei der rapiden Verbreitung der Seuche die Hauptrolle spielten, ist eine allgemein anerkannte Tatsache. Unaufgeklärt blieb es aber in gewissem Grade, wie die einmal so entsetzlich weit ausgedehnte Epidemie ziemlich plötzlich an allen verseuchten Stellen zu gleicher Zeit zum Verschwinden kam. Dabei müssen viele komplizierte Faktoren zusammengewirkt haben. Ich führe hier einige der meines Erachtens in Betracht kommenden Umstände an:

- 1) Erfolgreiche Wirkung der Pestbekämpfungsmaßnahmen.
- 2) Virulenzabnahme des Keimes.
- 3) Individuelle Prophylaxe.

- 4) Abnahme des Proletariats durch Auswanderung und Absterben.
5) Meteorologische Einflüsse.

In den von japanischen Beamten verwalteten Gegenden wurde allerdings die rasche Abnahme der Seuche wohl in erster Linie durch die streng durchgeführte Pestbekämpfung erzielt, wenn man aber zugleich die Tatsache ins Auge faßt, daß die Pest auch in jenen Gegenden, wo keine rationelle Bekämpfung durchgeführt war, annähernd zur selben Zeit zum Erlöschen kam, so darf man das Verschwinden der Seuche nicht ausschließlich als Erfolg der Pestbekämpfung auffassen. Der zweite Faktor dürfte weniger in Betracht kommen. Eine Abnahme der Virulenz der Pestbacillen, war wenigstens bei Tierversuchen keineswegs wahrzunehmen.

Zu den Versuchen wurden abgestufte Mengen 2-tägiger Agarkulturen von Peststämmen, welche in verschiedenen Stadien der Epidemie gewonnen waren, Mäusen von 13 g Körpergewicht subkutan injiziert.

Tabelle XVI.

| Menge der Kultur in Oesen | Art der Kultur | | |
|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | No. a | No. b | No. c |
| $\frac{1}{1000000}$ | † am nächsten Tage | † am nächsten Tage | † am nächsten Tage |
| $\frac{1}{10000000}$ | † nach 2 Tagen | † nach 2 Tagen | † nach 2 Tagen |
| $\frac{1}{100000000}$ | † " 5 " | † " 4 " | † " 5 " |
| $\frac{1}{1000000000}$ | † " 7 " | † " 6 " | † " 5 " |

Bemerkungen: Kultur No. a wurde in Charbin am 8. Januar, d. h. im Anfangsstadium der Epidemie, gewonnen. Kultur No. b wurde in Mukden am 10. Februar, d. h. auf dem Höhepunkt der Epidemie, gewonnen. Kultur No. c wurde in Tafangshan am 20. April, d. h. am Ende der Epidemie, von einem Lungenpestkranken gewonnen, der von Chefoo über das Meer nach Tafangshan gekommen war.

Hieraus geht hervor, daß das Virus während der ganzen Dauer der Epidemie nichts in seiner Virulenz eingebüßt hatte.

Die Schwere der sich unaufhaltsam ausbreitenden Seuche veranlaßte endlich auch die unzivilisierten Chinesen, die für den Selbstschutz vor der Ansteckung erforderlichen Vorsichtsmaßregeln zu beachten. Dieser Umstand dürfte wesentlich mit zur Abnahme der Krankheit beigetragen haben.

Auch die Verminderung der Bevölkerung der verseuchten Orte, z. B. von Fudjadan und Changchun infolge der gehäuften Todesfälle und des zahlreichen Wegzuges, war wohl auf den Rückgang der Seuche von Einfluß.

Alle diese Momente genügen für sich allein jedoch noch nicht, das plötzliche Erlöschen der Epidemie ausreichend zu erklären. Es ist vielmehr anzunehmen, daß das Erlöschen der Epidemie in erster Linie doch auf meteorologische Einflüsse zurückzuführen ist. So wird neben der Abnahme und der geringeren Dichtigkeit der Bevölkerung namentlich der mit dem Herannahen der wärmeren Jahreszeit zunehmenden Kraft der Sonnenbestrahlung und der dadurch bedingten Austrocknung und besseren Ventilation der Wohnräume, sowie der nun auch erhöhten Widerstandsfähigkeit der Atmungsorgane der hauptsächlichste Anteil an dem Zurückdrängen der Pest zuerkannt werden müssen.

Man kann mit Sicherheit sagen, daß die klimatischen Einflüsse, die getroffenen Pestbekämpfungsmaßnahmen, die Durchführung der individuellen Prophylaxe und die Abnahme des Proletariats miteinander zusammenwirkend das plötzliche Verschwinden der Seuche hervorriefen. Die Ursache für diese Erscheinung wird also, wie nochmals besonders hervorgehoben sei, nicht etwa in einer Virulenzänderung, einer Virulenzabnahme

des Pestkeims, sondern hauptsächlich in meteorologischen Einflüssen gesucht werden müssen.

In epidemiologischer Hinsicht ist es von großer Bedeutung, daß die Ratten während der letzten Epidemie ganz von der Erkrankung verschont blieben. Diese Beobachtung erklärt sich wohl deutlich dadurch, daß die Ratten in der kalten Jahreszeit entweder überhaupt fehlten oder, wo sie vorkamen, außerordentlich scheu waren und die Nähe der Menschen vermieden, so daß kaum Gelegenheit zu einer direkten Ansteckung vom Menschen gegeben war. Außerdem muß noch eine andere Tatsache, die ich experimentell bestätigte, in Betracht gezogen werden, nämlich daß die mit unversehrtem Fell bekleideten Ratten selbst wenn sie lange Zeit in einem mit Virus beschmutzten Käfig gehalten wurden, immer gesund blieben. Auch absichtlich verletzte Ratten waren, wenn die Wunden nicht an den mit Beschmutzung fortwährend in Kontakt kommenden Körperteilen, wie Fußsohlen und Bauch saßen, relativ schwer ansteckbar, und ebenso konnte durch Verfütterung, wenn nicht sehr große Bacillennengen dargereicht wurden, die Erkrankung bei Ratten nicht leicht hervorgerufen werden.

Zum Schlusse noch einige Worte über das fast völlige Fehlen von Drüsenpestfällen bei der letzten Epidemie. Die Tatsache, daß während dieser Epidemie, trotzdem die Viruskeime dabei sicher eine weitere Verbreitung als zur Zeit der Drüsenpest erfahren haben und damit zusammenhängend auch häufiger mit dem Menschenkörper in Berührung gekommen sein müssen, dennoch Hautinfektionen nur äußerst selten vorgekommen sind, erscheint zunächst auffallend. Nach den sorgfältigen Untersuchungen in Indien ist es aber bekannt, daß bei den dort beobachteten Drüsenpestepidemien Flöhe bei der Uebertragung der Pestbacillen auf den Menschen und bei dessen Infektion eine wichtige Rolle spielen. Zieht man nun das völlige Fehlen einer Rattenepizootie in Betracht, sowie ferner die Tatsache, daß in den Wintermonaten auf Menschen und Ratten nur selten Flöhe gefunden werden, was ich durch genaue Untersuchungen an einer großen Zahl gefangener Ratten konstatierte, so könnte man in diesen Momenten vielleicht eine Erklärung für das so äußerst seltene Auftreten der Drüsenpest bei der letzten Epidemie finden.

Schlußfolgerungen.

Fassen wir die bisher erwähnten Betrachtungen zusammen, so ergibt sich etwa folgendes:

1) Die bei der Epidemie 1910 in der Mandschurei gewonnenen Lungenpestbacillen verhalten sich kulturell und morphologisch ganz gleich wie die Drüsenpestbacillen.

2) Die letalen Dosen der Lungenpestbacillen gegen Tiere waren, wie folgt:

$\frac{1}{1000000}$ Oese gegen weiße Ratten, Wanderratten und Ziesel.

$\frac{1}{1000000000}$ Oese gegen Mäuse.

$\frac{1}{100000}$ Oese gegen Tarbagan.

3) Eine Oese Lungenpestbacillenkultur genügte, Hunde in etwa 10 Tagen unter stetiger Abmagerung abzutöten. Die pathologischen Veränderungen waren bei den durch Lungenimpfung infizierten Tieren am stärksten und charakteristischsten ausgesprochen.

4) Tauben sind gegen Pest immun.

5) Bei Meerschweinchen, Ratten und Zieseln konnte die Erkrankung auch durch kutane Impfung oder durch Verfütterung des Virus hervorgerufen werden.

6) Anscheinend sind die Pestbacillen nicht imstande, sezernierte Toxine zu bilden. Die Virulenz der Pestbacillen steht in keinem Zusammenhang mit ihrem Endotoxingehalt.

7) Wurde das Sputum von Pestpneumonikern in ganz dünner Schicht direkter Sonnenbelichtung ausgesetzt, so gingen die Bacillen innerhalb 4 Stunden vollständig zugrunde.

8) Dagegen erwiesen sich Pestbacillen, welche im Winter in der Gegend von Charbin in gefrorenem Auswurf bei -4 bis -22° C 10 Stunden diffusem Tageslicht ausgesetzt waren, nach dieser Zeit noch lebensfähig.

9) Betreffs der Widerstandsfähigkeit gegen Desinfektionsmittel — Phenol, Lysol und Sublimat — verhalten sich die Lungenpestbacillen in gleicher Weise wie die Drüsenpestbacillen.

10) Die Agglutinabilität der Pestbacillen ist nicht von ihrer Virulenz, sondern von der stärkeren oder schwächeren zäh-schleimigen Beschaffenheit der Kultur abhängig.

11) Im Tierversuch kommt dem Pestserum auch Lungenpestbacillen gegenüber eine gewisse Schutz- und eine geringe Heilwirkung zu, es vermochte aber infizierte Tiere vor dem Tode nicht zu retten.

12) Pestepizootieen wurden unter Haustieren, nicht aber unter Ratten gefunden.

13) Die Massenwanderungen und das enge Zusammenwohnen der Proletarier in der kalten Jahreszeit spielten mit einer Hauptrolle bei der rapiden Verbreitung der Seuche.

14) Die Uebertragung der Viruskeime erfolgte ausschließlich direkt von Mensch zu Mensch. Infektionen durch von den Kranken beschmutzte Gegenstände wurden nicht beobachtet. Tierepizootieen kamen für die rasche Verbreitung der Seuche unter den Menschen ebenfalls nicht in Betracht.

15) Das plötzliche Erlöschen der Epidemie ist anscheinend in erster Linie auf meteorologische Einflüsse zurückzuführen, daneben haben aber auch die Pestbekämpfungsmaßnahmen, die Einhaltung individueller Prophylaxe und die Abnahme der Bevölkerung durch Tod und Abwanderung das Zurückdrängen der Epidemie begünstigt.

16) Außer einem Falle von Drüsenpest wurde in der letzten Epidemie keine kutane Infektion beobachtet.

17) Die Tatsache, daß bei dieser Epidemie eine Rattenepizootie nicht beobachtet wurde und der Umstand, daß in der kalten Jahreszeit auf Menschen und nur sehr alten Ratten Flöhe gefunden wurden, geben vielleicht eine Erklärung dafür, weshalb bei diesem Seuchengange Drüsenpestfälle nicht weiter vorkamen.

Mai 1911.

Literatur.

- 1) Deutsche Pestkommission aus Bombay. (Deutsche med. Wochenschr. 1897.) — Schilling, Ueber Pestpneumonie. (München. med. Wochenschr. 1898.) — Gottschlich, Die Pestepidemie in Alexandrien im Jahre 1899. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35.) — Kitasato, Saikingaku-Zasshi. (Zeitschr. f. Bakt. in Tokyo 1901.)
- 2) Tartakowsky, Zur Pestepidemie in Kolobowka. (Ref. Baumgartens Jahresbericht. Bd. 16. 1900.)
- 3) Rudenko, Die Pest der Tarbaganen. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901.) — Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle und Wassermann. Bd. 2. p. 533. — Favre, Ueber eine pestähnliche Krankheit. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30.) Skschivan, Unsere Kenntnisse über die Tarbaganenpest. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 30.) — Zabolotny, La peste en Mongolie orientale. (Ref. Baumgartens Jahresber. Bd. 15. 1899.)
- 4) Yersin, Calmette et Borrel, La peste bubonique. II. (Ref. Hyg. Rundsch. 1895.)
- 5) Hata, Saikingaku-Zasshi. 1901.
- 6) Wernicke, Ueber Immunisierungsversuche bei der Bubonenpest. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37. 1901.)
- 7) Albrecht und Ghon, Ueber die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897. (Ref. Baumgartens Jahresber. Bd. 16. 1900.)
- 8) Markl, Beiträge zur Kenntnis der Pesttoxine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 24. 1908); Weitere Untersuchungen über die Pesttoxine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37. 1901); Ueber die Pesttoxine und die Gewinnung von antitoxischem Pestserum. (Wiener med. Wochenschr. 1900.)
- 9) Segawa, Saikingaku-Zasshi. 1903.
- 10) Shibayama, Ueber die Agglutination des Pestbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Verbreitung der pestbacillenhaltigen Tröpfchen beim Husten der Pestpneumoniker und einige Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Pestbacillen in dem Sputum.

Von **Hidezo Toyoda**, Dairen und **Tokuro Yasuda**, Port Arthur.

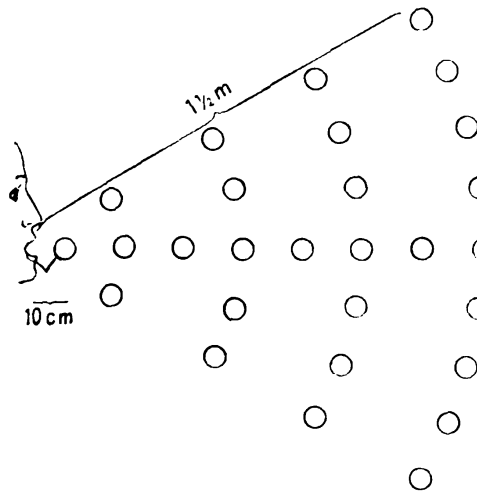
Mit 1 Figur.

Flügge (1) hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß die Inhalation der feinsten tuberkelbacillenhaltigen Tröpfchen, die beim Husten, Niesen, Sprechen etc. des Phthisikers entstehen, bei der Verbreitung der Lungentuberkulose eine große Rolle spielen. Heymann (2), Lastschenko (3), Königer (4), Möller (5), B. Fränkel (6) und Weissmayr (7) haben dann, jeder durch besondere Methoden, den Beweis für obige Behauptung erbracht. Danach ist erwiesen, daß beim Husten der Patient bis auf eine Entfernung von einem halben oder einem Meter eine Infektionsgefahr bildet. Die Lungenpest pflanzt sich ohne Zweifel durch die Tröpfcheninfektion von Mensch zu Mensch fort; das Pestpneumoniesputum ist sehr dünn und deshalb zur Bildung von feinsten Tröpfchen besonders befähigt. Auf experimentellem Wege hat man bis jetzt den Nachweis für die Verbreitung des Infektionsstoffes durch Tröpfchen beim Husten der Pestpneumoniker noch nicht erbracht. Da die Pestbacillen für Versuchstiere stark virulent sind und sich auch ziemlich leicht kultivieren lassen, ist dieser Versuch leicht auszuführen. Bei Gelegenheit der Lungenpestepidemie in der Mandschurei haben wir mit den folgenden Methoden den Nachweis erbracht.

1) Nachweis der Tröpfcheninfektion durch den Kulturversuch.

Wir ließen die Patienten die Seitenlage einnehmen, dann hielten wir in gleicher Höhe mit dem Bett ein großes Brett, auf dem 28 Petri-Schalen mit Nähragar in bestimmten Entfernungen in der Weise aufgestellt waren, wie es folgende Figur zeigt.

Die Spitze des Dreiecks war dem Mund des Kranken zugekehrt. Die nächste Agarplatte war in einer Entfernung von 10 cm, die letzte Reihe von Platten $1\frac{1}{2}$ m von dem Munde des Kranken entfernt aufgestellt. Nachdem wir dann die Deckel von allen Schalen möglichst



schnell weggenommen hatten, ließen wir den Patienten einigemal stark husten. Sobald das Husten beendet war, wurden die Schalen mit den Deckeln wieder bedeckt und in den Brutofen bei 30° C für 48 bis 72 Std. gestellt. Fanden sich auf den Platten pestähnliche Kolonien, so wurden sie im mikroskopischen Präparat untersucht, Reinkulturen angelegt und Tierversuche ausgeführt.

Auf diese Weise haben wir den Nachweis von der Verbreitung der Tröpfchen beim Husten der Pestpneumoniker zweimal erbracht. Der erste Versuch ergab als Resultat, daß Pestkolonien in 3 Platten gefunden wurden, von denen je eine in einer Entfernung von 10 cm, 30 cm und 70 cm von dem Munde des Pestpneumonikers entfernt aufgestellt waren. Beim zweiten Versuch fanden sich Pestkolonien in 4 Platten, von denen je eine 30 cm, 50 cm, 70 cm und 110 cm entfernt standen.

Bei genauerer Betrachtung der Platten ergab sich im allgemeinen folgendes: Je näher die Platten dem Munde des Kranken stehen, desto mehr Pestkolonien sind in ihnen anzutreffen. Jedoch entwickeln sich höchstens 5—7 Pestkolonien in einer der zunächst stehenden Platten, während in den Platten, die sich in größerer Entfernung befinden, nur 1—2 Pestkolonien in je einer Platte vorkommen.

2) Versuch, die Tröpfcheninfektion durch den Meerschweinchenversuch nachzuweisen.

Wir unternahmen es, das Verbreitungsgebiet der pestbacillenhaltigen Tröpfchen beim Husten der Pestpneumoniker auch durch den Tierversuch nachzuweisen, wie Heymann es schon bei Lungenphthise gemacht hatte. Zu diesem Zweck setzten wir 6 Meerschweinchen — je 2 in drei Drahtkörben — in einer Entfernung von 30 cm, 1 m und $1\frac{1}{2}$ m vor das Gesicht des sich in Seitenlage befindenden Pestpneumonikers, und zwar in gleicher Höhe mit dem Bett. Die Tiere blieben 12 Stunden stehen, dann wurden sie in das Laboratorium gebracht und 3 Wochen lang auf ihren Gesundheitszustand untersucht. Sie sind von der Infektion ganz frei geblieben. Der Grund hierfür ist vielleicht darin zu suchen, daß die Meerschweinchen nicht immer genau in der Richtung vor dem Kranken gestanden haben, daß die pestbacillenhaltigen Tröpfchen auch wirklich den Tieren ins Gesicht gehustet wurden. Eine genauere Prüfung

bleibt uns jedoch noch vorbehalten. Wir beabsichtigten, diese Untersuchung zu wiederholen, doch haben wir keine Gelegenheit mehr dazu gehabt.

Die Resistenz der Pestbacillen im Sputum gegen äußere Einwirkungen.

Diese Untersuchung ist in bezug auf die Epidemiologie und die Bekämpfung der Pest sehr wichtig. Die Deutsche Pestkommission (8) gibt an, daß die Pestbacillen im Sputum gewöhnlich nach 7 Tagen, bisweilen auch schon früher, nach 3—5 Tagen, zugrunde gehen, wenn man das Sputum der Pestpneumoniker an verschiedenen Gegenständen austreibt und antrocknet, ferner daß die Pestbacillen im Sputum innerhalb der gleichen Zeit zugrunde gehen, wenn man sie direkt dem Sonnenlicht aussetzt. Gotschlich (9) berichtet, daß trockenes Sputum der Pestpneumoniker nach 1 Monat noch seine Ansteckungsfähigkeit bewahrt hatte. Wir haben den Auswurf der Pestpneumoniker, der massenhaft Pestbacillen enthielt, an einem Stückchen eines groben Hanfsackes, dessen man sich zum Aufbewahren von Bohnen bedient, und ferner an einem Stückchen Sojabohnenkuchen, an Erde und an Deckgläsern ausgestrichen, antrocknen lassen und dem direkten Sonnenlicht, dem zerstreuten Tageslicht hinter dem Haus oder im Zimmer ausgesetzt. Danach wurden von Zeit zu Zeit durch Tierversuche die Pestbacillen auf ihre Virulenz geprüft. Zu diesem Zweck wurden vom Hanfsack und vom Sojabohnenkuchen Stückchen von ungefähr 5 qcm geschnitten und in der Mitte der Stückchen auf einer Fläche von einem Zweipfennigstück das Sputum ausgestrichen. Dann wurde jede dieser Flächen in 3 Stücke geschnitten und je eines dieser 3 Stückchen dem direkten Sonnenlicht, dem zerstreuten Tageslicht hinter dem Haus und dem zerstreuten Tageslicht im Zimmer ausgesetzt. Die Untersuchung mit dem Erdklumpen wurde ganz auf dieselbe Weise ausgeführt, die Pestbacillen wurden jedoch nur dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt. Dann wurde je eine kleine Portion von jedem Stückchen, auf dem das Sputum vorher ausgestrichen war, abgeschnitten, in eine kleine Menge Nährbouillon eingetaucht, mit der Spitze eines Messers in winzige Stückchen zerteilt und umgerührt. Mit der Flüssigkeit wurden Mäuse subkutan geimpft. Nach ihrem Tode wurden sie sezirt und zuerst mikroskopisch, dann bakteriologisch genau untersucht. Das Ergebnis dieses Versuches, der vom 30. März bis zum 2. April in Mukden (Süd-Mandschurei) ausgeführt wurde, zeigt folgende Tabelle (Tab. s. p. 152).

Bei der Ungleichheit der Lufttemperatur, der Stärke des Sonnenlichtes, dem Trockenheitsgrad der Luft und der Menge des Sputums ist es äußerst schwierig, jedesmal ein gleiches Resultat zu erhalten. Wir haben den Versuch jedoch mit fast gleichem Erfolge wiederholt.

Ferner ist von uns die Widerstandsfähigkeit von Pestbacillen, die im Sputum an den Deckgläsern angetrocknet waren, noch untersucht worden. Zu diesem Zwecke wurde auf dem Deckgläschen Sputum, das massenhaft Pestbacillen enthielt, in ziemlich dicker Schicht ausgestrichen und getrocknet. Dann wurden die Gläser dem direkten Sonnenlicht, bedecktem Himmel, dem zerstreuten Tageslicht hinter dem Haus und im Zimmer ausgesetzt. Nach einer gewissen Zeit wurde je ein Deckgläschen in Bouillon gebracht und 7 Tage lang im Zimmer bei 10° C stehen gelassen. Dann wurden diese Bouillonkulturen Mäusen subkutan injiziert.

Nach ihrem Tode wurden sie sezirt und die bakteriologische Untersuchung gemacht. Das Ergebnis dieses Versuches zeigte, daß die Pest-

| Lufttemperatur | 0 bis -5° C | | | 0 bis -5° C | | +20° C | |
|-----------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|--|-------------------|------------------------------------|-------------------|
| | Direktes Sonnenlicht | | | Zerstreut. Tageslicht hinter dem Haus | | Zerstreut. Tageslicht im Zimmer | |
| Lichtsorten | | | | | | | |
| Stoffarten | Hanfsack | Bohnen- kuchen | Erd- klumpen | Hanfsack | Bohnen- kuchen | Hanfsack | Bohnen- kuchen |
| Dauer der Aus- setzung in Std. | | | | | | | |
| 6 | Virulenz | keine Virulenz | Virulenz | — | — | — | — |
| 14 | keine Virulenz | dgl. | dgl. | Virulenz | Virulenz | Virulenz | Virulenz |
| 20 | dgl. | „ | keine Virulenz | dgl. | keine Virulenz | dgl. | keine Virulenz |
| 30 | „ | „ | dgl. | keine Virulenz | dgl. | — | — |

Anmerkung. Auf 14 bzw. 20 bzw. 30 Stunden direkten Sonnenlichts bzw. zerstreuten Tageslichts kam noch eine Anzahl Schwachlicht- und Nachtstunden, und zwar auf 14 Stunden Belichtung 16, auf 20 Stunden Belichtung 34, auf 30 Stunden Belichtung 48 Schwachlicht- und Nachtstunden.

bacillen bei direktem Sonnenlicht schon innerhalb 2 Stunden abgetötet waren, bei zerstreutem Tageslicht hinter dem Hause und im Zimmer jedoch noch nach 5 Stunden ihre Virulenz behalten hatten und bei trübem Wetter erst nach 6 Stunden zugrunde gegangen waren.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Pestbacillen im Sputum ziemlich schnell zugrunde gehen, ferner daß das Sonnenlicht im März und April in der Süd-Mandschurei eine starke Desinfektionskraft für Pestbacillen besitzt, wie auch die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, die an anderen Orten angestellt worden sind.

Mai 1911.

Literatur.

- 1) Flügge, Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 42.
- 2) Heymann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34.
- 3) Lastschenko, ebenda. Bd. 30.
- 4) Königer, ebenda. Bd. 34.
- 5) Möller, ebenda. Bd. 32.
- 6) Fränkel, B., Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 2.
- 7) Weissmayr, Wien. klln. Wochenschr. 1898. No. 46.
- 8) Deutsche Kommission. (Dtsche med. Wochenschr. 1897.
- 9) Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Mastitisstreptokokken und ihre Differenzierung von saprophytischen Streptokokken.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der Königl. Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart (Vorstand: Prof. Dr. Reinhardt).]

Von Adolf Gminder, Tierarzt (aus Tamm).

Erst seit den letzten Jahren findet die Streptokokkenmastitis der Kühe allgemein auch in der Milchhygiene die ihr schon lange gebührende Beachtung. Wenn ihr seither gerade in sanitärer Hinsicht nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt wurde, so ist das dem Umstand zuzuschreiben, daß man über ihre Aetiologie lange Zeit im Unklaren war. In der Schweiz war die Streptokokkenmastitis schon im Anfang des letzten

Jahrhunderts unter dem Namen „gelber Galt“ bekannt. Dort war sie von jeher am stärksten verbreitet und wurde schon verhältnismäßig früh zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht. In die Entstehung der Euterentzündungen überhaupt brachte ja schon Franck (15) mit seiner Infektionstheorie im Jahre 1876 Aufklärung. Aber erst 1884 fanden Nocard und Mollereau (53) Streptokokken als Ursache einer sehr ansteckenden, seuchenhaften Mastitis. Im Jahre 1888 stellten Hess und Borgeaud (24) ebenfalls Untersuchungen über eine enzootische Euterentzündung an und bestätigten die Funde der beiden Erstgenannten. Von diesem Zeitpunkt an waren auf diesem Gebiete experimentelle Forschungen auf bakteriologischer Basis möglich. Zahlreiche Arbeiten von Adametz (1), Bang (3), de Bruin (9), Guillebeau (19), Gröning (22), Lucet (46), Stark (65), Stäheli (67), Zschokke (72) u. a. lieferten wertvolle Beiträge zur Kenntnis dieser Krankheit, deren allgemeine Verbreitung durch Arbeiten von Trommsdorff (68), Rühm (58), Savage (64), Ernst (13) u. a. festgestellt wurde.

Streptokokkenmastitis im allgemeinen und ihre Diagnose.

Die Streptokokkenmastitis, speziell der „gelbe Galt“, stellt eine eiterige, katarrhalische Erkrankung der Milchdrüse dar.

Hess (24) trennte einen sporadischen, ebenfalls durch Streptokokken hervorgerufenen Galt von einem enzootischen, dem eigentlichen „gelben Galt“, gab aber zur Differenzierung der beiden nur an, daß der erstere mehr sporadisch auftrete, während der letztere ausgesprochenen Seuchencharakter trage.

Guillebeau (19), der spezielle Untersuchungen über den sporadischen und seuchenhaften Galt anstellte, konnte bezüglich der Erreger keine wesentlichen Unterschiede feststellen.

Auf Grund der Symptome und des Verlaufs unterschied man von jeher eine akute und eine chronische Form. Die akute, gutartigere, durch kurze Streptokokken verursacht, führt zur Schwellung des Euters, während die chronische, bei der sich stets lange Streptokokken vorfinden, eine baldige Atrophie des Euters und Knotenbildung zur Folge hat.

Zschokke (72) endlich unterscheidet 3 Formen von Streptokokkenmastitis. Der ersten Form liegt eine Infektion mit kurzen, der 2. mit langgliedrigen und der 3. mit feingliedrigen Streptokokken zugrunde. Die beiden ersten zeigen nach ihm das Krankheitsbild des gelben Galts, während die 3. nur einen leichten, rasch ausheilenden Euterkatarrh darstellt.

In der Schweiz, wo man im Jahre 1895 die Ausbreitung des gelben Galtes systematisch zu bekämpfen begann, unterschied man noch eine heilbare und eine unheilbare Form. In Band 39 des Schweizer Archivs für Tierheilkunde weist Zschokke darauf hin, daß die kurzgliedrigen Streptokokken meist von Leukocyten aufgenommen sind, während die langgliedrigen stets extracellulär liegen. „Diese und andere Beobachtungen“, sagt Zschokke, „lassen es für zutreffend erscheinen, daß der kurzgliedrige und enkavierte Streptococcus eine heilbare und der langgliedrige eine unheilbare Form des „gelben Galts“ hervorruft“. Derselbe Forscher hält eine Einteilung in sporadischen und seuchenhaften Galt nicht für richtig, gibt aber im Laufe seiner Ausführungen zu, daß der lange Streptococcus mehr zu Stallseuchen Veranlassung gibt als der kurzgliedrige.

Kitt (34) dagegen akzeptiert keine der angeführten Unterscheidungen, weil es auch zwischen kurzen und langen Streptokokken zahlreiche Mittelformen gibt und alle in Wachstum, Biologie und Pathogenität nur kleine Differenzen zeigen. Man müßte, wie er sagt, eigentlich ebensoviele Galtfälle wie Streptokokkenvarietäten unterscheiden.

In Deutschland unterscheidet man auch höchstens zwischen akuter und chronischer Streptokokkenmastitis und faßt unter dieser Bezeichnung alle Funktionsstörungen des Euters zusammen, die eine vermehrte Leukocytenausscheidung zur Folge haben und in makroskopisch veränderter oder unveränderter Milch Streptokokken erkennen lassen.

Die Veränderungen der Milch überhaupt bieten sehr wichtige Anhaltspunkte bei der Feststellung der Krankheit.

In allen Fällen findet man bei der mikroskopischen Untersuchung der Milch eines erkrankten Euters zahlreiche Leukocyten, die, wenn sich noch gleichzeitig oder erst in Kultur Streptokokken nachweisen lassen, den Verdacht auf Streptokokkenmastitis begründen.

Aber nicht bloß mikroskopisch wird die Milch streptokokkenkranker Tiere verändert, sondern auch makroskopisch und chemisch.

Die makroskopischen Veränderungen der Milch treten bei stürmisch einsetzenden, akuten Euterentzündungen rascher ein, als bei den schleichend verlaufenden, und bestehen in Aenderung der Farbe und Konsistenz. Die Farbe ist bald grau oder gelb, bald bräunlich, rosarot oder orange (nach Kitt und Zschokke) und bekommt durch Kaseingerinnung ein molkenähnliches, flockiges, grüziges Aussehen, sie wird klebrig, schleimig, fadenziehend, später dickflüssig, rahmartig oder serös (Ernst). Steht die Milch dann einige Zeit, so bilden sich meist 2 oder mehrere Schichten. Ueber einem aus Kaseinflocken, Fibrin, Leukocyten und Epithelien bestehenden, grauen, dicklichen Bodensatz liegt eine klare oder trübe, seröse Flüssigkeitsschicht, die nach oben oft mit einer dünnen Rahmschicht abschließt. Auf dem Bodensatz ist manchmal noch eine dünne Schicht roter Blutkörperchen gelagert. Nach Sven Wall (70) gerinnt die Milch manchmal erst beim Kochen, wird dick, gelb, sahnähnlich oder eitrig. Ernst (13) schreibt, daß sich Milchproben aus kranken Eutern oft durch nichts von der gesunden Milch zu unterscheiden scheinen.

Durch die beigemengten Entzündungsprodukte erleidet die Milch, wie schon angedeutet wurde, auch erhebliche Veränderungen in ihrer chemischen Zusammensetzung. Der Milchzucker wird in Milchsäure umgewandelt. Das Eiweiß, die der Zucker und Salze erleiden quantitativ und qualitativ Verschiebungen und der Enzymgehalt der Milch wird ein anderer. Diese chemischen Veränderungen bedingen natürlich auch eine Aenderung des Geschmacks.

Zu den schon geschilderten Veränderungen der Milch kommen dann endlich noch die, welche sie durch Beimengung der Erreger selbst und ihrer Stoffwechselprodukte erfährt. Gerade die Streptokokken und ihre Toxine verleihen der Milch eine direkt gesundheitsschädliche Beschaffenheit. Holst (27), Johannesen (29), Jakobsen (28), Edwards und Severn (12) berichten über verschiedene beim Menschen beobachteten Erkrankungen nach Genuß der Milch streptokokkenkranker Kühe. Lameris und Harrevelt (40) beobachteten sogar nach Genuß gekochter Milch Massendiarrhöe bei Menschen und beschuldigen die in der betreffenden Milch enthaltenen und von Streptokokken stammenden hitzebeständigen Toxine als Ursache hierfür. Petruschky und Kriebel (54) führen die Sommersterblichkeit der Kinder auf streptokokkenhaltige Milch zurück. Auch sonst sind in der Literatur noch zahlreiche Fälle angegeben, wo Erkrankungen auf den Genuß von streptokokkenhaltiger Milch zurückgeführt werden. Aus diesem Grunde wird von der Milchhygiene mit Recht verlangt, daß solche Milch vom Verkehr ausgeschlossen werde. An den Milchhygieniker tritt aber mit dieser Forderung die Aufgabe heran, die Marktmilch auf Beimengung von „Streptokokkenmilch“ zu untersuchen. Auch für den Kliniker ist eine genaue Diagnose prognostisch und therapeutisch insofern wichtig, als er beim Befunde von kurzen oder langen Streptokokken die Gewißheit hat, ob er es mit einem akuten, heilbaren oder chronischen, meist unheilbaren Leiden zu tun hat. Für den Tierarzt ist die Feststellung der Krankheit nicht gerade schwer, wenn er zugleich klinisch und bakteriologisch untersucht. Die klinische Diagnose allein genügt für den Praktiker deshalb nicht, weil das Krankheitsbild manchmal zu wenig ausgeprägt ist und oft zu Verwechslungen mit anderen Mastitiden, namentlich Tuberkulose, Anlaß geben kann. Findet er aber zahlreiche Leukocyten und Streptokokken bei der mikroskopischen Untersuchung der Milch, so ist, wenn diese steril entnommen ist, für ihn das Vorhandensein einer Streptokokkenmastitis mit Sicherheit erwiesen.

Schwieriger war es jederzeit für den Milchhygieniker zu untersuchen, ob der Handelsmilch Sekret von streptokokkenkranken Eutern beigemischt ist; denn neuere Forschungen haben gezeigt, daß fast jede Marktmilch Streptokokken enthält. Ob diese von Entzündungsprozessen im Euter stammen, oder durch Zufall in die Milch gelangt sind und sich dort vermehrt haben, läßt sich nicht leicht bestimmen.

Es sind nun auf Grund vieler Beobachtungen verschiedene indirekte Methoden zur Erkennung der Streptokokkenmastitis von mehreren Forschern angewandt und vorgeschlagen worden. Einige dieser Methoden, die auf die feineren chemischen Veränderungen der kranken Milch Bezug nehmen (Bestimmung des Enzymgehalts der Milch u. dgl.) sind noch zu wenig praktisch erprobt und deshalb nicht so gebräuchlich. Andere, die Leukocytenproben, stützen sich auf die Beobachtung von Bergey (7), wonach eine bestimmte Menge von Leukocyten stets auf das Vorhandensein von pathogenen Streptokokken im Euter hinweisen soll. Bei den Ausstrichmethoden von Stokes (66), Bergey (7), Stewart (66), Slacks (64), bei der Zentrifugierzählmethode von Doane (11) und der Zentrifugiermethode von Trommsdorff (68) wird diese Beobachtung praktisch verwertet. Die letztere Methode ist nach neueren Untersuchungen die einfachste und schnellste. Die Mischmilch der 4 Viertel einer Kuh werden in Röhrcchen mit graduierter Kapillare zentrifugiert. Bei 1 Prom. Bodensatz spricht

Trommsdorff den Verdacht auf Streptokokkenmastitis aus. Alle Leukocytenproben, auch die Trommsdorffsche, sind aber nur Hilfsmittel, die keine sicheren Schlüsse zulassen, und Ernst warnt auch vor kritikloser Anwendung dieser Methode. Nach ihm spricht der Bodensatz zwar für den Verdacht einer Streptokokkenmastitis, aber eine sichere Diagnose darf erst beim Nachweis des Erregers gestellt werden. Der Nachweis eines vermehrten Leukocytengehalts ist namentlich in der stark verdünnten Sammelmilch oft nicht leicht. Auch darf man auf Grund des Leukocytenbefundes allein nicht ohne weiteres das Bestehen einer Mastitis annehmen, denn die Leukocytenzahl schwankt bei verschiedenen physiologischen Zuständen des Euters innerhalb weiter Grenzen. Nach Futterwechsel und zu Beginn der Laktationsperiode oder während der Brunst der Tiere weist die Milch meist einen größeren Leukocytengehalt auf.

Ebenso falsch wäre es, auf Grund des bakteriologischen Befundes allein Schlüsse zu ziehen; denn bisher konnten zwischen den Mastitisstreptokokken und den in der Marktmilch fast stets zahlreich vorkommenden, saprophytischen Streptokokken keine wesentlichen morphologischen oder biologischen Unterschiede gefunden werden.

Erst in neuester Zeit sind von Ernst (13) morphologische Merkmale zur Unterscheidung von saprophytischen und pathogenen Streptokokken in der Milch herangezogen worden. Er schreibt: „In bestimmten morphologischen Merkmalen, z. B. Querstellung der Teilglieder, kapselähnlicher Umhüllung und anderem, haben wir ein Mittel, aus dem Euter stammende Streptokokken von nachträglich in die Milch gelangten zu unterscheiden.“ Nicht immer lassen sich aber in der Mastitismilch die Erreger durch die bakterioskopische Untersuchung allein, sondern in vielen Fällen erst in der Kultur nachweisen. Es wäre daher für die hygienische Milchuntersuchung von großer Bedeutung, wenn kulturelle Unterschiede eine Trennung von pathogenen und saprophytischen Streptokokken zulassen würden.

Unter diesen Gesichtspunkten machte ich es mir in der vorliegenden Arbeit zur Aufgabe, Form, Wachstum, Biologie und Pathogenität verschiedener Mastitisstreptokokken und anderer pathogenen und saprophytischen Streptokokken zu untersuchen, um zu sehen, ob es dabei gelingt, an der Hand eines reichen Materials und unter Anwendung neuerer Kulturmethoden, wie Züchtung auf Blutnährböden, Unterschiede herauszufinden, die eine scharfe Trennung der pathogenen Milchstreptokokken von anderen, namentlich saprophytischen Streptokokken ermöglichen.

Die Streptokokken und ihre Differenzierung.

Mit wenig Erfolg versuchte man bisher eine Differenzierung der Streptokokken zu treffen. Nachdem Ogston (43) als erster die Kettenbakterien der Eiterung beschrieben hatte, gelang es im Jahre 1883 zuerst Fehleisen (43), den *Streptococcus erysipelatis* und 1884 Rosenbach (43), den *Streptococcus pyogenes* in Reinkultur zu züchten. Als dann durch spätere Arbeiten auf die Beteiligung der Streptokokken an den verschiedensten Krankheiten der Menschen und Tiere hingewiesen wurde, suchten viele Forscher die Frage der Artgleichheit bzw. Artverschiedenheit der Streptokokken zu beantworten. Im Anfang, als sich die Autoren fast ausschließlich mit pathogenen Streptokokken beschäftigten, war man bestrebt, eine Einteilung derselben nach den von ihnen erzeugten Krankheiten herbeizuführen. Zu diesem Zwecke wurden hauptsächlich Impfversuche an verschiedenen Tieren angestellt.

Koch und Petruschky (35), die durch Verimpfung von Eiterstreptokokken beim Menschen Erysipel erzeugen konnten, verneinen eine Artverschiedenheit der menschenpathogenen Streptokokken. Kirchner, Biondi (33) und zahlreiche andere Forscher teilen dieselbe Ansicht.

Schütz (39) dagegen räumt auf Grund seiner Impfversuche dem von ihm entdeckten *Strept. equi* eine Sonderstellung unter den anderen Streptokokken ein. Lignières (42) hält den *Drusestreptococcus* für identisch mit dem Schützschen *Brusteuchecoccus*, und Capelletti und Vivaldi (10) halten ihn für den *Strept. pyogenes*. Die Arbeiten von Sand, Jensen, Zschokke, Rabe, Joly, Leclairche, Letard, Bigoteau u. a. (zit. nach Günther) lehren auch, daß der *Drusestreptococcus* mannigfache Krankheitsbilder bedingen kann (nach Kitt). Nach Bernbach, Jensen, Bang (zit. nach Kitt) kann durch drusekranke Saugfohlen auch eine Infektion des Euters, eine Mastitis bei der Stute (künstlich auch beim Rinde) mit *Drusestreptokokken* erfolgen.

Bei allen diesen Differenzierungsversuchen, die, wie schon erwähnt, vorwiegend den pathogenen Streptokokken galten, wurde also das Hauptgewicht auf die von diesen erzeugten verschiedenen Krankheitsformen gelegt. Später, als auch im gesunden Menschen- und Tierkörper Streptokokken gefunden und durch viele Untersuchungen die allgemeine Verbreitung derselben festgestellt wurde, begann man nicht nur die pathogenen Streptokokken unter sich, sondern auch die pathogenen von den saprophytischen zu trennen. Die Verbesserungen der bakteriologischen Methoden lenkten

zudem die ganze Streptokokkenforschung in ganz andere Bahnen. Zur Differenzierung wurde jetzt das Wachstum und das Verhalten der Streptokokken auf verschiedenen Nährböden vom morphologischen und biologischen Gesichtspunkte aus genauer studiert.

Lingelsheim (43), Kurth (38) Behring (5) und Knorr (37) sprachen sich für die Artverschiedenheit der Streptokokken aus und sahen im Bouillonwachstum ein wichtiges Unterscheidungsmittel für dieselben. Kurth (38) und Pasquale (55) wiesen namentlich auf das Aussehen der Bouillonkultur und auf die Art des Bodensatzes hin. Lingelsheim und Behring unterscheiden zwischen kurzen und langen Streptokokken. Nach den genannten Autoren spielt der Strept. brevis in der Menschenpathologie gar keine oder nur eine unwichtige Rolle, während der Strept. longus an vielen schweren Krankheitsprozessen beteiligt ist.

Viele suchten bei der Differenzierung der Streptokokken weniger nach morphologischen, als nach biologischen Unterschieden derselben.

Gordon (18), der viele Stämme auf Reduktion, Säurebildung, Milchgerinnung, Vergärung und Gelatineverflüssigung untersuchte, erblickte in dem Verhalten verschiedenen Nährböden gegenüber ein Mittel zur Unterscheidung der Streptokokken.

Von anderen wurden ähnliche Untersuchungen gemacht, wozu die verschiedensten Nährböden benutzt wurden. So wendete E. Fränkel (16) den zur Unterscheidung von Paratyphus- und Coli-Bakterien vielbenützten Drigalski-Nährböden an, und fand diesen besonders geeignet zur Differenzierung der Streptokokken.

Alle diese Untersuchungen führten jedoch nicht zu gleichen Ergebnissen. Der Grund hierfür mag wohl in der verschiedenen Zusammensetzung der Nährboden und in den verschiedenen Züchtungsverfahren zu suchen sein.

In den letzten Jahren erst glaubte man, nun endlich ein absolut sicheres Mittel zur Unterscheidung der Streptokokken überhaupt und zur Trennung von pathogenen und saprophytischen Arten gefunden zu haben. Es war dies die von Schottmüller (62) empfohlene Züchtung auf Blutnährböden.

Lenhartz (41) und Schottmüller (62) beobachteten zuerst, daß das Verhalten der Streptokokken Blutnährböden gegenüber ein verschiedenes ist, und Schottmüller teilte danach die Streptokokken in 3 Gruppen ein:

- 1) Streptococcus longus pathogenes s. erysipelatos.
- 2) Streptococcus mitior s. viridans.
- 3) Streptococcus mucosus.

Die erste Art wird besonders bei schweren Streptokokkeninfektionen des Menschen gefunden. Der Strept. longus erzeugt Hämolyse und bildet dadurch auf Blutnährböden in der Umgebung seiner Kolonien einen breiten hellen Hof. Blutbouillon nimmt durch sein Wachstum eine burgunderrote Färbung an. Für Tiere ist er stets pathogen.

Der Strept. mitior s. viridans erzeugt Krankheiten von milderem Verlauf und bildet kein Hämolyse, verwandelt aber den Blutfarbstoff um seine Kolonien herum in ein grünes Pigment. Helle Höfe werden selten beobachtet und sind dann ganz schmal. Die Blutbouillon wird leicht braun gefärbt. Für Tiere ist er nicht pathogen.

Der Strept. mucosus bildet Schleim und wächst auf Blutagar in graugrünen Kolonien.

Morphologisch weist der Strept. longus pathogenes und der Strept. mitior keine Unterschiede auf. Schottmüller fand aber, daß das Wachstum der beiden nicht nur in Blutbouillon und auf Blutagar, sondern auch auf anderen Nährmedien voneinander abweicht. Bouillon soll durch den Strept. mitior im allgemeinen diffus getrübt werden, während sie beim Strept. erysipelatos klar bleibt. Während der Strept. erysipelatos Milch meist nicht zum Gerinnen bringt, führt der Strept. mitior gewöhnlich eine Koagulation nach 1—3 Tagen herbei.

Fast bei allen Untersuchungen mit Blutnährböden wurden die Resultate mit der Nichtpathogenität oder Pathogenität der Streptokokken in Beziehung gebracht.

Auch Schottmüller hat die Ergebnisse seiner Züchtungsversuche mit dem Virulenzgrade der Streptokokken verglichen und gefunden, daß mit der Hämolysebildung eine erhöhte Virulenz parallel geht.

Im Laufe der letzten Jahre wurden die Angaben Schottmüllers von vielen Forschern nachgeprüft, und in zahlreichen Arbeiten kamen diese zu oft ganz widersprechenden Resultaten.

E. Fränkel (16) und Schulze (60) bestätigten die Befunde Schottmüllers und stimmen der Einteilung in 3 Arten zu.

Baumann (4) und Nieter (52) fanden bei den von ihnen gezüchteten nicht-pathogenen Streptokokken keinen oder nur einen undeutlichen Resorptionshof. Die beiden unterschieden mittels Blutagarplatte pathogene und saprophytische Streptokokken voneinander.

Nach Beitzke und Rosenthal (6) ist die Hämolyse eine variable Eigenschaft und höchstens zur Differenzierung der Strepto- und Pneumokokken geeignet.

Auch Hoessli (26) konnte hämolytische in nichthämolytische Stämme umzüchten. Rieke (57) gelang die Unterscheidung durch die Schottmüllersche Methode nicht. Zangemeister (71) untersuchte eingehend die Hämolysebildung sowie die Beziehungen zwischen Hämolyse zu den verschiedenen Blutarten und zwischen Hämolyse und Virulenz. Er fand wie Lüdke und Polano (45), daß die Virulenz zwar nicht parallel mit der Hämolyse geht, daß sich aber unter den hämolytischen Streptokokken tier- und voraussichtlich menschenvirulente häufiger finden, als unter den nicht-hämolytischen.

Aus dem Vergleich der verschiedenen Untersuchungen über die Hämolyse scheint hervorzugehen, daß die Methode Schottmüllers bei vorsichtiger Anwendung zur Unterscheidung von hämolytischen und nichthämolytischen Streptokokken geeignet ist.

Außer den angeführten Differenzierungsmethoden wurde auch des öfteren die Agglutination angewandt. Ueber die Brauchbarkeit dieser Methode sind die Ansichten noch geteilt. Viele bezeichnen sie jedoch für ungeeignet zur Unterscheidung der Streptokokken.

Von den Arbeiten, die sich speziell mit den Mastitisstreptokokken und ihrer Differenzierung befaßten, seien außer den schon angeführten noch die Arbeiten von Gröning, Stäheli u. a. genannt.

Gröning (22) stellte Vergleiche zwischen Streptokokken des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens an. Er teilte die Streptokokken nach ihrem Wachstum in Bouillon morphologisch in kurze und lange. Kulturell konnte er keine durchgreifenden Unterschiede zwischen den kurzen und langen Streptokokken finden. Die Mastitisstreptokokken waren fast alle säurebildend, während kein einziger der saprophytischen Stämme diese Eigenschaft besaß. Ein Drittel der von ihm untersuchten Mastitisstreptokokken tötete Mäuse nach subkutaner Injektion von 1 ccm Serumkultur, dagegen war von sämtlichen saprophytischen Stämmen nur einer Mäusen gegenüber pathogen.

Stäheli (67) untersuchte morphologisch und biologisch den *Str. mastitidis* contag. Nach ihm ist trotz der Formverschiedenheit der Streptokokken eine Art-einteilung derselben nicht zulässig. Als Momente, welche Wachstum und Gestaltung der Gelbaltstreptokokken beeinflussen, bezeichnet er: Qualität des Nährbodens, Temperatur, sowie die vitalen Widerstände der tierischen Zellen.

Nencki (51), Zschokke (72), Heinemann (25) und Kaiser (31) wiesen bei den meisten Mastitisstreptokokken Säurebildung und Milchgerinnung nach.

Sven Wall (70) konnte bei seinen Mastitisstämmen nur geringe Säurebildung und keine Milchkoagulation konstatieren.

Löhnis (44) hält eine absolute Trennung von Milchstreptokokken für unmöglich, da viele Uebergänge von einer Art in die andere vorkommen. Er trennt nach Milchkoagulation und Gasbildung 4 Typen voneinander: 1) *Strept. mastitidis*, 2) *Str. Güntheri*, 3) *Str. Kefir* und 4) *Str. innoc.*

Auch Müller (50) kann keine durchgreifenden Unterschiede der Milchsäurebakterien finden. Nach ihm kann man die Säurebildung der Stämme künstlich steigern oder abschwächen.

Ueber die Hämolyse der Mastitisstreptokokken wurden noch wenig spezielle Untersuchungen angestellt.

Baumann (4) züchtete aus Marktmilch 13 Stämme. Von diesen zeigten 9 gar keine Hämolyse und 4 bildeten nur einen undeutlichen Hof.

Laabs (39) fand bei 3 zum Vergleich mit Drusestreptokokken herangezogenen Mastitisstämmen keine Hämolyse.

Kerner (32) züchtete dagegen einen Stamm, der sehr stark hämolysierte.

Eigene Untersuchungen.

Untersuchungsmethode.

Bei morphologisch untrennbaren und bei nicht oder nur schwach virulenten Mikroorganismen sind wir in der Regel nur imstande, dieselben mit Hilfe von verschiedenen Nährböden zu differenzieren.

Gordon, der seine Stämme auf vielen Nährböden kultivierte, vertrat die Ansicht, daß die Streptokokken nicht eine einzige, sondern viele Arten bilden, die Artverschiedenheiten seien nur deshalb nicht erkannt worden, weil nicht genügend Züchtungsverfahren angewandt worden seien.

Von vielen Forschern wurde, wie schon erwähnt, diese Methode wiederholt benutzt, aber die erhaltenen Resultate gingen sehr weit auseinander. Die Ursache dieser abweichenden Ergebnisse ist wohl darin

zu suchen, daß bei allen Kultivierungsverfahren 2 Momente viel zu wenig berücksichtigt wurden, nämlich die Veränderungen der Streptokokken und ihrer Lebenseigenschaften durch das verschiedene Alter der Stämme und durch äußere Einflüsse. Zu den äußeren Einflüssen rechne ich vor allem die verschiedene Zusammensetzung einzelner Nährböden.

Zangemeister schreibt zwar, daß man sich die Veränderlichkeit der Streptokokken heute noch viel zu groß vorstelle, und daß nach seinen Beobachtungen die einzelnen Stämme mit großer Zähigkeit an ihren Spezialeigenschaften festhalten.

Die Ansicht Zangemeisters ist jedoch nur bis zu einem gewissen Grade richtig, denn die Streptokokken behalten ihre charakteristischen morphologischen und kulturellen Merkmale nur so lange bei, als ihr Wachstum ein gleiches ist. Viele Arbeiten zeigen aber, wie außerordentlich die Intensität des Wachstums und auch die Form, gerade bei den Streptokokken von äußeren Einflüssen abhängig ist. Man weiß z. B., daß bei zu dichter Aussaat des Impfmateri als, oder bei verschiedener Zusammensetzung des Blutagars das Wachstum der Streptokokken direkt und die Hämolyse indirekt beeinträchtigt wird, und daß bei Aenderungen des Alkalitätsgrades der Nährböden (z. B. Bouillon) die Länge der Ketten außerordentlich variiert.

Abweichende Resultate, wie sie die speziellen Untersuchungen über die Mastitisstreptokokken liefern, führe ich in der Hauptsache darauf zurück, daß die Streptokokken meist aus Marktmilch oder aus nicht genügend steril entnommenen Milchproben gezüchtet wurden. Bei solchen Untersuchungen ist dann die Gefahr einer Verwechselung pathogener und saprophytischer Arten eine sehr große.

Unter Berücksichtigung dieser Punkte untersuchte ich pathogene und saprophytische Milchstreptokokken auf etwa bestehende Unterschiede oder gesetzmäßige Wechselbeziehungen zwischen Morphologie, Biologie und Virulenz.

Bei den Untersuchungen achtete ich vor allem auf drei Punkte:

1) Absolut gleiche Beschaffenheit der Nährböden, sowohl quantitativ als qualitativ.

2) Beimpfung dieser Nährböden mit gleichalten, möglichst frisch isolierten, wenig umgezüchteten Stämmen.

3) Züchtung unter absolut gleichen Verhältnissen.

Sämtliche Milchproben habe ich alle selbst unter Beihilfe von 3 Personen und unter aseptischen Kautelen nach der von Seibold (63) empfohlenen Methode entnommen. Zuerst wurde das Euter gut abgewaschen, und dann die Zitze und namentlich die Zitzenmündung mit 60-proz. Alkohol desinfiziert. Hierauf folgte die Entnahme mittels ausgekochter Melkröhrchen und steriler Reagenzgläser. Die ersten Strahlen wurden immer auf den Boden gelassen. Manchmal konnten bei zu dicker Konsistenz der Milch oder bei Verschwellung der Zitzenmündung die Melkröhrchen nicht benutzt werden, in diesem Fall wurde eben dann der Reinigung der Zitze besondere Sorgfalt geschenkt.

Bei der Beschreibung der Herkunft der einzelnen Stämme habe ich auch den klinischen Befund des Euters und die makroskopische Beschaffenheit der Milch berücksichtigt, weil beides zusammen ebenfalls schon zur Diagnose der Streptokokkenmastitis benutzt worden ist.

Zur morphologischen Bestimmung der Mastitisstreptokokken untersuchte ich diese zuerst genau im Sekretausstrich des erkrankten Euters und stellte im Präparat die Größe, Form und Gestalt derselben fest.

Bei jedem einzelnen Fall wurden mehrere, verschieden gefärbte Präparate angefertigt. Im speziellen wurden die Streptokokken auf Gram-Färbung geprüft.

Im ganzen habe ich 36 Stämme untersucht, nämlich 26 Mastitisstreptokokken, 4 saprophytische Milchstreptokokken, worunter 1 *Str. acidilactici* und endlich 1 saprophytischer *Streptococcus* aus dem Speichel eines Pferdes, 3 Stämme von ansteckendem Scheidenkatarrh und zwei menschenpathogene Stämme. Der *Str. acidilactici*, der *Str. pyogenes* (Rosenbach) und der *Str. erysipelatis* (Fehleisen) wurden mir vom Institut zur Verfügung gestellt, während alle übrigen Stämme von mir selbst gezüchtet wurden.

Eine Züchtung saprophytischer Streptokokken aus der Marktmilch hielt ich nicht für zweckmäßig, denn unsere heutigen Methoden gestatten es nicht, pathogene und saprophytische Milchstreptokokken mit absoluter Sicherheit voneinander zu unterscheiden. Um Verwechslungen auszuweichen, versuchte ich deshalb aus der Stallluft, der Jauche und dem Kot Streptokokken zu züchten, von der Annahme ausgehend, daß von da aus am ehesten verunreinigende Keime in die Milch gelangen.

Es gelang mir auch die Reinzüchtung von 3 saprophytischen Stämmen, die sämtlich der Stallluft entstammten.

Diese Stämme gewann ich auf folgende Art: Ich stellte sterilisierte Milch im offenen Reagenzglas mehrere Stunden lang im Stall auf. Hierauf brachte ich sie verschlossen in den Brutschrank und untersuchte sie nach 24 Stunden und züchtete aus dieser Milchkultur, wenn Streptokokken in überwiegender Mehrzahl darin nachweisbar waren, diese durch das Plattenverfahren heraus.

Der 1. Versuch gelang vorzüglich. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank konnten in der Milch Streptokokken in großer Anzahl und fast in Reinkultur nachgewiesen werden.

Die andern Versuche mußten dagegen sehr oft wiederholt werden. Die Bakterienflora der Stallluft ist, wie ich gefunden habe, zu verschiedenen Zeiten oft ganz verschieden. Das eine Mal bekam ich Staphylokokken und das andere Mal Stäbchen fast rein in die Kultur. Die Streptokokken waren, wenn sie nicht in großer Zahl vorhanden waren, aus der Mischkultur sehr schwer herauszuzüchten.

Nachstehend sind alle Stämme näher beschrieben.

Stamm I.

Bei 2, am 12. Jan. eingesandten Euterstücken ergibt die bakterioskopische Untersuchung das Vorhandensein zahlreicher, mittellanger Streptokokken. Außer diesen können noch kurze, dicke Stäbchen, aber nur in geringer Zahl, nachgewiesen werden.

Die Streptokokken sind 30—40-gliedrig. Die einzelnen Körner, die durchweg diplokokkenförmig angeordnet und mit der Breitseite aneinander gelagert sind, zeigen

eine Länge von 0,3—0,4 μ ,
" Breite " 0,8—0,9 μ ,
der kleine Kornabstand beträgt 0,1 μ ,
" große " " 0,2—0,4 μ .

Die Ketten sind geradegestreckt oder leicht geschwungen und sind unbeweglich. Färbung: Gram \pm .

Stamm II

wurde aus Eiter gezüchtet, der bei einer Euteroperation aufgefangen wurde.

Der Eiter ist grangelb und läßt bei der bakterioskopischen Untersuchung mittel lange, gestreckte Streptokokken, nahezu in Reinkultur, erkennen.

Die Ketten sind meist 20—40-gliedrig, im übrigen schwankt aber die Gliederzahl zwischen 2 und 50.

Die Körner zeigen Querstellung und diploförmige Anordnung:

Länge des Kornes 0,4 μ ,
 Breite " " 0,9—1 μ ,
 kleiner Abstand 0,05—0,15 μ ,
 großer " " 0,2—0,3 μ .

Beweglichkeit: —.
 Färbung: Gram \pm .

Stamm III

wurde aus dem eingesandten Euter einer geschlachteten Kuh gezüchtet.

Die direkt aus dem Euter angefertigten Präparate zeigen neben Stäbchen Diplokokken und kurze Streptokokken, letztere in überwiegender Mehrzahl.

Die Streptokokken sind 4,6—9-gliedrig,
 die Länge des Kornes beträgt 0,4—0,6 μ ,
 " Breite " " " 0,8—1 μ .

Diploförmige Anordnung kommt nur vereinzelt bei 7- und 9-gliedrigen Ketten vor. Der Kornabstand beträgt 0,1—0,15 μ .

Beweglichkeit: Die Streptokokken zeigen im hängenden Tropfen untersucht lebhaft zitternde Bewegungen, kommen aber dabei nicht vom Platze (Molekularbewegung).

Färbung: Gram \pm .

Stamm IV.

Dieser und die nachfolgenden 22 Stämme wurden aus dem Eutersekret streptokokkenkranker Kühe gezüchtet.

Klinischer Befund: Das vordere rechte Euterviertel ist geringgradig geschwollen und fühlt sich härter an als die anderen. Direkt oberhalb der Zitze ist die Haut welk. Das entzündete Viertel ist schwach gerötet, etwas vermehrt warm und schmerzhaft. Euterlymphdrüse kaum merklich geschwollen. Allgemeinbefinden des Tieres nicht gestört.

Beschaffenheit der Milch nach der Entnahme: Dickflüssig und graugelb.

Beschaffenheit der Milch vor der Untersuchung: Geronnen. — Dicker, graugelber, 4 cm hoher Bodensatz und darüber eine klare, durchsichtige, graugelbe, zähe, 7 cm hohe Flüssigkeit.

Beschaffenheit der Milch beider mikroskopischen Untersuchung: Hoher Leukocytengehalt und zahlreiche Streptokokken.

Morphologie des Erregers: Die wirr durcheinandergeschlungenen Ketten haben mindestens 700 bis über 1000 Glieder. Sie zeigen Diploform und Querstellung.

Länge des Kornes 0,3—0,4 μ ,
 Breite " " 0,8—1 μ ,
 kleiner Abstand 0,1 μ ,
 großer " " 0,15—0,2 μ .

Beweglichkeit: Die Streptokokken sind ganz unbeweglich.
 Färbung: Gram —.

Stamm V.

Klinischer Befund: Das vordere rechte und hintere rechte Euterviertel geschwollen, vermehrt warm, nicht gerötet. Die Haut ist gespannt. Euterlymphdrüsen nicht vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Beschaffenheit der Milch nach der Entnahme: Dick, rahmig und von braugelber Farbe.

Beschaffenheit der Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Dicker, graugelber, 6 cm hoher Bodensatz, auf dem eine 1 mm dicke Schicht roter Blutkörperchen lagert. Darüber ruht eine klare, gelbe, fadenziehende Flüssigkeit.

Bakteriologischer Befund: Zahlreiche dichte Leukocytenhaufen, zwischen denen dichte Knäuel von langen Streptokokken sich vorfinden, deren Gliederzahl 1000 übersteigt. Die Körner sind quer gestellt. Diploförmige Anordnung ist nicht deutlich.

Länge des Kornes 0,5 μ ,
 Breite " " 0,8—0,9 μ ,
 Abstand " " 0,1—0,25 μ .

Beweglichkeit: Ganz unbeweglich.
 Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm VI.

Mitte Februar wurde ich von Dr. Günter, Lauffen a. N., auf einen schweren Fall von akuter Euterentzündung aufmerksam gemacht.

Klinischer Befund: Die ganze linke Euterhälfte, namentlich das vordere linke Viertel der betreffenden Kuh ist bis an die Bauchdecke sehr stark geschwollen und bretthart anzufühlen. Es ist nur gering gerötet und schmerzhaft. Die linke Euterlymphdrüse und linke Kniefaltenlymphdrüse sind ebenfalls bedeutend geschwollen. Letztere

ist etwa gänseeigroß und tritt in der Kniefalte deutlich hervor. Das Allgemeinbefinden ist leicht gestört. Die Temperatur beträgt (mittags) 39,9°.

Eine ganz aseptische Milchentnahme konnte hier nicht vorgenommen werden, denn einmal waren die Zitzen verschwollen und die Mündung durch Eiter verklebt und zum andern gebärdete sich das Tier sehr unruhig.

Aus dem hinteren linken Euterviertel konnte nur etwa 1 ccm Milch und aus dem vorderen linken Viertel nur einige Tropfen eines wässrigen, gelbbraunen Sekrets gewonnen werden.

Bei der bakterioskopischen Untersuchung des Eutersekrets konnte sowohl vorn links als hinten links außer Leukocyten nichts gefunden werden.

Von den beiden Milchproben wurden je zwei Bouillonkulturen angelegt.

Nach 12 Stunden wurden diese untersucht; es fanden sich in der Bouillon 1 und 2 (mit Milch von hinten links geimpft) zahlreiche Diplokokken und 3—4-gliedrige Streptokokken, daneben aber auch Staphylokokken und Stäbchen.

Kultur 3 und 4 (Sekret von vorn links) enthielten beide 2-, 4-, 6—12-gliedrige Streptokokken.

Die einzelnen Körner waren quer gestellt und meist diploförmig angeordnet.

| | |
|------------------|-------------|
| Länge des Kornes | 0,4—0,5 μ, |
| Breite „ „ | 0,8—0,9 μ, |
| kleiner Abstand | 0,1 μ, |
| großer „ „ | 0,15—0,3 μ. |

Beweglichkeit: Lebhaftes Molekularbewegung.

Färbung: Gram —.

Stamm VII.

Klinischer Befund: Euter nicht sichtbar verändert. Bei der Palpation fühlt man hinten links einen gänseeigroßen Knoten. Die Euterlymphdrüse ist nicht vergrößert.

Beschaffenheit der Milch nach der Entnahme: Dick und schwer und von weißgelber Farbe.

Beschaffenheit der Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Auf einer klaren, gelblichen, 7 cm hohen Flüssigkeitssäule schwimmt eine dicke, 4 cm hohe, graugelbe Schicht (Bodensatz); über dieser folgt wiederum eine 2 mm dicke Flüssigkeit von derselben Beschaffenheit wie unten.

Die bakterioskopische Untersuchung ergibt einen sehr hohen Leukocytengehalt und viele lange, gestreckte oder leicht geschwungene Streptokokken, deren Gliederzahl zwischen 300 und 700 schwankt. Querstellung und diploförmige Anordnung der Körner sind auch diesem Stamm eigen.

| | |
|------------------|-------------|
| Länge des Kornes | 0,5 μ, |
| Breite „ „ | 0,8—1 μ, |
| kleiner Abstand | 0,1 μ, |
| großer „ „ | 0,2—0,25 μ. |

Beweglichkeit: Ganz unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram ±.

Stamm VIII.

Klinischer Befund: Vorderes rechtes Viertel mäßig geschwollen und leicht braunrot verfärbt. Beim Berühren geringe Schmerzhaftigkeit. Rechte Euterlymphdrüse vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Rahmige Konsistenz, Farbe gelb, mit einem Stich ins Braune.

Milch vor der Untersuchung: Es lassen sich deutlich 3 Schichten erkennen. Unten ein 3 cm hoher Bodensatz von hellbrauner Farbe, darüber eine mit unregelmäßigen Flocken durchsetzte trübe, graugelbe, 4 cm hohe Flüssigkeit, auf welcher eine 3 mm dicke Rahmschicht lagert.

Bakterioskopischer Befund: Hoher Leukocytengehalt, jedoch nicht so hoch wie bei den schon beschriebenen Stämmen. Ferner zahlreiche kleine und mittellange Streptokokkenketten von 2,4—8 Gliedern. Auch Ketten von 7—30 Gliedern. Diploform und Querstellung.

| | |
|------------------|-------------|
| Länge der Körner | 0,3—0,5 μ, |
| Breite „ „ | 0,75—0,9 μ, |
| kleiner Abstand | 0,1 μ, |
| großer „ „ | 0,25—0,3 μ. |

Beweglichkeit: Schwache Molekularbewegung bei den größeren, lebhaftes bei den kleinen Ketten.

Färbbarkeit: Gram ±.

Stamm IX.

Klinischer Befund: Vorderes rechtes und hinteres rechtes Viertel entzündet. Das vordere Viertel ist mehr geschwollen als das hintere. Beide sind etwas gerötet.

Erste Abt. Orig. Bd. 63.

Heft 2/3.

11

vermehrt warm und schmerzhaft. Rechte Lymphdrüse etwas vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Rahmige Konsistenz, zitronengelbe Farbe.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Es lassen sich 3 Schichten deutlich unterscheiden. Unten im Reagenzglas befindet sich ein grauer, dicker Bodensatz von 7 cm und darüber ruht eine klare, hellgelbe Flüssigkeit, die nach oben mit einer 1 mm dicken Rahmschicht abschließt.

Bakterioskopische Untersuchung: Zwischen dichten Leukocytenhaufen liegen zusammengeknäuelte und wirr durcheinandergeschlungene lange Streptokokken. Die Gliederzahl läßt sich nicht einmal annähernd bestimmen. Diploform und Querstellung an den leukocytenfreien Stellen sehr deutlich.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge des Kornes | 0,5—0,6 μ , |
| Breite " " | 0,7—0,9 μ , |
| kleiner Abstand | 0,15 μ , |
| großer " " | 0,2—0,3 μ . |

Beweglichkeit: Ganz unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram —.

Stamm X.

Klinischer Befund: Vorderes linkes Euterviertel etwas vermehrt warm, nicht gerötet, schmerzhaft und oberhalb der Zitze etwas atrophisch. Die Haut oberhalb der Zitze ist welk. Bei der Palpation fühlt man einen faustgroßen Knoten. Lymphdrüsen nicht vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Dick, flockig und gelbgrau.

Milch vor der Untersuchung: Flockig geronnen. Ueber dem zerklüfteten 7 cm hohen grauweißen Bodensatz folgt eine 4 cm hohe, klare, graue Flüssigkeit.

Bakterioskopische Untersuchung: Zwischen zahlreichen Leukocyten sieht man viele dicht beieinanderliegende mittellange Streptokokken von 6—50 Gliedern. Die Körner zeigen Diploform und Querstellung.

| | |
|------------------|------------------|
| Länge des Kornes | 0,5—0,6 μ , |
| Breite " " | 0,9—1 μ , |
| kleiner Abstand | 0,1—0,15 μ , |
| großer " " | 0,25 μ . |

Beweglichkeit: Schwache Molekularbewegung.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XI.

Klinischer Befund: Faustgroße Knoten im hinteren linken Viertel. Sonst keine Veränderungen. Euterlymphdrüsen nicht geschwollen.

Milch nach der Entnahme: Orangefarben und rahmig.

Milch vor der Untersuchung: Flockig geronnen. In der gelben, 14 cm hohen, klaren Flüssigkeit schweben namentlich im oberen Teil braungelbe Flocken.

Bakterioskopische Untersuchung: Viele Leukocyten und leicht gewundene 100—200-gliedrige Streptokokken mit diploförmiger Anordnung der quergestellten Glieder.

| | |
|------------------|------------------|
| Länge des Kornes | 0,4 μ , |
| Breite " " | 0,8—0,9 μ , |
| kleiner Abstand | 0,1 μ , |
| großer " " | 0,25—0,3 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XII.

Klinischer Befund: Das hintere rechte und vordere rechte Euterviertel ist vergrößert und derb. Rechte Lymphdrüse etwas vergrößert.

Milch nach der Entnahme: Beim Melken kommen graugelbe Klumpen.

Milch vor der Untersuchung: Starker, 5 cm hoher grauweißer, grütziger Bodensatz und über diesem eine klare gelbliche, 1 cm hohe Flüssigkeitsschicht.

Bakterioskopische Untersuchung: Zwischen großen, stark gefärbten Leukocytenhaufen liegen dichte, wirre Knäuel von langen Streptokokken, deren Glieder der Zahl nach unbestimmbar sind. Querstellung und Diploform auch hier deutlich ausgeprägt.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge des Kornes | 0,3—0,4 μ , |
| Breite " " | 0,8—0,9 μ , |
| kleiner Abstand | 0,1 μ , |
| großer " " | 0,2 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XIII.

Klinischer Befund: Das vordere linke Euterviertel ist geschwollen braunrot gefärbt, vermehrt warm und schmerzhaft. Bei der Palpation fühlt man einen faustgroßen Knoten. Linke Euterlymphdrüse vergrößert. Allgemeinbefinden leicht getrübt.

Milch nach der Entnahme: Dick und grau.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Im oberen Teil des Reagenzglases schwebt auf einer 6 cm hohen graugelben, getrühten Flüssigkeit eine 5 cm hohe Eitermasse, die nach oben homogen abschließt und sich nach unten flockig auflöst.

Bakterioskopische Untersuchung: Neben vielen Leukocyten sieht man verhältnismäßig wenig Kokken und Diplokokken.

Länge des Kornes 0,4—0,6—0,8 μ ,

Breite " " 0,5—0,8 μ .

Beweglichkeit: Die Diplokokken zeigen deutliche Molekularbewegung.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XIV.

Klinischer Befund: Vorderes linkes, vorderes rechtes und hinteres rechtes Euterviertel geschwollen, etwas vermehrt warm, nicht gerötet und nicht schmerzhaft, Lymphdrüsen vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Rahmige Konsistenz. Farbe graugelb.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Ueber einem dicken, homogenen, grauweißen Bodensatz von 9 cm ruht eine 5 cm hohe, klare, gelbliche Flüssigkeit und über dieser eine 2 mm dicke Rahmschicht.

Bakterioskopische Untersuchung: Unter zahlreichen Leukocytenhaufen liegen in großer Menge 2—50—60-gliedrige gestreckte oder stark gewundene Streptokokkenketten, deren einzelne Glieder quergestellt sind. Diploform ist undeutlich.

Länge des Kornes 0,3—0,5 μ ,

Breite " " 0,8 μ ,

Abstand " " 0,15—0,2 μ .

Beweglichkeit: Schwache Molekularbewegung.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Bei der Doppelfärbung mit Eosin und Methylenblau sieht man kürzere Streptokokken, die von Leukocyten aufgenommen sind.

Stamm XV.

Klinischer Befund: Das vordere linke Euterviertel ist geringgradig geschwollen, leicht blaurot verfärbt, etwas vermehrt warm und schmerzhaft. Die Linke Euterlymphdrüse ist ebenfalls vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Rahmige Konsistenz; die Farbe ist grau und hat einen Stich ins Braune.

Milch vor der Untersuchung: Die Milch ist geronnen und läßt deutlich 4 Schichten unterscheiden. Unten im Reagenzglas lagert ein starker, grüztiger, grauweißer, 8 cm hoher Bodensatz, darauf liegt eine dünne Schicht roter Blutkörperchen, auf welche eine 4 cm hohe trübgraue Flüssigkeitsschicht folgt, die nach oben mit einer dünnen Rahmschicht abschließt.

Bakterioskopische Untersuchung: Sehr hoher Leukocytengehalt und viele 500-, 600—800-gliedrige Streptokokken. Mit Diploform und Querstellung.

Länge des Kornes 0,4 μ ,

Breite " " 0,9 μ ,

kleiner Abstand 0,1 μ ,

großer " " 0,25—0,3 μ ,

Beweglichkeit: Ganz unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XVI.

Klinischer Befund: Im vorderen linken und vorderen rechten, etwas atrophischen Euterviertel fühlt man einen faustgroßen, derben Knoten. Die beiden kranken Viertel sind etwas vermehrt warm und nicht schmerzhaft. Die Lymphdrüsen sind vergrößert. Allgemeinbefinden des Tieres nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Dick und graugelb.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. 2 Schichten sind deutlich unterscheidbar. Unten im Reagenzglas sitzt ein 7 cm hoher, grauweißer Bodensatz, über dem eine 5 cm hohe, klare, gelbliche Flüssigkeitsschicht sich befindet.

Bakterioskopische Untersuchung: Große Leukocytenhaufen mit wirt durcheinander liegenden langen Streptokokken. Länge der Ketten ist nicht bestimmbar. Die Körner zeigen Querstellung und Diploform.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge des Kornes | 0,4—0,5 μ , |
| Breite " " | 0,7—1 μ , |
| kleiner Abstand | 0,15 μ , |
| großer " " | 0,25 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XVII.

Klinischer Befund: Das hintere rechte Viertel ist oberhalb der Zitze etwas atrophisch, weiter oben ist es geringgradig geschwollen und derb anzufühlen. Es ist nicht gerötet, aber etwas vermehrt warm. Die rechte Lymphdrüse ist etwas vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Dick, rahmig und von weißgelber Farbe.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Es lassen sich wieder 2 Schichten voneinander trennen. Unten ein dicker, grauer, 3 cm hoher Bodensatz und darüber eine klare, gelbgraue, 2 cm hohe Flüssigkeitssäule.

Bakterioskopische Untersuchung: Befund wie bei XVI.

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Bemerkung: Die Milchproben XVI und XVII stammten von Kühen, die im Stalle nebeneinander standen.

Stamm XVIII.

Klinischer Befund: Das hintere rechte Viertel ist etwas atrophisch, die Haut oberhalb der Zitze und die Zitze selbst ist welk. Bei der Palpation fühlt man einen gänseei-großen Knoten. Sonst keine Veränderungen. Die Milchmenge ist gering.

Milch nach der Entnahme: Etwas dicker als gesunde Milch. Die Farbe ist normal.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Ueber einem 4 cm hohen, grauen Bodensatz erhebt sich eine 7 cm hohe, trübe, graue Flüssigkeit, die nach oben mit einer 4 mm dicken Rahmschicht abschließt.

Bakteriologische Untersuchung: Zahlreiche Leukocyten, die nicht so dicht aufeinander wie sonst, sondern mehr zerstreut liegen. Dazwischen finden sich lange, leicht geschwungene Ketten, deren Gliederzahl 300 bis über 1000 beträgt und deren Glieder diploförmig angeordnet und quergestellt sind.

| | |
|------------------|------------------|
| Länge des Kornes | 0,5—0,6 μ , |
| Breite " " | 0,8—1,1 μ , |
| kleiner Abstand | 0,1 μ , |
| großer " " | 0,25—0,3 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XIX.

Klinischer Befund: Hinteres rechtes und vorderes rechtes Euterviertel mäßig geschwollen und derb. Sonstige Veränderungen fehlen.

Milch nach der Entnahme: Rahmig und von hellgelber Farbe.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. 5 cm hoher grauer homogener Bodensatz und darüber eine 6 cm hohe, gelbliche, klare, mit Flocken durchsetzte Flüssigkeitsschicht, die nach oben mit einer 3 mm dicken Rahmschicht abschließt.

Bakterioskopische Untersuchung: Leukocyten und Form der Ketten wie bei XVIII. Die Gliederzahl schwankt zwischen 300 und 700.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge des Kornes | 0,4—0,6 μ , |
| Breite " " | 0,9—1 μ , |
| kleiner Abstand | 0,1 μ , |
| großer " " | 0,25 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XX.

Klinischer Befund: Vorderes rechtes Euterviertel etwas vermehrt warm und leicht gerötet. Der Umfang ist nicht vergrößert. Bei der Palpation ist ein faustgroßer Knoten gut fühlbar. Lymphdrüse vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch bei der Entnahme: Krümelige, graugelbe Masse.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Ueber einem 3 cm hohen graugelben Bodensatz ruht eine 2 cm hohe graue trübe Flüssigkeitssäule.

Bakterioskopische Untersuchung: Viele Leukocyten und zahlreiche Haufen von gestreckten oder gewundenen kleinen und mittellangen Streptokokken mit quergestellten, diploförmigen Körnern. Die Gliederzahl beträgt: 2, 4, 8, 30—40.

| | |
|----------------------------|------------------|
| Länge des Kornes | 0,5 μ , |
| Breite " " | 0,9 μ , |
| kleiner Abstand der Körner | 0,1—0,15 μ , |
| großer " " | 0,2 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXI.

Klinischer Befund: Vorderes linkes Euterviertel vergrößert und von derber Konsistenz. Linke Euterlymphdrüse ebenfalls vergrößert. Sonst keine Veränderungen, Allgemeinbefinden nicht getrübt.

Milch nach der Entnahme: Dicke, orangefarbene Flüssigkeit.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Dicker, graugelber flockiger, 2 cm hoher Bodensatz und darüber 5 cm einer trüben, gelbbraunen Flüssigkeit.

Bakterioskopische Untersuchung: Hoher Leukocytengehalt und viele 600—700-gliedrige, gewundene Streptokokken mit Diploform und Querstellung.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge der Körner | 0,3—0,5 μ , |
| Breite " " | 0,8—0,9 μ , |
| kleiner Abstand | 0,1 μ , |
| großer " " | 0,25 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXII.

Klinischer Befund: Vorderes linkes und hinteres linkes Euterviertel stark geschwollen und derb sowie schwach gerötet, vermehrt warm und schmerzhaft. Linke Euterlymphdrüse ist vergrößert. Allgemeinbefinden wenig getrübt.

Milch nach der Entnahme: Rahmige, schwach rötlich gefärbte Flüssigkeit.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. In einer 13 cm hohen graugelben Flüssigkeit schweben unregelmäßige, graubraune Flocken. Am Grunde des Reagenzglas hat sich eine ganz dünne Schicht roter Blutkörperchen niedergeschlagen.

Bakterioskopische Untersuchung: Viele Leukocyten und Diplokokken. Ganz vereinzelt kommen 3-gliedrige Streptokokken vor.

| | |
|------------------|------------------|
| Länge des Kornes | 0,5—0,6 μ , |
| Breite " " | 0,9—1,1 μ , |
| Abstand des " " | 0,2—0,25 μ . |

Beweglichkeit: Schwache Molekularbewegung.

Färbung: Gram \pm .

Stamm XXIII.

Klinischer Befund: Hinteres rechtes Euterviertel vergrößert derb und vermehrt warm. Rechte Lymphdrüse vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch bei der Entnahme: Gelblich-seröse, mit grauen Flocken durchsetzte Flüssigkeit. Menge 3 cm.

Milch vor der Untersuchung: Wie nach der Entnahme.

Bakterioskopische Untersuchung: Viele Leukocyten und vereinzelt einige Kokken und Diplokokken.

| | |
|------------------|-----------------|
| Größe des Kornes | 0,5—0,8 μ , |
| Querstellung | undeutlich. |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXIV.

Klinischer Befund: Im vorderen linken geschwollenen Euterviertel läßt sich ein hühnereigroßer Knoten palpieren. Lymphdrüsen nicht vergrößert. Allgemeinbefinden nicht getrübt.

Milchmenge: 2 ccm.

| | |
|---|------------------|
| Milchbeschaffenheit, Bakterioskopischer Befund, Beweglichkeit, Färbbarkeit | } wie bei XXIII. |
| | |
| | |
| | |

Stamm XXV.

Klinischer Befund: Vorderes linkes Euterviertel geringgradig vergrößert und leicht gerötet. Linke Lymphdrüse ebenfalls schwach vergrößert. Allgemeinbefinden nicht gestört.

Milch nach der Entnahme: Dicke, weißgraue Flüssigkeit.

Milch vor der Untersuchung: Geronnen. Bodensatz krümelig, grau, 6 cm hoch. Ueber diesem eine klare, graue 8 cm hohe Flüssigkeit.

Bakterioskopische Untersuchung: Dichte Leukocytenhaufen mit wirt durcheinander geschlungenen Ketten von 800 bis über 1000 Gliedern. Querstellung und Diploform.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge des Kornes | 0,5—0,6 μ . |
| Breite „ „ | 0,8—1 μ . |
| kleiner Abstand | 0,15 μ . |
| großer „ | 0,2—0,3 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXVI.

Klinischer Befund: Das hintere rechte Euterviertel ist geschwollen, leicht gerötet, vermehrt warm und schmerzhaft. Die rechte Lymphdrüse ist vergrößert.

Milch bei der Entnahme: Graugelbe Klumpen.

Milch vor der Untersuchung: Die Milch zeigt wieder 2 Schichten. Unten sitzt ein dicker, grauer, 3 cm hoher Bodensatz, über dem eine klare, gelbe, 2 cm hohe Flüssigkeitssäule ruht.

Bakterioskopischer Befund: Zahlreiche, gleichmäßig verteilte Leukocyten und mittellange Streptokokken mit 8—50 Gliedern.

| | |
|------------------|---------------|
| Länge des Kornes | 0,5 μ . |
| Breite „ „ | 0,9—1 μ . |
| kleiner Abstand | 0,15 μ . |
| großer „ | 0,3 μ . |

Beweglichkeit: Lebhaftes Molekularbewegung der kurzgliedrigen Streptokokken.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXVII.

Streptococcus acidilactici.

Morphologie: Die einzelnen Ketten hatten eine Gliederzahl, die zwischen 2 und 8 schwankt. Diplokokken und 4-gliedrige Streptokokken waren in überwiegender Mehrzahl vorhanden. Diploförmige Anordnung der Körner zeigten nur ganz wenig Ketten. Die einzelnen Körner waren bei den meisten rund oder längsoval. In einzelnen Ketten kamen auch hin und wieder leicht abgeplattete, quergestellte Körner vor. Diese Querstellung war aber ganz undeutlich, also nicht so ausgeprägt wie bei den Mastitisstreptokokken. Die Ketten waren gestreckt.

| | |
|------------------|------------------|
| Größe der Körner | 0,5—1 μ . |
| Abstand der „ | 0,1—0,25 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXVIII.

Saprophytischer *Streptococcus* aus der Stallluft.

Morphologie: In der Hauptsache sind es mittellange Streptokokken von 10—80 Gliedern. Die einzelnen Körner sind fast alle längsoval, kugelige oder querovoid kommen gar nicht vor. Diploförmige Anordnung fehlt ganz. Die Ketten sind gestreckt oder gewunden.

| | |
|------------------|-----------------|
| Länge der Körner | 1—1,1 μ . |
| Breite „ „ | 0,4—0,6 μ . |
| Abstand der „ | 0,1—0,3 μ . |

Beweglichkeit: Unbeweglich.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXIX.

Saprophyt aus der Stallluft.

Morphologie: Kurze gestreckte Ketten in großer Zahl. Die Gliederzahl schwankt zwischen 2 und 14. Diploförmige Anordnung fehlt. Die Körner sind in der Hauptsache kugelig. In einzelnen Ketten kommt ausgesprochene Querstellung einiger Körner vor.

| | |
|------------------|------------------|
| Größe der Körner | 0,5—0,9 μ . |
| Abstand der „ | 0,1—0,25 μ . |

Beweglichkeit: Schwache Molekularbewegung.

Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXX.

Saprophyt aus der Stallluft.

Morphologie: Länge 40—100—120 gliedrige Streptokokken. Die Ketten sind gewunden und ineinander geschlungen. Vereinzelt kommen kleinere 10-gliedrige gestreckte Ketten vor. Diploform und Querstellung sind bei diesem Stamm häufiger und namentlich bei den kürzeren Ketten deutlich ausgeprägt. Die längeren Ketten zeigen dagegen mehr Körner von kugeliger Form.

Länge der Körner 0,4—1 μ ,
Breite „ „ 0,4—1 μ ,
Abstand „ „ 0,1—0,2 μ .

Beweglichkeit: Unbeweglich oder schwache Molekularbewegung.
Färbbarkeit: Gram —.

Stamm XXXI.

Streptococcus des ansteckenden Scheidenkatarrhs.

Morphologie: Kurze gestreckte 2—9-gliedrige Streptokokken. Diploform und Querstellung schwach ausgeprägt.

Länge der Körner 0,5—0,6 μ ,
Breite „ „ 0,7—0,8—0,9 μ ,
Abstand „ „ 0,1—0,15 μ .

Beweglichkeit: Schwache Molekularbewegung.
Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXXII.

Streptococcus vom ansteckenden Scheidenkatarrh wie Stamm XXXI.

Stamm XXXIII.

Streptococcus vom ansteckenden Scheidenkatarrh.

Morphologie: Kurze gestreckte und vielfach gewellte 10—12-gliedrige Ketten mit mehr ausgeprägter Diploform und Querstellung wie die beiden anderen Stämme.

Länge der Körner 0,5 μ ,
Breite „ „ 0,8—0,9 μ ,
Abstand „ „ 0,1—0,2 μ .

Beweglichkeit und Färbbarkeit wie bei Stamm XXXI und XXXII.

Bemerkung: Stamm XXXI und XXXII sind aus der Scheide von alt infizierten und behandelten Tieren gezüchtet, Stamm XXXIII dagegen von einem frisch infizierten nicht behandelten Tier.

Stamm XXXIV.

Saprophytischer *Streptococcus* aus dem Speichel eines Pferdes.

Morphologie: Lange, stark gewundene Ketten mit 80—100 und 200 Gliedern. Die einzelnen Körner sind kugelig oder längsovoid. Querstellung fehlt ganz. Viele Ketten zeigen deutliche Diploform.

Länge des Kornes 1—1,2 μ ,
Breite „ „ 0,5—1 μ ,
Abstand „ „ 0,1—0,3 μ .

Beweglichkeit: Unbeweglich.
Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXXV.

Streptococcus pyogenes (Rosenbach).

Morphologie: Lange gewundene Streptokokken mit 300—600 Gliedern. Die einzelnen Körner sind durchweg kugelig. Diploform scharf ausgeprägt.

Größe des Kornes 0,8—1 μ ,
kleiner Abstand 0,1—0,15 μ ,
großer „ 0,15—0,2 μ .

Beweglichkeit: Unbeweglich.
Färbbarkeit: Gram \pm .

Stamm XXXVI.

Streptococcus erysipelatus (Fehleisen).

Morphologie: Lange, 40—150-gliedrige gestreckte und schwach geschwungene Ketten. Die einzelnen Körner sind teilweise abgeplattet. Diploform deutlich.

Länge der Körner 0,5—0,8 μ ,
Breite „ „ 0,8—0,9 μ ,
kleiner Abstand der Körner 0,1 μ ,
großer „ „ „ 0,2 μ .

Beweglichkeit: Unbeweglich.
Färbbarkeit: Gram \pm .

Die Beschreibung der Mastitisstämme läßt erkennen, wie außerordentlich verschieden das Krankheitsbild, die makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen der Milch und die Form, Gestalt und Größe der Streptokokken ist. Der klinische Befund am Euter allein läßt

höchstens eine Streptokokkenmastitis vermuten. Die Euterlymphdrüsen sind meist, aber nicht immer, geschwollen. Das Allgemeinbefinden der Tiere war nur in 3 Fällen (VI, XIII und XXIII) getrübt.

Ebenso wie der klinische Befund variiert auch die Konsistenz und Farbe der Milch. Die makroskopische Beschaffenheit der geronnenen Milch läßt nicht auf eine bestimmte Art von Streptokokken schließen. Interessant ist, daß bei der Milchprobe des Stammes VII und XIII ganz und bei XI zum Teil der dickliche, geronnene Bestandteil der Milch, der sonst auf dem Grunde des Reagenzglases sitzt, auf der Flüssigkeit schwimmt.

Auch die bakteriologische Untersuchung liefert verschiedene Resultate. Der Leukocytengehalt war meist verschieden, aber in allen Fällen sehr groß. Die Form, Gestalt und Größe der Streptokokken variierte oft sehr stark. Alle Mastitisstämme zeigen eine Abplattung der Körner in der Richtung der Querachse, so daß diese wie quergestellt aussehen. Die Körner sind durchweg diplokokkenförmig aneinander gelagert. Bei Stamm XIV fehlte die Diploform. Von den Autoren wird die Abplattung der Körner als ein Zeichen günstiger Lebensbedingungen und raschen Wachstums angesehen und ist bei den direkt aus dem tierischen Körper stammenden pathogenen Streptokokken besonders deutlich, sie wird aber auch zuweilen, wenn auch selten, bei saprophytischen Streptokokken beobachtet. Allerdings ist bei den letzteren, wenn sie überhaupt vorkommt, diese Abplattung ganz schwach ausgeprägt und meist nur bei einzelnen Körnern in einer Kette vorhanden. Stamm XXX ist der einzige Saprophyt, der deutliche und durchgehende Abplattung vereinzelter Ketten zeigt. Diese Ketten sind von echten Mastitisstreptokokken morphologisch nicht unterscheidbar.

Auch die Diploform trifft man, wenn nicht bei allen, so doch bei vielen saprophytischen Streptokokken. Sie fehlt aber z. B. bei Stamm XXVIII und XXIX dann, wenn die Einzelglieder längsovoide oder stäbchenartige Form besitzen.

Die Länge und Gestalt der Ketten ist, wie die Größe der Körner in ein und demselben Stamm, oft sehr verschieden. Eine strenge Scheidung zwischen kurzen und langen Mastitisstreptokokken ist auf Grund der bakteriologischen Untersuchung des Eutersekrets nicht möglich. Oftmals sind auch beim gleichen Stamm alle Körner einer Kette größer oder kleiner als die der anderen Ketten. Häufig enthält eine Kette abnorm große oder kleine Körner. Die Abstände der einzelnen Kokken sind ebenfalls wie die Größe derselben inkonstant, variieren, aber innerhalb enger Grenzen.

Auf die verschiedenen Wachstumsformen der Mastitisstreptokokken hat schon Stäheli hingewiesen. Er führt diese zurück auf Schwankungen in den Ernährungsverhältnissen und auf das Alter der Streptokokken. Auch das Laktationsstadium ist nach Stäheli, Ernst u. a. von Einfluß auf das Wachstum und namentlich auf die Länge der Ketten.

Färbung der Streptokokken.

Die Färbung der Streptokokken gelingt leicht mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen. Ich fertigte bei jedem Stamm mehrere Präparate an, die ich mit Fuchsin, Löfflers Methylenblau, wässriger Methylenblaulösung, Formolgentiana, Karbolthionin und nach Giemsa färbte. Auch die Gram-Färbung und das Tuscheverfahren nach Burri wandte ich bei sämtlichen untersuchten Stämmen an. Die Fuchsinfärbung lieferte

gewöhnlich keine so guten Bilder wie die anders gefärbten Ausstriche. Nach Giemsa färbten sich sämtliche Streptokokken sehr schön. Eine kapselartige Umhüllung konnte ich nur bei einem Stamm beobachten, dessen Reinzüchtung mir leider nicht gelang. Bei der Prüfung des Verhaltens der Streptokokken der Gram-Färbung gegenüber färbte ich direkt nach der Gramschen und auch nach der von Weigert modifizierten Methode. Ich fand dabei, daß manche Streptokokken den Farbstoff sehr schlecht beibehielten, andere dagegen besser gefärbt erschienen. Niemals war aber die Färbung so schön und satt wie bei den eigentlichen grampositiven Bakterien. Die Streptokokken nehmen so gewissermaßen eine Mittelstellung zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien ein, dabei nähern sich die einen mehr den gramnegativen, die anderen mehr den grampositiven. In neuester Zeit hat Eisenberg (14) das Burrische Tuschedifferenzierungsverfahren bei vielen Bakterienarten angewandt und gefunden, daß grampositive Arten fast ausnahmslos plasmolysierbar sind, d. h. nur gramnegative Arten eine Differenzierung mit dem Burrischen Verfahren zu lassen. Ich habe das Tuscheverfahren bei allen meinen Stämmen benutzt und gefunden, daß dadurch fast alle sehr schön sichtbar gemacht werden konnten. Bei einigen wenigen Stämmen sah ich neben ungefärbten Ketten vereinzelt solche, die die Tusche in geringem Maße annahmen (Stamm XIV, XIX, XXV, XXXI und XXXVI). Bei dieser Methode ist vor allem darauf zu achten, daß die hierzu benutzten Kulturen möglichst frisch und nicht über 24 Stunden alt sind. Das Verfahren ist sehr einfach. Man entfettet zuerst den Objektträger und bringt darauf einen Tropfen Bouillonkultur und streicht, wenn dieser trocken ist, mit einem zweiten Objektträger einen Tropfen gewöhnlicher Zeichentusche darüber aus oder man vermischt den Bouillontropfen mit einem Tropfen Zeichentusche, streicht mit einem zweiten Objektträger aus und läßt dann erst trocknen. Die weißen, ungefärbt bleibenden Streptokokken heben sich dann von dem dunklen Untergrund sehr schön ab.

Beweglichkeit.

Die Beweglichkeit der Streptokokken prüfte ich im hängenden Tropfen. Ich fand, daß namentlich die kurzen Streptokokken zum Teil eine recht lebhaft, zitternde Bewegung zeigten, dabei aber nicht vom Platze kamen. Ich faßte diese Erscheinung als Molekularbewegung auf. Eine Bewegung im eigentlichen Sinne, wie sie Gröning bei seinen Stämmen fand, konnte ich nicht beobachten.

Lebensfähigkeit der Streptokokken.

Nach vielen Autoren verlieren die Streptokokken durch ihre Stoffwechselprodukte und die von ihnen in Kulturen, z. B. Bouillon, gebildete Säure ihre Keimfähigkeit schon nach kurzer Zeit. Bei meinen Untersuchungen fand ich zwar bei alten, lange künstlich fortgezüchteten pathogenen und bei saprophytischen Streptokokken meist nur eine geringe Keimfähigkeit; aber für die frisch aus dem Tierkörper stammenden pathogenen Streptokokken konnte ich diese Angaben nicht bestätigen. Aus Milchproben habe ich noch nach 14 Tagen, ja sogar nach 3 Wochen keimfähige Streptokokken gezüchtet, und 5—7-tägige Bouillonkulturen konnten in den meisten Fällen mit Erfolg umgezüchtet werden. Stamm VI zeigte bei Uebertragung der ersten Bouillonkultur auf neue Nährböden noch nach 16 Tagen ein gutes Wachstum. Auch aus 2-proz. Zuckerbouillon, wo doch eine Säuerung bald eintritt als in gewöhnlicher

Bouillon, konnte ich solche frisch isolierte Stämme nach mehreren Tagen umzüchten. Bei fortwährender Züchtung auf gleichartigen Nährböden degenerieren allerdings sämtliche Streptokokken sehr bald und verlieren ihre Keimfähigkeit schließlich ganz; aber bei abwechselungsweiser Uebertragung auf anders beschaffene Nährböden kann man sie lange Zeit entwickelungsfähig erhalten. Die langen Streptokokken zeigen in der Regel eine größere Entwicklungsfähigkeit als die kurzen, und die saprophytischen Streptokokken gedeihen auf künstlichen Nährböden nur schlecht.

Kulturversuche.

Hand in Hand mit der Reinzüchtung der Streptokokken ging immer die Untersuchung der Bouillonkultur. Wie schon erwähnt wurde, haben verschiedene Autoren, wie Kurth (38), Behring (5), Knorr (37), Pasquale (55), Gröning (22), Laabs (39) u. a. besonderen Wert auf das Bouillonwachstum der Streptokokken gelegt. Ich selbst bin bei allen Versuchen immer von der 24-stündigen Bouillonkultur ausgegangen. Diese Bouillonkulturen haben aber bei dem mehrmaligen Umzüchten in ihrem Aussehen manche Veränderungen erlitten und ich führe aus diesem Grunde das makroskopische und mikroskopische Aussehen der ersten Bouillonkultur aller Stämme besonders an.

Zu allen meinen Versuchen verwendete ich eine Bouillon, die einen Kochsalzgehalt von 0,1 Proz., einen Peptongehalt von 1 Proz. und einen Alkaleszenzgrad von nicht ganz $\frac{1}{2}$ Proz. (4—5 ccm normal NaOH auf 1 Liter neutraler Bouillon) zeigte. In dieser Bouillon wuchsen sämtliche Stämme gut und hielten sich längere Zeit lebensfähig. Aus der Tabelle geht hervor, daß ein Streptokokkenstamm in der Bouillon meist ein anderes Bild darbietet als in dem Eutersekret. Wenn auch die Korngröße und der Kornabstand sich nur wenig ändert, so ist doch die Länge der Ketten und die Form derselben oft erheblich verschieden. Die ganz langen Ketten werden in Bouillon gewöhnlich kürzer, während die in der Milch nur als Kokken und Diplokokken vorkommenden Streptokokken in allen Fällen zu mehrgliedrigen Ketten auswachsen.

Die Bouillonkultur zeigt schon nach 12 Stunden einen mehr oder weniger starken, flaumigen, flockigen oder krümeligen, bröckligen Bodensatz. Die einzelnen Flocken sind oft lose oder hängen namentlich bei älteren Kulturen und älteren Stämmen schleimig zusammen. Vom Bodensatz aus steigen meist Flocken auf, die entweder in der Flüssigkeit frei schweben oder an der Wand des Glases adhären. Beim Schütteln verteilt sich der lockere Bodensatz rasch unter diffuser Trübung der Flüssigkeit, während der schleimige sich träge und zopf- oder flammenartig erhebt und nur bei starkem Schütteln die Flüssigkeit trübt. Die Art des Bodensatzes und die Größe der Flocken ist bei ein und demselben Stamm nicht konstant. Auch die Länge und Form der Ketten eines Stammes bleibt bei dessen Unzüchtung nicht gleich. Vincent (69) beobachtete, daß in saurer Bouillon die Streptokokken als längere und in alkalischer als kürzere Ketten wachsen. Auch ich fand bei meinen Untersuchungen in alkalischer Bouillon ein kürzeres Kettenwachstum, als in neutraler. In schwach saurer Bouillon sah ich nur ein ganz spärliches Wachstum. Die Beobachtung Aronsons (2), wonach bei steigendem Zusatz von Traubenzucker zu der Bouillon die Streptokokkenverbände kürzer werden, kann ich nicht bestätigen. Ich fand im Gegenteil in 2-proz. Traubenzuckerbouillon längere Ketten als in gewöhnlicher neutraler Bouillon.

| Stamm | Makroskopisch | Mikroskopisch | | | | |
|-------|---|--|-----------|--------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| | | Zahl der Glieder und Form der Ketten | Diploform | Querstellung | Länge und Breite der Körner | Kleiner und großer Abstand |
| I | Flüssigkeit klar. In der Kuppe des Reagensglases sitzen kleine, weiße Flocken, die beim Schütteln sich erheben und auflösen und die Flüssigkeit trüben | In der Mehrzahl 6—12—30-gliedrig, Ketten gestreckt | + | + | L. 0,4 μ B. 0,8—0,9 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| II | Bouillon klar. Am Boden große, weiße, unregelmäßige Flocken. Vom Bodensatz steigen an der Wand des Reagensglases ebenfalls große Flocken auf | 4—16—20-gliedrig, Ketten gestreckt | + | + | L. 0,5—0,6 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,25 μ |
| III | Flüssigkeit nach 12 Stunden trüb. Nach 36 Stunden klar mit staubigem Bodensatz und Wandbelag | 4—12-gliedrig, Ketten gestreckt | ± | + | L. 0,5—0,6 μ B. 0,8—1,0 μ | 0,1—0,25 μ |
| IV | Flüssigkeit klar. Am Boden und an der Wand sehr große Flocken, die beim Schütteln lose aufwirbeln und die Flüssigkeit diffus trüben | über 600—1000-gliedrig, Ketten verschlungen | + | + | L. 0,3—0,4 μ B. 0,8—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,15—0,3 μ |
| V | Flüssigkeit klar. Große, weiße, schleimig zusammenhängende Flocken, die am Boden sich zusammenballen und an der Wand ankleben. Beim Schütteln erheben sie sich zopfartig und trüben die Flüssigkeit | 500—800-gliedrig, Ketten verschlungen | + | + | L. 0,3—0,5 μ B. 0,8—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,15—0,2 μ |
| VI | Flüssigkeit nach 12 Stunden trüb. Nach 36 Stunden erfolgt Aufhellung von oben her, und am Boden schlägt sich ein feinflockiger staubförmiger Belag nieder | 2—12-gliedrig, Ketten gestreckt | + | + | L. 0,4—0,6 μ B. 0,9 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| VII | Flüssigkeit nicht getrübt. Körniger, schleimig zusammenhängender Bodensatz, der beim Schütteln sich langsam auflöst | 500—700-gliedrig, Ketten gewunden | + | + | L. 0,4—0,6 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| VIII | Flüssigkeit klar. Schwacher, schleimig-flockiger Bodensatz | 4—10-gliedrig, | + | + | L. 0,25—0,5 μ B. 0,8—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,25 μ |
| IX | Bouillon klar. Bröckeliger, lose aufwirbelnder Bodensatz | über 600—1000-gliedrig, dicht verfilzte Haufen von Ketten | + | + | L. 0,5 μ B. 0,8 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2 μ |
| X | Flüssigkeit klar. Schleimig-flockiger Bodensatz. Kleine, zähe Flocken an der Wand | 100—200-gliedrig, Ketten lose verschlungen | + | + | L. 0,5—0,6 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| XI | Wie X | 300—400-gliedrig, stark verschlungene Ketten | + | + | L. 0,3—0,4 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| XII | Bouillon klar. Schuppenförmiger Bodensatz und Wandbelag. Bodensatz zäh zusammenhängend | über ca. 400—1000-gliedrig, dichte, wirr durcheinander geschlungene Ketten | + | + | L. 0,4 μ B. 0,8—0,9 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,3 μ |
| XIII | Bouillon klar. Ganz schwacher, feinflockiger, locker zusammenhängender Bodensatz. Kein Wandbelag | 2—8-gliedrig, gestreckte Ketten | + | + | L. 0,5 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,25 μ |

| Stamm | Makroskopisch | Mikroskopisch | | | | |
|--------|---|--|-----------|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| | | Zahl der Glieder und Form der Ketten | Diploform | Quer- stellung | Länge und Breite der Körner | Kleiner und großer Abstand |
| XIV | Flüssigkeit klar. Lockerer, aufwirbelnder, krümelig-bröckeliger Bodensatz. An der Wand ebenfalls kleinere Flocken | 4—20—40-gliedrig, gestreckte oder schwach geschwungene Ketten | ± | + | L. 0,4—0,5 μ B. 0,9—1,1 „ | 0,1—0,2 μ |
| XV | Flüssigkeit klar. Am Boden und an der Wand zahlreiche unregelmäßig große Flocken | 400—800-gliedrig, Ketten lose durcheinander geschlungen | + | + | L. 0,4—0,6 μ B. 0,9—1,1 „ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| XVI | Flüssigkeit klar. Schleimig-schuppiger Bodensatz, der sich beim Schütteln langsam erhebt. An der Wand ebenfalls zäh anklebende Schuppen | Länge nicht bestimmbar. Dichte verfilzte Knäuel von wirr verschlungenen Ketten | + | + | L. 0,5—0,6 μ B. 0,9 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,3 „ |
| XVII | Wie XVI | wie XVI | + | + | L. 0,3—0,5 μ B. 0,7—0,9 „ | kl. 0,1 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| XVIII | Flüssigkeit klar. Bodensatz gering und schleimig-flockig. An der Wand kleben ebenfalls kleinere und größere Flocken | 600—700-gliedrig, Ketten wirr verschlungen | + | + | L. 0,4—0,5 μ B. 0,8—1,1 „ | kl. 0,15 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| XIX | Wie bei XVIII | 400—500-gliedrig, Gestalt wie bei XVIII | + | + | L. 0,5 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,25 „ |
| XX | Flüssigkeit klar. Geringer schleimig-flaumiger Bodensatz, von dem kleine Flocken an der Wand aufsteigen und frei in der Flüssigkeit schweben oder an der Wand adhären | 4—60 gliedrig, Ketten geschlängelt | + | + | L. 0,5 μ B. 0,9—1,0 μ | kl. 0,1—0,15 μ gr. 0,2—0,3 „ |
| XXI | Flüssigkeit klar. Bröckeliger Bodensatz, der schleimig zusammenhängt und sich schwer löst | 200—600-gliedrig, Ketten verschlungen und geknäuel | + | + | L. 0,4 μ B. 0,9 „ | kl. 0,1 μ gr. 0,25 „ |
| XXII | Flüssigkeit trüb. Nach 24 Stunden Aufhellung von oben her, nach 36 Stunden klar und staubförmiger, aufwirbelnder Bodensatz u. Wandbelag | 2—12-gliedrig, Ketten gestreckt | ± | + | L. 0,5 μ B. 0,9—1,0 μ | 0,1—0,2 μ |
| XXIII | Wie bei XXII | 2—4—10-gliedrig, Ketten gestreckt | + | + | L. 0,4—0,5 μ B. 1,0 μ | kl. 0,1 μ gr. 0,2 „ |
| XXIV | dgl. | dgl. | + | + | dgl. | dgl. |
| XXV | Flüssigkeit klar. Flockiger, zäher Bodensatz. An der Wand haften zähe Flocken | 500—600-gliedrig, Ketten dicht verfilzt und knäuel-förmig verschlungen | + | + | L. 0,3—0,6 μ B. 0,8—0,9 „ | kl. 0,15 μ gr. 0,2—0,3 μ |
| XXVI | Flüssigkeit klar. Am Boden und an der Wand unregelmäßige Flocken | 10—40-gliedr., gestreckte od. leicht geschwungene Ketten | + | + | L. 0,4 μ B. 0,8—0,9 „ | kl. 0,15 μ gr. 0,3 „ |
| XXVII | Flüssigkeit trüb. Nach 3 Tagen Aufhellung und staubförmiger Niederschlag | 2—10-gliedrig, Ketten gestreckt | ± | — | Größe 0,4—0,8 μ | 0,1—0,25 μ |
| XXVIII | Flüssigkeit klar. Flockiger, lockerer Bodensatz. Auch an der Wand einige Flocken | 80—100-gliedrig, Ketten lose, geschlängelt | — | — | L. 1,0 μ B. 0,3—0,6 μ | 0,1—0,3 μ |

| Stamm | Makroskopisch | Mikroskopisch | | | | |
|--------|--|---|-----------|--------------|----------------------------------|----------------------------|
| | | Zahl der Glieder und Form der Ketten | Diploform | Querstellung | Länge und Breite der Körner | Kleiner und großer Abstand |
| XXIX | Flüssigkeit anfangs getrübt, später Aufhellung und schwacher homogener Bodensatz | 2—14-gliedrig, Ketten gestreckt | — | — | Größe 0,5—0,6 μ | 0,1—0,25 μ |
| XXX | Flüssigkeit klar. Am Boden lose zusammenhängende Flocken. An der Wand größere und kleinere zerfetzte Flocken | 10—120-gliedrig, Ketten gestreckt und geschwungen | \pm | \pm | L. 0,4—1,0 μ B. 0,4—1,0 „ | 0,1—0,2 μ |
| XXXI | Bouillon zuerst getrübt. Nach 36 Stunden erfolgt Aufhellung von oben her | 2—9—12-gliedrig, Ketten gestreckt oder leicht gewellt | \pm | + | L. 0,5—0,6 μ B. 0,6—0,8 „ | 0,1—0,2 μ |
| XXXII | dgl. | dgl. | \pm | + | dgl. | dgl. |
| XXXIII | dgl. | dgl. | \pm | + | L. 0,5 μ B. 0,8—0,9 μ | 0,1—0,2 μ |
| XXXIV | Flüssigkeit klar, starker, flockiger Bodensatz | 80—200-gliedrig, Ketten gewunden | — | — | L. 1,0—1,2 μ B. 0,5—1,0 „ | 0,1—0,3 μ |
| XXXV | Flüssigkeit klar. Grobflockiger, loser Bodensatz, der beim Schütteln leicht aufwirbelt | 300—600-gliedrig, Ketten verschlungen | + | — | Größe 0,8—0,9 μ | 0,15—0,3 μ |
| XXXVI | Flüssigkeit klar. Feinflockiger, zäher Bodensatz. An der Wand ebenfalls kleinere Flocken | 40—150-gliedrig, Ketten gestreckt | + | \pm | L. 0,5—0,8 μ B. 0,8—0,9 „ | kl. 0,1 μ gr. 0,2 „ |

Es ist schon versucht worden (Laabs), durch Aenderung des Alkaleszenzgrades der Bouillon die Eigenart der Kultur und die Größe und Gestalt der Streptokokken zu verändern, aber charakteristische Regelmäßigkeiten konnten auch bei dieser Differenzierungsmethode nicht gefunden werden.

Wachstum der Streptokokken auf anderen flüssigen Nährböden.

Außer Bouillon verwendete ich bei meinen Untersuchungen noch verschiedene andere flüssige Nährböden, wie:

Serumbouillon (2 Teile Bouillon und 1 Teil Rinderserum), Blutserum, Nutrose, Galle und Löfflersche Grünlösung.

Serumbouillon.

In Serumbouillon wuchsen die Streptokokken wie in Bouillon, nur etwas üppiger. Der Bodensatz war meist stärker als in gewöhnlicher Bouillon und mikroskopisch zeigten die Ketten meist eine Abnahme in ihrer Gliederzahl.

Rinderblutserum.

Das Blutserum kann man wohl als einen der besten Nährböden für die Streptokokken bezeichnen. Sie wuchsen hier besser und gleichmäßiger als in Bouillon. Die Flüssigkeit wurde von keinem einzigen Stamm getrübt und der Bodensatz war derselbe wie in Bouillon. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich die Korngröße und die Kornabstände regelmäßiger und die Abplattung der Körner ausgeprägter als in anderen Nährflüssigkeiten. Die Länge der Ketten war kleiner als in Bouillon.

Nutrose.

Das Wachstum der Streptokokken in Nutrose ist kein so kräftiges wie in Serum oder Bouillon. Mikroskopisch lassen sich keine morphologischen Unterschiede gegenüber der Bouillonkultur feststellen.

Galle

ist ebenfalls schon zur Züchtung der Streptokokken benutzt worden. Nach Mandelbaum (47) soll das taurocholsaure Natrium auf den Pneumococcus und den Streptococcus mucosus derart einwirken, daß diese aufgelöst werden. Bei meinen Untersuchungen, die ich mit Rindergalle anstellte, konnte ich diese Beobachtungen nicht bestätigen.

Löfflersche Grünlösung,

die ich hauptsächlich wegen ihres hohen Milchzuckergehaltes zur Differenzierung meiner Stämme benutzte, erwies sich als ein ganz ungeeigneter Nährboden für die Streptokokken. Nur in 2 Fällen konnte ich ein ganz spärliches Wachstum wahrnehmen

Feste Nährböden.

Von festen Nährböden kamen zur Verwendung: Kartoffel, erstarrtes Pferdeserum, Gelatinestich und Gelatineplatten, ferner Stich- und Strichkulturen von gewöhnlichem Agar, Glycerinagar, Traubenzuckeragar und Drigalski-Agar.

Kartoffelkulturen.

Bei sehr reichlicher Beimischung von Glycerinkartoffeln konnte ich etwa in der Hälfte der Fälle ein Wachstum wahrnehmen. Makroskopisch ist dieses nur in den seltensten Fällen und dann in Form eines mattgrauen Belags auf den Kartoffeln sichtbar. Im mikroskopischen Präparat bemerkte ich fast immer eine Zunahme der Korngröße. Die einzelnen Körner sahen aus wie gequollen, und die Abplattung derselben war, wenn vorhanden, sehr schwach ausgeprägt. Der Kornabstand verschwand meist ganz, so daß die Ketten das Aussehen einer gezackten Linie hatten. Die Gliederzahl war in allen Fällen klein.

Erstarrtes Serum.

Auf erstarrtem Serum gediehen die Streptokokken sehr gut, die Farbe der Kolonien unterschied sich aber von der des Nährbodens nicht, weshalb auch makroskopisch ein Wachstum schwer wahrzunehmen war.

Agar.

Agarstrich: Wie auf erstarrtem Serum, so zeigen die Streptokokken auch auf schrägem Agar ein Wachstum, das wegen der Farblosigkeit der Kolonien keine charakteristische Merkmale aufweist. Die Strichfläche erscheint matt und hat vielfach einen weißgrauen Schimmer. Auf Agar wachsen die Mastitisstreptokokken im allgemeinen viel gleichartiger als in Bouillon. Es zeigen sich aber auch hier je nach der Wachstumsintensität Verschiedenheiten in der Größe der Kolonien. Nach 24—36 Stunden wuchsen alle Stämme als äußerst kleine, kaum sichtbare, punktförmige, runde, undurchsichtige Kolonien von $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ mm Durchmesser. Während bei der Aussaat von pathogenen, aus Krankheitsprozessen stammenden Streptokokken zahlreiche, dichtstehende Kolonien aufgingen, bemerkte ich bei den saprophytischen Stämmen nur ein spärliches Wachstum. Die Kolonien erscheinen auf Agar bei durchfallendem

Lichte als matte, anfangs feuchte, später trockene Punkte und geben in ihrer Gesamtheit der Strichfläche ein granuliertes Aussehen. Im durchfallenden Lichte sind sie trüb und zeigen einen bläulichweisen oder grauen Schimmer. Bei dichtstehenden Kolonien ist das Wachstum meist in 2—3 Tagen vollendet, die einzelnen Kolonien konfluieren dabei nie. Das Kondenswasser ist in den meisten Fällen klar. Manchmal findet sich auf dem Grunde desselben ein kleiner flockiger Niederschlag.

Agarplatte: Im Plattenausguß wachsen bei reichlicher Aussaat auf Agar kleine weißliche Kolonien von rundlicher Form, welche selbst bei längerem Verweilen im Brutschrank die Größe eines Stecknadelkopfes nicht erreichen. Mikroskopisch erscheinen bei 50-facher Vergrößerung die Kolonien als flache oder wenig erhabene, rundliche Gebilde mit einem gekörnten, gelblichen Zentrum, einer weißen, meist wenig oder gar nicht gekörnten Randzone und einem glatten oder leicht wellig ausgebuchteten Rand. In Ausstrichpräparaten sieht man bei langen und kurzen Streptokokken eine Abnahme in der Gliederzahl. Die langen Streptokokken bilden auf Agar nur kurze Ketten von 2—8—10 Gliedern, und die kurzen gehen als einzelne Kokken auf und lassen sich von Staphylokokken nicht unterscheiden.

Im Kondenswasser der Schrägagarkulturen wachsen die langen Streptokokken vielgliedrig und bewahren auch deutlich den Charakter der Zell- und Kettenform.

Agarstich: Bei Agarstichkulturen sieht man nach 24 Stunden im durchfallenden Lichte meist nur einen matten, weißlichen, bandförmigen Streifen. Nach 36 Stunden erscheint das Band wie mit ganz feinen, matten, kaum sichtbaren Perlen besetzt. Das Wachstum ist auch hier nach 2—3 Tagen beendet.

Die Lebensfähigkeit der Streptokokken auf Agarkulturen und namentlich in Agarstich ist immer größer, als in flüssigen Nährböden. Oftmals trocknen aber die Kolonien sehr schnell ein und sind dann schwer übertragbar. Im allgemeinen sind die Streptokokken in Agar noch nach 20—30 Tagen keimfähig.

Glyzerinagar und Traubenzuckeragar.

Das Wachstum der Streptokokken auf Glyzerinagar und Traubenzuckeragar ist üppiger als auf gewöhnlichem Agar. Die Einzelkolonien sind hier wohl etwas größer, unterscheiden sich aber in ihrem Charakter nicht von den gewöhnlichen Agarkolonien.

Gelatine.

Gelatineplatten: Auf 15-proz. Gelatine bilden die Streptokokken bei 22° nach 24 Stunden ganz kleine, kaum sichtbare, helle durchscheinende Kolonien, welche die Farbe der Gelatine haben, manchmal auch grau oder bläulich gefärbt sind.

Gelatinestich: Im Gelatinestich wuchsen alle Mastitisstämme mit Ausnahme von 9 und 12. Von den übrigen Stämmen zeigten No. 28, 29 und 34 kein Wachstum. Die Stichtkultur hatte das gleiche Aussehen wie Agarstich.

Gelatineverflüssigung trat nie ein.

Drigalski-Agar.

Sämtliche meiner Stämme übertrug ich, um E. Fränkels Resultate nachzuprüfen, auf Drigalski-Platten. Bei $\frac{2}{3}$ der Mastitisstreptokokken konnte ich auf diesem Nährboden überhaupt kein Wachstum bemerken.

Von den anderen Stämmen wuchs *Str. pyog.* und *Str. erysip.* gut, die Colpitisstämme ließen nur ein spärliches Wachstum und erst nach 2 Tagen erkennen. Die saprophytischen Stämme gingen überhaupt nicht auf. Die dicht oder zerstreut liegenden Kolonien hatten die Farbe des Nährbodens. Das Wachstum zeigte keine charakteristischen Merkmale.

Spezielle Kulturversuche.

Unter diesen Versuchen fasse ich alle die Untersuchungen zusammen, die angestellt wurden zum Zwecke der Differenzierung der Streptokokken nach ihrem biologischen Verhalten verschiedenen Nährböden gegenüber.

Hämolyse.

Die Hämolyse meiner Stämme prüfte ich auf Blutagar und in Blutbouillon.

Nach Zangemeister u. a. spielt die Blutart bei diesen Versuchen keine Rolle. Laabs u. a. fanden dagegen, daß bei den verschiedenen Blutarten die Erscheinungen der Hämolyse nicht gleichmäßig zutage treten.

Ich selbst benutzte zu meinen Versuchen nur Rinder- und Ziegenblut, und zwar aus praktischen Gründen und dann hauptsächlich deshalb, weil die Mastitisstämme gerade für diese Tierarten besonders pathogen sind.

Das Blut entnahm ich mit einer sterilen Kanüle aus der Vena jugularis einer Kuh oder Ziege.

Bei der Herstellung der Blutagarplatten hielt ich mich genau an die Angaben Schottmüllers. Ich mischte, wie dieser, gewöhnlichen, flüssigen und auf 45° abgekühlten Agar mit frischem, nicht defibriertem Blut im Verhältnis 5:2. Je 7—10 ccm wurden dann in Petri-Schalen ausgegossen.

Außer Blutagarplatten kamen noch Blutbouillonröhrchen zur Verwendung. Die Blutbouillon stellte ich in der Weise her, daß ich, wie Schlegel (61), zu 10 ccm gewöhnlicher schwach alkalischer Bouillon 8 Tropfen steril entnommenes und defibriertes Blut zusetzte. Bei allen Versuchen mit Blutbouillon wurde mit den beimpften Röhrchen 1 unbeimpftes Kontrollgläschen in den Brutschrank gebracht.

Die Mastitisstämme wurden sowohl auf Blutagar als in Blutbouillon zweimal auf ihre hämolytischen Eigenschaften geprüft. Das erste Mal wurden die Nährböden direkt mit der steril entnommenen Milch und das zweite Mal mit einer Oese 24-stündiger Bouillonkultur beimpft. Die beimpften Blutagarplatten und Blutbouillonröhrchen wurden 6 Tage lang im Brutschrank gehalten und täglich kontrolliert.

Blutagar.

Auf Blutagar bildeten sich nach 12 Stunden kleine, kaum sichtbare, runde Kolonien von dunkelbrauner, graubrauner, grauer, grauweißer oder graugrüner Farbe. Der anfangs hellrote Blutagar nahm schon nach einigen Stunden eine dunkelrote oder braunrote Farbe im Brutschrank an. Manchmal lagen die Kolonien namentlich am Rand des Impfstriches sehr dicht aufeinander und bildeten eine zusammenhängende, graue schmierige Randzone. Die hämolytischen Stämme ließen schon nach 12 und deutlicher nach 24 Stunden einen ca. 2—3 mm breiten hellen, durchsichtigen, farblosen Hof um ihre Kolonien erkennen.

Die Abstrichpräparate boten im wesentlichen die gleichen Bilder, wie Abstriche von gewöhnlichem Agar.

Blutbouillon.

Bei der frisch hergestellten, diffus hellroten Blutbouillon konnte man nach einigen Stunden einen hellroten, später braun werdenden Bodensatz bemerken, der aus roten Blutkörperchen bestand. Ueber diesem roten Bodensatz lagerte in den beimpften Röhren ein weißer oder gelblicher, flockiger Niederschlag von Streptokokken, und darüber war die Bouillon meist klar oder nur wenig getrübt. Die mit stark hämolysierenden Streptokokken beimpften Röhren waren nach 12 Stunden diffus burgunderrot gefärbt, durchsichtig und zeigten keinen oder nur einen unbedeutenden Niederschlag von roten Blutkörperchen. Bei den schwach hämolysierenden Streptokokken konnte man nach 12 Stunden 3 verschieden gefärbte Schichten erkennen. Unten im Reagensglas lag ein rotbrauner, aus Blutkörperchen bestehender Bodensatz, dann folgte eine helle durchsichtige, burgunderrot gefärbte Zone und darüber war die Bouillon gelb und klar.

Nach dem Umschütteln war bei den nicht hämolytischen Stämmen die Blutbouillon undurchsichtig und von schmutzigbrauner Farbe und zeigte nicht selten einen Stich ins Grünliche, während sie bei den hämolytischen lackfarben war.

Die mikroskopische Untersuchung ergab auch hier keine wesentlichen Verschiedenheiten zwischen den Streptokokken der gewöhnlichen und denen der Blutbouillon.

Auf nachstehender Tabelle sind die Ergebnisse der Untersuchungen zusammengefaßt (Tab. s. p. 177).

Mit einigen Stämmen wiederholte ich später diese Hämolyseversuche. Die Stämme waren dieselben, nur waren sie öfters umgezüchtet. Ich fand dabei, daß Stamm II, der immer von Bouillon zu Bouillon übertragen wurde, sein hämolytisches Vermögen ganz verloren hatte. Stamm XVII, der abwechslungsweise in Bouillon und in Serum geimpft wurde, zeigte nach 12 Stunden und Stamm XXI, der in Bouillon und auf Agar gezüchtet wurde, nach 36 Stunden Hämolyse. Bei Stamm III, VI, XII und XIV stimmte das Resultat mit dem ersten überein. Es scheint demnach die Hämolyse eine veränderliche Eigenschaft der Streptokokken zu sein.

Nach diesen Untersuchungen prüfte ich meine Stämme:

- 1) auf ihr Milchgerinnungsvermögen,
- 2) auf H₂S-, Indol- und Ammoniakbildung,
- 3) auf ihr Reduktionsvermögen, und
- 4) auf ihr Säurebildungs- und Gärvermögen.

Milchgerinnung.

Zur Prüfung der Milchgerinnung benutzte ich sterilisierte Kuhmilch, die zu je 10 ccm in Reagensgläser abgefüllt war. Diese Milchröhren wurden mit 1 Oese 24-stündiger Bouillonkultur beimpft und mit einem unbeimpften Kontrollgläschen in den Brutschrank gestellt.

In Milch gediehen alle Streptokokken durchweg sehr gut. Makroskopisch war ein Wachstum wegen der Undurchsichtigkeit der Milch nicht bemerkbar, und im mikroskopischen Präparat wirkten namentlich die Fettkügelchen und Fettgerinnsel oft sehr störend.

Alle Streptokokken wuchsen in der Milch zu längeren Ketten aus und änderten ihre Gestalt und Größe oft erheblich. Kurzgliedrige Streptokokken wurden oft 10—40-gliedrig.

Die Mastitisstreptokokken brachten die Milch in der Regel schon nach 12—18 Stunden zum Gerinnen. Nach 18 Stunden zeigte die Milch

Hämolyse.

| Stamm | Blutagar | | | | | | Blutbouillon | | | | | | Farbe der Kolonien auf Blutagar | Farbe der Blutbouillon |
|--------|----------|----|----|----|----|----|--------------|----|----|----|----|----|---------------------------------|---|
| | Tag | | | | | | Tag | | | | | | | |
| | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | | |
| I | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | graubraune Kolonien | durchsicht. burgunderrot |
| II | - | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | dgl. | dgl. |
| III | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | grauweiß | undurchsichtig braun |
| IV | - | - | - | ± | ± | ± | - | - | ± | ± | ± | ± | dgl. | dgl. |
| V | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | " |
| VI | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | graubraun | durchsichtig braunrot |
| VII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | braun | undurchsichtig braun m. einem Stich ins Grüne |
| VIII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | dgl. |
| IX | - | - | - | ± | ± | ± | - | ± | ± | ± | ± | ± | " | " |
| X | - | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | grauweiß | " |
| XI | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | braun | undurchsichtig braun |
| XII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | dgl. |
| XIII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | " |
| XIV | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | graubraun | durchsicht. burgunderrot |
| XV | - | - | - | ± | ± | ± | - | - | - | ± | ± | ± | grau | undurchsichtig braun |
| XVI | - | - | - | ± | ± | ± | - | - | ± | ± | ± | ± | " | dgl. |
| XVII | - | - | - | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | " | " |
| XVIII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | braun | " |
| XIX | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | undurchsichtig braun mit grünlich. Schimmer |
| XX | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | graugrün | dgl. |
| XXI | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | graubraun | " |
| XXII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | grauweiß mit schmier. Randzone | " |
| XXIII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | dgl. | " |
| XXIV | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | grau | " |
| XXV | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | braun | undurchsichtig braun |
| XXVI | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | dgl. |
| XXVII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | grau, Randzone schmierig | " |
| XXVIII | ± | ± | + | + | + | + | ± | + | + | + | + | + | graubraun | durchsichtig braunrot |
| XXIX | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | undurchsichtig braun |
| XXX | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | dgl. |
| XXXI | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | braun | " |
| XXXII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | graubraun | " |
| XXXIII | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | " | " |
| XXXIV | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | grau " | undurchsichtig braunrot |
| XXXV | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | braun | durchsicht. burgunderrot |
| XXXVI | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | graubraun | dgl. |

feinflockige Gerinnsel und nach weiteren 12—24 Stunden bildete sich unten im Reagensglas eine feste, zuerst kompakte, später zerklüftete Schicht, über der sich eine klare, gelbliche Flüssigkeit abschied. Bei

den übrigen Stämmen konnte eine Milchgerinnung entweder gar nicht oder sehr spät beobachtet werden.

Schwefelwasserstoffbildung.

Zum Nachweis der Schwefelwasserstoffbildung wurden Streifen von Filtrierpapier, die mit einer konzentrierten Bleiacetatlösung getränkt waren, über frisch beimpfte Bouillonkulturen mittels des Wattestopfens im Reagensglase festgeklemmt. Die Streifen wurden von dem sich entwickelnden H_2S zuerst braun und dann schwarz gefärbt.

Indolbildung

konnte nur bei Stamm VI festgestellt werden. Zum Nachweis wurden 6-tägige Bouillonkulturen benutzt, die keinen Zucker enthielten. Je 10 ccm Kultur wurden mit 5 ccm 10-proz. H_2SO_4 und 1 ccm 1-prom. Natriumnitritlösung versetzt und erhitzt. Bei Stamm VI trat eine schwache Rotfärbung ein.

Ammoniakbildung

konnte bei keinem einzigen Stamm nachgewiesen werden. Bei der Untersuchung wurde ähnlich verfahren wie beim H_2S -Nachweis, nur wurden die Papierstreifen mit Nessler's Reagens getränkt.

Reduktion, Säurebildung und Vergärung.

Das Reduktionsvermögen der Streptokokken wurde in Lackmusbouillon und Neutralrotbouillon geprüft.

Zur Prüfung der Säurebildung verwendete ich Lackmusmolke, Lackmusbouillon, 2-proz. Traubenzucker-Lackmusbouillon, Milchzucker-Lackmusbouillon und Mannit-Lackmusbouillon, ferner Barsiekow-Traubenzucker, Barsiekow-Milchzucker und Barsiekow-Mannit.

Die zuckerhaltigen Nährlösungen wurden in Gärröhrchen abgefüllt und so zugleich zur Prüfung des Gärvermögens benutzt.

Die folgenden Tabellen fassen die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammen (Tab. s. p. 180).

Bei meinen Kulturversuchen konnte ich bemerken, daß die Streptokokken in Neutralrotbouillon nur schlecht gediehen. Das Wachstum in gewöhnlicher Lackmusbouillon war dagegen ein besseres. Die blaue Farbe der Lackmusbouillon wurde bei der Reduktion oft schon nach 24 Stunden, oft aber auch erst nach 2—3 Tagen in eine graue umgewandelt oder bei stark reduzierenden Stämmen ganz entfärbt. Stamm VI reduzierte am kräftigsten. Die Kultur war bei diesem nach 24 Stunden völlig entfärbt. Nach Entfernung des Wattestopfens entstand an der Oberfläche wieder ein blauer Ring und nach mehrmaligem Umschütteln erlangte die Lackmusbouillon ihre blaue Farbe wieder.

Die Reduktion in Neutralrotbouillon und Lackmusbouillon ist graduell verschieden, was wohl auf eine ungleiche Wachstumsintensität oder auf eine Hemmung des Wachstums durch Neutralrot zurückzuführen ist.

In zuckerhaltigen Nährböden konnte in allen Fällen ein mächtiges Wachstum der Streptokokken konstatiert werden.

Die Barsiekowschen Zuckerlösungen wurden mit Ausnahme von Barsiekow-Mannit im allgemeinen schnell gerötet.

Die mit zuckerhaltiger Lackmusbouillon gefüllten Gärröhrchen zeigten nach 12 Stunden nur im untersten, gebogenen Teile eine starke Rötung. In der Mitte des Röhrchens war die Bouillon entweder grau oder ganz entfärbt und im obersten Teile war die blaue Farbe meist noch unverändert. Erst nach 24—36 Stunden trat eine diffuse Rotfärbung ein. Die Nährböden

| Stamm | Gelatine- ver- flüssigung | Farbstoff- bildung | H ₂ S-Bildung | Milch- gerinnung | Reduktionsvermögen | |
|--------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| | | | | | Neutralrotbouillon | Lackmusbouillon |
| I | — | — | ± | Gerinnung nach 12 Std. | SchwacheReduktion nach 24 Stunden | SchwacheReduktion nach 18 Stunden |
| II | — | — | — | dgl. | keine | keine |
| III | — | — | ± | Gerinnung nach 18 Std. | SchwacheReduktion nach 24 Stunden | SchwacheReduktion nach 18 Stunden |
| IV | — | — | — | dgl. | SchwacheReduktion nach 12 Stunden | dgl. |
| V | — | — | — | Gerinnung nach 12 Std. | keine | keine |
| VI | — | — | + | dgl. | DeutlicheReduktion nach 24 Stunden | Starke Reduktion nach 18 Stunden |
| VII | — | — | + | " | SchwacheReduktion nach 24 Stunden | Starke Reduktion nach 24 Stunden |
| VIII | — | — | — | " | keine | keine |
| IX | — | — | — | Gerinnung nach 24 Std. | " | " |
| X | — | — | — | Gerinnung nach 18 Std. | " | " |
| XI | — | — | — | Gerinnung nach 24 Std. | " | SchwacheReduktion nach 24 Stunden |
| XII | — | — | — | dgl. | " | dgl. |
| XIII | — | — | + | " | SchwacheReduktion nach 24 Stunden | Starke Reduktion nach 24 Stunden |
| XIV | — | — | — | " | keine | keine |
| XV | — | — | — | " | " | " |
| XVI | ± | — | — | " | " | " |
| XVII | — | — | — | " | " | " |
| XVIII | — | — | — | " | " | " |
| XIX | — | — | — | " | " | " |
| XX | — | — | — | " | " | " |
| XXI | ± | — | + | " | SchwacheReduktion | SchwacheReduktion |
| XXII | — | — | — | " | keine | keine |
| XXIII | — | — | ± | " | " | SchwacheReduktion nach 24 Stunden |
| XXIV | — | — | — | " | " | " |
| XXV | — | — | — | " | " | " |
| XXVI | — | — | ± | " | " | SchwacheReduktion nach 24 Stunden |
| XXVII | — | — | — | " | " | keine |
| XXVIII | ± | — | — | Gerinnt nicht | " | " |
| XXIX | — | — | — | " | " | " |
| XXX | ± | — | — | Gerinnung nach 3 Tag. | " | " |
| XXXI | — | — | — | Gerinnt nicht | " | " |
| XXXII | — | — | — | " | " | " |
| XXXIII | — | — | — | " | " | " |
| XXXIV | — | — | — | Gerinnung nach 4 Tag. | " | " |
| XXXV | — | — | — | Gerinnung nach 2 Tag. | " | " |
| XXXVI | — | — | — | dgl. | " | " |

mit Mannitzusatz wurden in keinem einzigen Falle gerötet. Lackmus-
molke wurde im allgemeinen nur von den Mastitisstreptokokken gerötet.

Daß die Säurebildung in neutraler Bouillon sehr gering ist, zeigt
der Versuch mit Lackmusbouillon. Manchmal trat hier vor oder nach
der Rötung eine schwache Entfärbung ein.

| Stamm | Lackmus-bouillon | Lackmus-molke | Barsiekow-Trauben-zucker | | Barsiekow-Milch-zucker | | Barsiekow-Mannit | | Lackmus-Trauben-zucker-bouillon | | Lackmus-Milch-zucker-bouillon | | Lackmus-Mannit-bouillon | | Trauben-zuck.-agar |
|-------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------|----------------------------|-----------|------------------|-----------|---------------------------------|-----------|-------------------------------|-----------|-------------------------|-----------|--------------------|
| | Rötung | Rötung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Vergärung |
| I | keine | leichte Rötung nach 12 Std. | starke Rötung nach 12 Std. | — | starke Rötung nach 12 Std. | — | keine Rötung | — | Rötung nach 12 Std. | — | Rötung nach 12 Std. | — | keine Rötung | — | keine |
| II | „ | „ dgl. | „ dgl. | — | „ dgl. | — | dgl. | — | starke Rötung nach 12 Std. | — | dgl. | — | dgl. | — | „ |
| III | „ | „ | „ | — | „ | — | „ | — | dgl. | — | „ | — | „ | — | „ |
| IV | leichte Rötung nach 2 Tagen | „ | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| V | keine | „ | leichte Rötung nach 12 Std. | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| VI | leichte Rötung nach 2 Tagen | „ | dgl. | — | „ | — | „ | — | Rötung nach 24 Std. | — | „ | — | „ | — | „ |
| VII | leichte Rötung nach 3 Tagen | „ | starke Rötung nach 12 Std. | — | „ | — | „ | — | dgl. | — | „ | — | „ | — | „ |
| VIII | dgl. | Rötung nach 24 Std. | dgl. | — | „ | — | „ | — | starke Rötung nach 12 Std. | — | „ | — | „ | — | „ |
| IX | „ | Rötung nach 12 Std. | „ | — | „ | — | „ | — | dgl. | — | „ | — | „ | — | „ |
| X | keine Rötung nach 2 Tagen | „ | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| XI | keine Rötung nach 2 Tagen | „ | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| XII | keine | „ | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| XIII | „ | „ | Rötung nach 24 Std. | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| XIV | leichte Rötung nach 2 Tagen | „ | dgl. | — | „ | — | „ | — | starke Rötung nach 12 Std. | — | „ | — | „ | — | „ |
| XV | leichte Rötung nach 3 Tagen | „ | starke Rötung nach 12 Std. | — | „ | — | „ | — | dgl. | — | „ | — | „ | — | „ |
| I | dgl. | „ | Rötung nach 12 Std. | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| XVII | „ | „ | dgl. | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |
| XVIII | „ | „ | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ | — | „ |

| Stamm | Lackmusbouillon | Lackmusmolke | Barsiekow-Traubenzucker | | Barsiekow-Milchzucker | | Barsiekow-Mannit | | Lackmus-Traubenzuckerbouillon | | Lackmus-Milchzuckerbouillon | | Lackmus-Mannitbouillon | | Traubenzucker-agar |
|--------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|------------------|-----------|-------------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|------------------------|-----------|--------------------|
| | Rötung | Rötung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung | Vergärung | Säuerung |
| XIX | keine Rötung | Rötung nach 12 Std. | Rötung nach 24 Std. | | starke Rötung nach 12 Std. | | keine Rötung | | Rötung nach 12 Std. | | starke Rötung nach 12 Std. | | keine Rötung | | keine |
| XX | dgl. | dgl. | Rötung nach 12 Std. | | dgl. | | dgl. | | dgl. | | dgl. | | dgl. | | " |
| XXI | " | " | " | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXII | leichte Rötung nach 2 Tagen | " | " | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXIII | dgl. | " | Rötung nach 24 Std. | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXIV | keine | Rötung nach 24 Std. | Rötung nach 12 Std. | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXV | " | Rötung nach 12 Std. | dgl. | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXVI | " | dgl. | " | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXVII | leichte Rötung nach 2 Tagen | " | " | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXVIII | keine | keine | Rötung nach 24 Std. | | keine Rötung | | " | | Rötung nach 24 Std. | | keine Rötung | | " | | " |
| XXIX | " | " | dgl. | | dgl. | | " | | Rötung nach 12 Std. | | dgl. | | " | | " |
| XXX | " | leichte Rötung nach 3 Tagen | " | | Rötung nach 3 Tagen | | " | | leichte Rötung nach 24 Std. | | leichte Rötung nach 24 Std. | | " | | " |
| XXXI | leichte Rötung am 4. Tag | keine Rötung | Rötung nach 12 Std. | | keine | | " | | dgl. | | keine | | " | | " |
| XXXII | Rötung am 3. Tag | dgl. | dgl. | | " | | " | | " | | " | | " | | " |
| XXXIII | dgl. | " | " | | " | | " | | Rötung nach 12 Std. | | " | | " | | " |
| XXXIV | " | " | Rötung nach 24 Std. | | " | | " | | dgl. | | " | | " | | " |
| XXXV | keine | Rötung nach 24 Std. | dgl. | | leichte Rötung nach 3 Tagen | | " | | " | | Rötung nach 3 Tagen | | " | | " |
| XXXVI | " | dgl. | " | | dgl. | | " | | " | | dgl. | | " | | " |

Virulenz der Streptokokken.

Gleichzeitig wurde neben den Kulturversuchen die Virulenz der Streptokokken an weißen Mäusen geprüft.

Die Tiere wurden teils direkt mit dem Milcheiter unter die Haut, teils mit 24-stündiger Bouillonkultur subkutan oder intraperitoneal geimpft.

Da sie auf kleinere Dosen des Impfmateri als in der Regel gar nicht reagierten, so wurde ihnen eine verhältnismäßig große Menge, nämlich $\frac{1}{2}$ —1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, einverleibt.

In der folgenden Tabelle sind auch diese Impfversuche zusammengestellt (Tab. s. p. 184).

Außer dieser einfachen Virulenzbestimmung der Streptokokken stellte ich Untersuchungen darüber an, ob die Virulenz der Streptokokken durch fortwährende Verimpfung auf weiße Mäuse sich für diese Tierart steigern läßt.

Ich benutzte zu diesen Versuchen Bouillonkulturen, die von den Organen der Mäuse 7, 20 und 22 angelegt wurden. Stamm VI wurde 4mal von Maus zu Maus übertragen, und zwar wurde immer $\frac{1}{2}$ ccm intraperitoneal injiziert. Alle diese Mäuse starben nach 3 Tagen, also 1 Tag später als die zuerst geimpfte Maus. Von den zwei mit Bouillonkulturen von Maus 21 und 22 geimpften Mäusen starb, trotzdem 1 ccm intraperitoneal injiziert wurde, die eine überhaupt nicht und die andere erst nach 13 Tagen, brauchte also 6 Tage länger als die zuerst geimpfte. Auch nach subkutaner Impfung konnte durch Uebertragung der Streptokokken von der Impfstelle aus auf andere Mäuse keine Virulenzsteigerung erreicht werden.

Schon öfters wurde versucht, eine Virulenzsteigerung der Streptokokken unter Zuhilfenahme anderer Versuchstiere herbeizuführen, aber einigende Resultate wurden seither nicht erzielt. Ich unterließ es auch, weitere Versuche darüber anzustellen; denn mich interessierte, da die Colpitisstreptokokken morphologisch und kulturell von den Mastitisstreptokokken sehr schwer oder überhaupt nicht zu unterscheiden sind, in erster Linie die Frage:

Können die Streptokokken des ansteckenden Scheidenkatarrhs eine Euterentzündung hervorrufen und hat diese in ihrem Verlaufe eine Aehnlichkeit mit der unter dem Namen „gelber Galt“ gehenden Streptokokkenmastitis?

Um diese Frage zu beantworten, impfte ich eine mir zur Verfügung stehende Ziege mit Streptokokken des ansteckenden Scheidenkatarrhs.

Vor der Impfung wurde das Tier genau untersucht. Die Ziege, die wenig Milch mehr gab, war fieberfrei und das Euter zeigte makroskopisch keine Zeichen irgendeiner Entzündung und auch die Untersuchung der Milch ließ auf keine solche schließen. Mikroskopisch zeigte der Milchausstrich keine Leukocyten. Bei der Koch- und Alkoholprobe gerann die Milch nicht.

Nach diesen Untersuchungen wurden in das rechte Euter der betreffenden Ziege 5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur durch den Zitzenkanal vorsichtig injiziert.

Schon 12 Stunden nach der Impfung war das rechte Euter vermehrt warm, etwas gerötet und leicht geschwollen. 24 Stunden nach der Impfung waren die Entzündungserscheinungen stärker, und die Milch war dick und von grauer Farbe. Mehrtägiges Stehen ließ die Milch unverändert, bei der Koch- und Alkoholprobe dagegen trat rasch Gerinnung ein. Im Milchausstrich zeigten sich neben zahlreichen Leukocyten feine, 4—8—12-gliedrige Streptokokken mit deutlicher Querstellung und Diploform. Die Länge des Kernes schwankte zwischen 0,2—0,4 μ

| Maus No. | Stamm No. | Tag der Impfung | Impfmateriale und Art der Einverleibung | Tod erfolgte am | Sektionsbefund der verendeten Tiere |
|----------|-----------|-----------------|--|-----------------|--|
| 1 | I | 12. 1. | 1 Oese Eutersekret, subkutan | lebt | — |
| 2 | II | 16. 1. | 2 Oesen Eiter, subkutan | „ | — |
| 3 | III | 20. 1. | 2 Oesen Eutersekret, subkutan | „ | — |
| 4 | IV | 23. 1. | 2 Oesen Eiter, subkutan | „ | — |
| 5 | V | 24. 1. | $\frac{1}{2}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur, subkutan | „ | — |
| 6 | VI | 10. 2. | $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur, subkutan | „ | — |
| 7 | VI | 10. 2. | $\frac{1}{2}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur, intraperitoneal | 12. 2. | Lymphdrüsen geschwollen, sulzig. Peritonitis. Der Darm ist gasig aufgetrieben und gelb verfärbt. Dem serösen Ueberzug des Darmes ist ein graues fibrinöses Exsudat aufgelagert. Die Milz ist geschwollen und blaurot. Die Nieren und Leber sind ebenfalls geschwollen. Die bakterioskopische Untersuchung des fibrinösen Exsudats ergibt zahlreiche Kokken und Diplokokken, die in Bouillon zu 6—8-gliedrigen Streptokokken auswachsen. |
| 8 | VII | 15. 2. | $\frac{1}{2}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur, intraperitoneal | lebt | — |
| 9 | VIII | 15. 2. | | „ | — |
| 10 | IX | 15. 2. | | „ | — |
| 11 | X | 15. 2. | | „ | — |
| 12 | XI | 15. 2. | | „ | — |
| 13 | XII | 16. 2. | $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur, intraperitoneal | „ | — |
| 14 | XIII | 17. 2. | 1 ccm Bouillonkultur, intraperitoneal | 20. 2. | Bauchfell- und Darmentzündung. Milz und Leber sind sehr stark geschwollen, die Nieren dagegen weniger. Die bakterioskopische Untersuchung der Leber ergibt zahlreiche Diplokokken. In dem Milz- und Herzblutausstrich ist nichts zu finden. Vom Herzblut, Leber und Milzblut wird je 1 Kultur angelegt. In sämtlichen 3 Bouillonkulturen sind nach 24 Stunden 2—16-gliedrige Streptokokken nachweisbar. |
| 15 | XIV | 17. 2. | 1 ccm Bouillonkultur, intraperitoneal | 25. 2. | Sektionsbefund wie bei Maus No. 7. |
| 16 | XV | 18. 2. | 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, intraperitoneal | lebt | — |
| 17 | XVI | 18. 2. | | „ | — |
| 18 | XVII | 18. 2. | | „ | — |
| 19 | XVIII | 18. 2. | | „ | — |

| Maus No. | Stamm No. | Tag der Impfung | Impfmateri- al und Art der Einver- leibung | Tot er- folgte am | Sektionsbefund der verendeten Tiere | | |
|----------|-----------|-----------------|--|----------------------|---|---|---|
| 20 | XIX | 20. 2. | 1 ccm Bouillonkul- tur, intraperitoneal | 27. 2. | Milz, Leber und Nieren geschwollen. Der Darm enthält eine gelbsulzige Masse und ist zum Teil gasig auf- getrieben. In der Leber und Lunge sind einige kleine Eiterherdchen von 1/2 mm im Durchmesser. Die Ausstriche von Leber und Lunge zeigen viele Kokken und Diplokokken. Die aus Herzblut angelegte Kultur läßt zahlreiche Diplokokken und 4 bis 10-gliedrige Streptokokken erkennen. | | |
| 21 | XX | 22. 2. | 1 ccm Bouillonkul- tur, intraperitoneal | lebt | — | | |
| 22 | XXI | 22. 2. | 1 ccm Bouillonkul- tur, intraperitoneal | 10. 2. | Sektionsbefund wie bei Maus No. 20. Die Eiterherdchen in der Leber sind zahlreicher. Aus Leber, Milz und Herzblut wurden Bouillonkulturen angelegt. Die Kultur aus Leber zeigt zahlreiche kurze Streptokokken in Reinkultur. | | |
| 1 | XXII | } 28. 2. | } 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, in- traperitoneal | lebt | — | | |
| 3 | XXIII | | | „ | — | | |
| 4 | XXIV | | | „ | — | | |
| 5 | XXV | | | „ | — | | |
| 6 | XXVI | | | } 4. 3. | „ | — | |
| 9 | XXVII | | | | „ | — | |
| 10 | XXVIII | | | } 6. 3. | „ | — | |
| 11 | XXIX | | | | „ | — | |
| 12 | XXX | | | | „ | — | |
| 13 | XXXI | | | } 10. 3. | } 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, in- traperitoneal | „ | — |
| 16 | XXXII | | | | | „ | — |
| 17 | XXXIII | | | | | „ | — |
| 18 | XXXIV | 12. 3. | 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, in- traperitoneal | „ | — | | |
| 19 | XXXV | 18. 3. | 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, in- traperitoneal | „ | — | | |
| 23 | XXXVI | 20. 3. | 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur, in- traperitoneal | 29. 3. | Sektionsbefund wie bei Maus 20. | | |

und dessen Breite zwischen 0,4--0,7 μ . Der Kornabstand betrug 0,1 bis 0,2 μ . Diese mit Colpitisstreptokokken künstlich erzeugte Mastitis blieb bis zur Schlachtung des Tieres, die 17 Tage nach der Impfung erfolgte, bestehen.

5 Tage vor dem Tode des Tieres machte ich an der linken Euterhälfte, ebenfalls nach vorausgegangener Untersuchung, einen 2. Impfversuch mit dem saprophytischen Stamm XXVIII. Es wurden diesmal 10 ccm einer 24-stündigen Kultur in den Zitzenkanal eingespritzt. Bemerken möchte ich noch, daß einige Stunden nach dieser Einspritzung zum Zwecke anderer Versuche die Ziege mit Paratyphus intraperitoneal geimpft wurde. 12 Stunden nach der Impfung mit Streptokokken war

die linke Euterhälfte bedeutend geschwollen, schwach gerötet und schmerzhaft. Die Euterlymphdrüse war ebenfalls etwas vergrößert. Die Milch war dickflüssig, grau und gerann erst beim Kochen und bei der Alkoholprobe. Im Milchausstrich konnten sehr viele Leukocyten, wenig Diplokokken und kurze Streptokokken bis zu 8 Gliedern nachgewiesen werden.

Die einzelnen Körner waren kugelig und zeigten weder Abplattung noch diploförmige Anordnung. Die Korngröße schwankte zwischen 0,5 bis 0,6 μ und der Abstand zwischen 0,1—0,3 μ . Von steril aus dieser Euterhälfte entnommener Milch wurde eine Bouillonkultur angelegt, in der nach 24 Stunden 4—12-gliedrige Streptokokken in großer Zahl nachgewiesen werden konnten. Die Form und Größe entsprach denen des Milchausstriches.

Nach 24 Stunden hatte die Euterentzündung weder zu- noch abgenommen. Das Allgemeinbefinden der Ziege war nicht gestört. Die Milch war nach dieser Zeit eiterig-klümprig und von gelbgrauer Farbe. Im Milchausstrich fanden sich Streptokokken in erheblich größerer Zahl als 12 Stunden vorher. Nach weiteren 12 Stunden war ein hühnerei-großer Knoten im Euter fühlbar.

Beide Impfversuche lieferten also ein positives Resultat und zeigen, daß sowohl die Erreger des ansteckenden Scheidenkatarrhs als auch saprophytische Streptokokken der Stallluft Euterentzündungen hervorrufen können.

Zusammenfassung.

Die Stämme I—XXVI stammten alle von streptokokkenkranken Eutern. Obwohl der klinische Befund der Milchdrüse in jedem Falle etwas verschieden war, so bot er doch zusammen mit den augenfälligen Veränderungen der Milch Anhaltspunkte, die wenigstens die Feststellung der Streptokokkenmastitis erleichtern. Schwieriger wird aber die Diagnose immer werden im Anfangsstadium der Mastitis und bei chronischen Fällen, wenn makroskopische Veränderungen der Milch fehlen und die Erscheinungen einer Euterentzündung nur wenig ausgeprägt oder gar nicht erkennbar sind. Allzu viel Wert ist jedoch auf den klinischen Befund und auf die makroskopische Milchveränderung beim Nachweis der Streptokokkenmastitis nicht zu legen, viel wichtiger ist eine exakte bakterioskopische Milchuntersuchung.

Zur Untersuchung der Marktmilch auf Beimengung von Milch streptokokkenkranker Euter wird von vielen Milchhygienikern die Trommsdorffsche Leukocytenprobe empfohlen. Da aber, wie neuere Untersuchungen dargetan haben, der Leukocytengehalt der Milch auch bei gesunden Kühen und unter normalen physiologischen Verhältnissen großen Schwankungen unterworfen ist, so genügt diese Methode allein nicht zur Feststellung der Streptokokkenmastitis. Es ist deshalb eine bakterioskopische und kulturelle Milchuntersuchung absolut notwendig.

Zum Nachweis der Streptokokkenmastitis genügt bei steril entnommenen Milchproben die Feststellung eines hohen Leukocytengehaltes und das gleichzeitige Vorhandensein von Streptokokken.

Werden durch die bakterioskopische Untersuchung des Bodensatzes zentrifugierter, nicht steril entnommener Milch eine vermehrte Leukocytose und Streptokokken festgestellt, so deutet dieser Befund noch nicht mit aller Sicherheit auf eine bestehende Streptokokkenmastitis hin. Dies ist namentlich für die Untersuchung der Marktmilch wichtig, weil es hier schwer ist, zu entscheiden, ob man es mit einer normalen, physiologischen oder mit einer auf Entzündung des Euters beruhenden Leukocytose und mit pathogenen oder saprophytischen Streptokokken zu tun hat.

In Fällen, wo bei der Untersuchung steril entnommener Proben nur eine vermehrte Leukocytose und keine Bakterien oder Leukocytose und nur Monokokken und Diplokokken im Bodensatzausstrich festgestellt werden können, muß das kulturelle Verfahren entscheiden, ob eine Streptokokkenmastitis vorliegt oder nicht.

Ernst spricht gewisse Formeigentümlichkeiten als charakteristische Merkmale der pathogenen Streptokokken an. Wenn in der Marktmilch Streptokokken gefunden werden, die diese Merkmale, wie Querstellung, kapselartige Umhüllung oder diplokokkenförmige Anordnung der Teilglieder, aufweisen, so ist dies nach ihm ein Zeichen dafür, daß die Streptokokken aus dem Tierkörper stammen und daß der Mischmilch Milch von streptokokkenkranken Eutern beigemischt ist.

Ich kann nach eigenen Beobachtungen der Ansicht Ernsts nicht ganz beipflichten.

Bei meinen Untersuchungen habe ich gefunden, daß die Länge und Form der Ketten, sowie Größe, Form und Anordnung der einzelnen Teilglieder außerordentlich wechselt. Bald sieht man im Ausstrich nur Kokken oder Diplokokken, bald Streptokokken von 4—10—12 oder solche von 100—1000 und mehr Gliedern. Die Gliederzahl bei einem Stamm ist nur selten scharf begrenzt. Man sieht oft unter kurzen Streptokokken vereinzelt längere und unter längeren wieder ganz kurze Ketten. Auch die Größe der Körner ist, wie der Abstand derselben, in einer Kette sowohl, als auch bei ein und demselben Stamm oft gleich, oft aber auch sehr verschieden. Alle meine Mastitisstämme zeigen die von Rabe für die Drusestreptokokken schon beschriebene starke Abplattung ihrer Einzelkörner, so daß eine Kette wie aus vielen quergestellten Teilstrichen zusammengesetzt erscheint. Bei dem Milchsäurestamm XXVII fehlte die Querstellung, es waren aber im mikroskopischen Bilde auch hier Ketten zu sehen, die kugelige und leicht abgeplattete Körner enthielten. Bei dem saprophytischen Stamm XXX konnte ich sogar Ketten mit durchgehender Querstellung der Körner einzelner Ketten bemerken. Die Vaginitisstämme XXXI, XXXII und XXXIII habe ich nicht direkt, sondern erst in Kultur untersucht und fand auch bei diesen eine leichte Abplattung, die eigentümlicher Weise in der Milchkultur schärfer zum Ausdruck kam. Die Korngröße und der Kornabstand waren bei den Scheidenstreptokokken kleiner als bei den Mastitisstreptokokken. Bei Stamm XXXIV, dem die Querstellung ganz fehlte, konnte ich in der Milchkultur ebenfalls eine leichte Abplattung bemerken. Bei Stamm XXVIII, XXIX und XXXIV hatten die Körner eine kugelige oder längsovoide Form, die Meyer auch bei Mastitisstreptokokken beobachtete.

Sämtliche Mastitisstämme, mit Ausnahme von Stamm XIV, zeigten diplokokkenförmige Anordnung ihrer Teilglieder. Der Milchsäurestamm XXVII zeigte vereinzelt und schwache, der Saprophyt XXX dagegen etwas deutlichere Diploform.

Bei Stamm XXXV und XXXVI war die Diploform so deutlich wie bei den Milchstreptokokken.

Durch Verimpfung des Scheidenstreptococcus in das Euter einer Ziege wurde künstlich eine katarrhalische Mastitis erzeugt, in deren Verlauf Streptokokken ausgeschieden wurden, die deutliche Querstellung und Diploform zeigten und von echten Mastitisstreptokokken nicht zu unterscheiden waren.

Der saprophytische Stamm XXVIII erzeugte im Ziegeneuter eine typische, akute Streptokokkenmastitis; den mit der Milch ausgeschiedenen Streptokokken fehlte aber die Querstellung.

Man kann hieraus entnehmen, daß Querstellung und Diploform zwar vorwiegend den Mastitisstreptokokken eigen sind, man trifft diese morphologische Eigentümlichkeit aber auch zuweilen bei saprophytischen Streptokokken und hier auch bei solchen, die wegen ihrer großen Verbreitung im Kuhstall in erster Linie als saprophytische Milchstreptokokken angesprochen werden müssen. Mit solchen Streptokokken kann man auch, wie die Impfversuche zeigen, künstlich Euterentzündungen hervorrufen, im Verlauf deren die Milch teils Streptokokken mit ausgesprochener Querstellung und Diploform teils Streptokokken enthält, denen diese Formeigentümlichkeiten fehlen.

Für die praktische Milchuntersuchung ergibt sich aus dem bisher Gesagten die Notwendigkeit einer sterilen Milchentnahme zum einwandfreien Nachweis der Streptokokkenmastitis.

Einfacher wäre es allerdings, wenn wir mit Hilfe des Kulturverfahrens imstande wären, eine Unterscheidung zwischen pathogenen und saprophytischen Streptokokken zu treffen. Wie aber viele Untersuchungen zeigen, ist auch die Kulturmethode für sich allein nur ein unsicheres Hilfsmittel zur Feststellung der Streptokokkenmastitis.

Ich habe meine Stämme auf verschiedenen Nährböden gezüchtet und dabei hauptsächlich auf morphologische Veränderungen der Streptokokken geachtet und ihre biologischen Fähigkeiten und Eigentümlichkeiten zu prüfen gesucht.

Meine Untersuchungen zeigten mir, daß es oft außerordentlich schwer ist, die Streptokokken durch das Plattenverfahren zu isolieren. Namentlich, wenn die Milch aus streptokokkenkranken Eutern stark mit anderen Mikroorganismen verunreinigt ist, gelingt eine Reinzüchtung der Streptokokken nur schwer und in den meisten Fällen überhaupt nicht. Die Ursache hierfür ist in dem schlechten Wachstum der Streptokokken auf künstlichen Nährböden zu suchen.

Bei meinen Kulturversuchen konnte ich bemerken, daß die Streptokokken bei der Züchtung die mannigfachsten morphologischen Veränderungen erlitten, trotzdem sie unter gleichen Verhältnissen kultiviert wurden. Das Aussehen der Nährböden war dabei teils konstant, teils aber auch sehr wechselnd.

Schon das Bouillonwachstum, das von verschiedenen Forschern, wie: Behring, Kurth u. a., als typisch und konstant für manche Streptokokkenarten bezeichnet wurde, bot bei meinen Untersuchungen ein sehr abwechslungsreiches Bild dar. Ich kann deshalb das Aussehen und die Beschaffenheit des Bouillonbodensatzes ebensowenig wie die Form und Länge der Ketten als charakteristische Unterscheidungsmerkmale ansehen.

Auch das Wachstum auf anderen flüssigen und festen Nährböden wie: Serumbouillon, Serum, Nutrose, Galle, Kartoffel, erstarrtes Serum, Agar, Gelatine und Drigalski-Agar gestatteten weder eine Differenzierung der Mastitisstreptokokken unter sich, noch eine Unterscheidung von pathogenen und saprophytischen Streptokokken.

Nach den Versuchen mit Blutnährböden kam nur 4 Mastitisstreptokokken die Fähigkeit der Hämolsinbildung zu. Stamm I, VI, XIV, ließen schon nach 12 Stunden einen breiten hellen Hof auf Blutagar erkennen. Bei Stamm II trat die Hämolyse erst am 2. Tag ein. Bei Stamm IX, X, XV, XVI und XVIII war die Hämolyse am 2.—4. Tage angedeutet. Der Milchsäurestamm XXVII und die saprophytischen Stämme XXIX und XXX, ferner die Colpitisstämme zeigten keinerlei Hämolyse. Auch die Mastitisstämme: III, V, VII, VIII, XI und XII—XIV ließen eine Hofbildung auf Agar nicht erkennen. Bei Stamm XXIV war

ein Hof stark angedeutet und der saprophytische Stamm XXVIII hämolytierte am 2. bzw. 3. Tage.

Die Stämme I, II, VI und XIV wären sowohl nach ihrem hämolytischen Vermögen, als nach dem Aussehen der Kultur in die Gruppe der hämolytischen Streptokokken einzureihen. Die übrigen Stämme, die gar nicht hämolytierten, oder bei denen ein Hof nur angedeutet war, nehmen eine Mittelstellung zwischen dem *Streptococcus mucosus* und dem *Strept. mitior* ein, sie sind aber eher dem letzteren beizuordnen.

Eine Farbstoffbildung oder Gelatineverflüssigung konnte in keinem Falle bemerkt werden. Bei den Gelatinekulturen der Stämme XVI, XXI und XXVIII schien am 6. Tage eine Verflüssigung angedeutet.

Indolbildung konnte nur bei Stamm VI in geringem Grade nachgewiesen werden. Dieser Stamm zeichnete sich auch durch seine starke H_2S -Bildung aus. Letztere Eigenschaft kam den Stämmen VIII, XIII und XXI ebenfalls zu. Bei Stamm I, III, XXIII und XXVI war die H_2S -Bildung nur gering. Es scheint die H_2S -Bildung auch mit dem Reduktionsvermögen der Streptokokken im Zusammenhang zu stehen.

Das Säurebildungsvermögen war bei den Mastitisstreptokokken zwar gleich stark, aber in den einzelnen Nährlösungen verschieden.

Lackmusmolke wurde nur von den Mastitisstreptokokken und dem Milchsäurestamm XXVII gerötet. Alle zeigten in diesem Nährboden ein gutes Wachstum.

Sowohl in Barsiekow-Milchzucker als auch in Lackmusmilchzuckerbouillon wuchsen die Mastitisstreptokokken und der Milchsäurestamm üppiger, als alle anderen Stämme und röteten die Flüssigkeit innerhalb 12—24 Stunden. Bei den anderen Stämmen trat eine Rötung viel später und bei den Colpitisstämmen überhaupt nicht ein. Die Traubenzuckernährböden wurden von allen Stämmen nach 12—24 Stunden gerötet. Die Mannitnährböden blieben unverändert.

Vergärung von Traubenzucker, Milchzucker und Mannit konnte nie beobachtet werden.

Alle Mastitisstreptokokken und auch der *Str. acidi lactici* ziehen die Milchzuckernährböden allen anderen Nährböden vor. Dies sieht man am besten an den Milchkulturen selbst. Sämtliche 26 Mastitisstämme und der *Str. acidi lactici* koagulierten die Milch innerhalb 12 bis 24 Stunden. Die saprophytischen Stämme XXX und XXXIV brachten die Milch am 4. Tage und die Stämme XXXV und XXXVI am 2. Tage zum Gerinnen.

Bei der Zusammenfassung der Kulturversuche komme ich zu keinem positiven Ergebnis. Nach meinen Untersuchungen ist eine Trennung von pathogenen und saprophytischen Milchstreptokokken mittels des Kulturverfahrens unmöglich.

Auch die Untersuchungen über die Virulenz der 36 Stämme ergeben keine charakteristischen Unterschiede oder Eigentümlichkeiten, auf Grund deren eine Differenzierung derselben möglich wäre.

Vergleicht man endlich die Ergebnisse der Impfung mit denen der Kultur, so erkennt man, daß zwischen den biologischen Eigenschaften der Streptokokken und deren Virulenz keine Beziehungen bestehen.

Nachdem Schottmüller die Blutnährböden zur Unterscheidung von pathogenen und saprophytischen Streptokokken benutzte, beschäftigten sich viele Forscher mit der Frage, ob Hämolyse und Virulenz parallel gehen. Schottmüller, Mau (48), Gonnet und Fromme (17) fanden bei Wöchnerinnen den hämolytischen *Streptococcus* in der Scheide

meist dann vor, wenn Fieber bestand und Fromme u. a. sahen deshalb in der Hämolyse eine Eigenart der virulenten Streptokokken.

Spätere Arbeiten von Schulze (60), Fränkel, Lüdke, Polano und Zangemeister aber lehrten, daß einerseits hämolytische Streptokokken als Saprophyten im menschlichen Körper vorkommen und andererseits nicht-hämolytische Streptokokken schwere Infektionen hervorrufen können, daß sich aber im allgemeinen unter den ersteren mehr virulente Streptokokken finden als unter den letzteren. Meine Untersuchungen ließen ebenfalls gar keine Gesetzmäßigkeiten zwischen Hämolyse und Virulenz erkennen. Von den 26 Mastitisstämmen waren 5 für weiße Mäuse pathogen und nur 2 davon waren hämolytische und 3 nicht-hämolytische Streptokokken.

Interessant ist das Ergebnis, das die Verimpfung des Colpitisstammes in das Ziegeneuter lieferte, insofern, als es uns zeigt, daß die Erreger des ansteckenden Scheidenkatarrhs sehr leicht eine chronische Streptokokkenmastitis hervorrufen können. Bei der großen Verbreitung des infektiösen Scheidenkatarrhs und bei der leichten Uebertragungsmöglichkeit der Erreger von der Scheide oder dem Schwanz zum Euter ist eine Infektion desselben auch gar nicht ausgeschlossen. Hasak (23) berichtete von einem häufigen Auftreten der Streptokokkenmastitis in einer Gegend, wo der ansteckende Scheidenkatarrh sehr verbreitet ist, und sprach schon damals die Vermutung aus, es könnte sich hierbei um eine Uebertragung der Colpitisstreptokokken handeln. Die Möglichkeit einer solchen liegt sehr nahe, und ich glaube, daß weitere Untersuchungen hierüber sich sicher lohnen würden.

Daß übrigens eine Infektion des Euters auch mit saprophytischen Streptokokken möglich ist, zeigt der zweite Versuch. Ich glaube, daraus schließen zu dürfen, daß überhaupt alle Streptokokken eine Mastitis zu erzeugen imstande sind, sofern sie nur in genügender Menge und unter wachstums- und infektionsbegünstigenden Verhältnissen (wie Frischmilchendsein oder Schwächung des Organismus durch fieberhafte Allgemeinerkrankung etc.) in das Euter gelangen.

Schlusssätze.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen kann ich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

- 1) Die Trommsdorffsche Leukocytenprobe ist ein wichtiges Hilfsmittel zur Feststellung der Streptokokkenmastitis.
- 2) Zum Nachweis der Streptokokkenmastitis gehört immer die bakteriologische Untersuchung des Milchbodensatzes. Der bakterioskopische Befund allein genügt nur dann, wenn die Milch steril entnommen ist. In allen anderen Fällen, wenn also die Streptokokken mit anderen Bakterien vermischt sind, oder sich im Ausstrichpräparat nicht auffinden lassen, muß unter allen Umständen eine bakterioskopische und kulturelle Untersuchung von steril entnommener Milch stattfinden.
- 3) Die Mastitisstreptokokken zeigen meist eine starke Abplattung ihrer Einzelglieder, die immer diplokokkenförmig angeordnet sind.
- 4) Diese Formeigentümlichkeiten sind verschieden stark ausgeprägt und erfahren bei der künstlichen Züchtung der Streptokokken mannigfache Veränderungen. Sie werden ferner nicht nur bei pathogenen

Milchstreptokokken, sondern auch bei anderen pathogenen und saprophytischen Streptokokken zuweilen getroffen und können deshalb als charakteristische Unterscheidungsmerkmale nicht angesehen werden. Eine Trennung von pathogenen und saprophytischen Streptokokken ist also auf morphologischem Wege nicht möglich.

5) Das Wachstum der Streptokokken in Bouillon ist sehr veränderlich und bietet wie das Wachstum auf Agar, Gelatine, Kartoffeln und anderen Nährböden ebenfalls nichts Charakteristisches.

6) Die Züchtung auf Blutagar und in Blutbouillon läßt, trotzdem die Hämolyse der Mastitisstreptokokken veränderlich und graduell und zeitlich verschieden ist, eine schnelle Trennung derselben in hämolytische und nicht-hämolytische zu.

7) Nur die wenigsten Milchstreptokokken zeigen diese hämolytische Eigenschaft. Die meisten bilden kein Hämolysin und nehmen eine Mittelstellung zwischen dem Str. mitior und dem Str. mucosus ein. Die Mehrzahl ist aber dem ersteren beizuordnen.

8) Alle Mastitisstämme bringen Milch schnell zum Gerinnen. Farbstoffbildung, Gelatineverflüssigung und Vergärung von Traubenzucker, Milchzucker und Mannit konnte nie wahrgenommen werden. H₂S-Bildung konnte bei mehreren, Indolbildung nur bei einem Stamm beobachtet werden.

9) Eine Unterscheidung der Mastitisstreptokokken sowohl unter sich, als von den saprophytischen Streptokokken, ist auf Grund der kulturellen Methode allein nicht möglich.

10) Nur die wenigsten Mastitisstreptokokken sind für weiße Mäuse pathogen. Eine Virulenzsteigerung für diese Tierart ist nicht möglich. Zwischen Hämolyse und Virulenz besteht keine Beziehung.

11) Durch Einspritzung von Streptokokken des ansteckenden Scheidenkatarrhs oder von saprophytischen Streptokokken in das Euter läßt sich eine echte Streptokokkenmastitis erzeugen.

12) Für die praktische Milchkontrolle ergibt sich, daß im einzelnen Fall auf eine Stallprobe (klinische Untersuchung und sterile Milchentnahme mit nachfolgender bakteriologischer Untersuchung der Milch) zuweilen nicht verzichtet werden kann; jedenfalls kann nur auf diesem Wege völlig einwandfrei das Vorliegen einer Streptokokkenmastitis nachgewiesen werden.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Reinhardt sowohl für die Ueberweisung des Themas, als auch für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Auch Herrn Oberamtstierarzt Lamparter-Böblingen, Herrn Obertierarzt Dr. Carl, Karlsruhe und Herrn Polizeitierarzt Gebhardt in Hamburg, die mir bei der Beschaffung des Untersuchungsmaterials behilflich waren, sage ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank.

Literatur.

- 1) Adametz, L., Beitrag zur Kenntnis der Streptokokken des gelben Galts. (Journ. f. Landwirtschaft. Bd. 42. 1894.)
- 2) Aronson, Berlin. klin. Wochenschr. 1896. No. 32; 1902. No. 42.
- 3) Bang, zit. n. 34.
- 4) Baumann, Beiträge zur Unterscheidung der Streptokokken. (München. med. Wochenschr. 1906. No. 25.)
- 5) Behring, Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 6.
- 6) Beitzke u. Rosenthal, zit. 39.
- 7) Bergey, The Leucocyte and Streptococcus Content of Cows Milk. (Ref. München. med. Wochenschr. 1907. p. 2398.)
- 8) Bermbach, zit. n. 34.
- 9) De Bruin, Die Euterentzündungen des Rindes. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1905.)
- 10) Capelletti u. Vivaldi, Le streptococc. equi. (Ann. d'Hyg. sperim. 1908; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1898.)
- 11) Doane, Maryland agricult. Experim. Stat. Bull. No. 102. 1905.
- 12) Edwards u. Severn, Eine Epidemie von folliculärer Tonsillitis durch Milchgenuß. (Ref. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1899. p. 53.)
- 13) Ernst, Milchstreptokokken und Streptokokkenmastitis. (Monatsh. f. prakt. Tierheilkunde. Bd. 20 u. 21.)
- 14) Eisenberg, Ueber das Tuschedifferenzierungsverfahren gramnegativer Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56.)
- 15) Franck, Handbuch d. tierärztl. Geburtshilfe. 1901.
- 16) Fränkel, E., Ueber menschenpathogene Streptokokken. (München. med. Wochenschrift. 1905. p. 548.)
- 17) Gonnet u. Fromme, Münch. med. Wochenschr.
- 18) Gordon, zit. n. 39.
- 19) Guillebeau, A., Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 4. 1890.)
- 20) — u. Hess, Bd. 5 u. 6 derselben Zeitschr.
- 21) Günther, Bakteriologie. 6. Aufl. 1906.
- 22) Gröning, G., Streptok. des Kuheuters, des Rinderdarmes und des Stallbodens. [Inaug.-Diss.] Bern. 1901.
- 23) Hasak, Beitrag zur Biologie des Streptococcus der Colpitis granulosa infectiosa. (Tierärztl. Centralbl. 1910. No. 36; 1911. No. 1 u. 2.)
- 24) Hess u. Borgeaud, Eine kontagiöse Euterentzündung, gelber Galt genannt. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 30. 1888.)
- 25) Heinemann, P. G., Die Pathogenität des Strept. lacticus, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1906.)
- 26) Hoessli, Das Verhalten der Streptokokken gegenüber Plasma und Serum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 135—141.)
- 27) Holst, A., Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18.
- 28) Jakobsen, Einige Beiträge zur Kasuistik der Gesundheitsschädigung durch Nahrungsmittel. (Zit. nach Bd. 13. p. 431.)
- 29) Johannesen, ebenda.
- 30) Jensen, Grundriß der Milchhygiene und Milchkunde. Stuttgart (Enke) 1903.
- 31) Kaiser, Arch. f. Hyg. Bd. 56. p. 51.
- 32) Kerner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. p. 223.
- 33) Kirchner u. Biondi, zit. n. 21.
- 34) Kitt, Bakterienkunde u. pathol. Mikrosk. 5. Aufl. 1908.
- 35) Koch u. Petrutschky, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23. 1896. p. 144 u. 481.
- 36) Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 3. 1903.
- 37) Knorr, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893.
- 38) Kurth, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 7. 1891.
- 39) Laabs, Vergleichende Untersuchungen über den Drusestreptococcus. (Zeitschr. f. Veterinärk. Jahrg. 22. 1910. Heft. 8/9.)
- 40) Lameris u. van Harrevelt, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901. p. 114.
- 41) Lenhartz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 34. 1903. p. 252 u. 311.
- 42) Lignières, Contribution à l'étude des pneumonies du cheval. (Rec. de méd. vét. 1897.)
- 43) Lingelsheim, n. Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 3. 1903.)
- 44) Löhnis, Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28.)

- 45) Lüdke u. Polano, Ueber Hämolyse der Streptokokken. (München. med. Wochenschr. 1909. No. 1.)
- 46) Lucet, A., De la congestion des mamelles et des mammites chez la vache. 1891.
- 47) Mandelbaum, München. med. Wochenschr. 1907. p. 1431.
- 48) Mau, zit. 71.
- 49) Meyer, Arch. f. Tierheilk. Bd. 36. 1910.
- 50) Müller, Leo, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. p. 468.
- 51) Nenski, Ueber Stoffwechselprodukte zu Euterentzündungen veranlassenden Mikroben des Bac. Guillebeau und Strept. mastitidis. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 5. 1891.)
- 52) Nietzer, Zur Streptokokkenfrage. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 307.)
- 53) Mocard et Mollerau, Sur une mammite contagieuse des vaches laitières. (Arch. vétérin. 1884. p. 561.)
- 54) Petruschky u. Kriebel, Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge. Leipzig 1904.
- 55) Pasquale, zit. n. 36.
- 56) Rabe, Zur bakteriologischen Differentialdiagnose zwischen Rotz und Druse. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1890. No. 49.)
- 57) Rieke, Ueber die Streptokokken der weiblichen Genitalien. (Arch. f. Gynäk. Bd. 76. Heft 3.)
- 58) Rühm, G., Kritische Studie über die Milchleukocytenprobe. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg. Jahrg. 19. 1909 Heft 6, 7 u. 8.)
- 59) Savage, Streptococci and leucocytes in milk. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 40. p. 89.)
- 60) Schulze, München. med. Wochenschr. 1907. p. 1167.
- 61) Schlegel, Infektiöse Rückenmarksentzündung oder schwarze Harnwinde. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1907.)
- 62) Schottmüller, München. med. Wochenschr. No. 20 u. 21.
- 63) Seibold, Ueber den Keimgehalt der unter aseptischen Kautelen entnommenen Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 301.)
- 64) Slacks, Journ. of infect. 1904. Dis. Suppl.-Bd. p. 214. Zit. n. 58.
- 65) Stark, Beiträge zur pathologischen Anatomie der Agalact. contag. [Inaug.-Dissert.] Zürich 1903.
- 66) Stewart, Stokes, zit. nach 58.
- 67) Staeheli, Arch. f. Tierheilk. Bd. 30. 1904.
- 68) Trommsdorff, Die Milchleukocytenprobe. (München. med. Wochenschr. 1906. No. 12.)
- 69) Vincent, Arch. de méd. exp. etc.; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1902. p. 399.
- 70) Wall, Sven, Die Euterentzündungen der Kuh. Stuttgart (Enke) 1908.
- 71) Zangemeister, Verbreitung der Streptokokken. (München. med. Wochenschr. 1910.) — Hämolyse der Streptokokken. (Dtsch. med. Wochenschr. 1909. No. 10 u. 11.)
- 72) Zschokke, Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1897. — Forschungen über den gelben Galt. (Schweiz. Arch. f. Tierheilk. 1904. p. 113.)

Nachdruck verboten.

Weiteres über einen aus Wurstwaren isolierten tierpathogenen Keim¹⁾.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des öffentlichen Sanitätsamtes
(Vorsteher: Prof. B. Gosio).]

Von **M. Pergola**, Assistenten.

Ich habe in einer früheren Arbeit (1) über diesen Gegenstand die morphologischen, färberischen und kulturellen Eigenschaften eines Bakteriums geschildert, das ich mit dem Namen *Bacillus aus Lugo* be-

1) Ins Deutsche übertragen von Dr. med. K. Rühl (Turin).
Erste Abt. Orig. Bd. 63. Heft 2/3.

legt habe, weil ich es aus Wurstwaren isolierte, welche aus Lugo (Prov. Ravenna) stammten und bei verschiedenen Personen, die sie genossen hatten, Krankheitserscheinungen hervorgerufen hatten. Ich habe in meiner damaligen Arbeit auch über einige biochemische Wirkungen (Indol, Proteinochrom, Schwefelwasserstoff) berichtet und aus meinen Untersuchungen geschlossen, daß der Keim höchstwahrscheinlich der *Proteus*-Gruppe angehöre.

Ich werde in gegenwärtiger Arbeit über die weiteren Untersuchungen berichten, um festzustellen, ob meine bakteriologische Diagnose eine richtige war oder nicht. Zu diesem Zwecke führte ich folgende Proben aus:

Serodiagnostische Proben.

Mit dem Lugo-Bacillus immunisierte ich Kaninchen, aus welchen ich ein Immunserum gewann, welches mir zur Agglutinationsprobe und zur Pfeifferschen Probe, d. h. zur Bakteriolyse, diente. Die Immunisierung geschah folgendermaßen:

10. 1. 10. Intravenöse Einimpfung einer Oese einer mit steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten, während einer Stunde auf 60—65° C erwärmten, 24 Stunden alten Agarkultur.

16. 1. 10. Intraperitoneale Einimpfung eines halben Rasens¹⁾ aus einer 24 Stunden alten und wie bei der vorigen Inokulation behandelten Agarkultur.

25. 1. 10. Intraperitoneale Einimpfung eines ganzen Rasens einer 24 Stunden alten und in der erwähnten Weise behandelten Agarkultur.

1. 2. 10. Intraperitoneale Einimpfung von zwei 24 Stunden alten und in der erwähnten Weise behandelten Kulturrasen.

8. 2. 10. Intraperitoneale Einimpfung eines halben lebenden 24 Stunden alten Agarkulturrasens.

20. 2. 10. Intraperitoneale Einimpfung eines ganzen lebenden 24 Stunden alten Agarkulturrasens.

5. 3. 10. Aderlaß des Tieres.

Da ich es für interessant hielt, vergleichende Untersuchungen auszuführen, stellte ich mit demselben Immunisierungsprozeß entsprechende Immunsere für *Proteus vulgaris*, *Bac. paratyphi B*, *Bac. enteritidis* Gärtner, *Bac. paratyphi A* und *Typhusbacillus* her.

Agglutination. Die Verdünnungen des Serums für alle Agglutinationsproben wurden nach folgendem Schema hergestellt.

| | | | |
|--------------|------------|----------------------|-------------------------------------|
| Verdünnung I | = 1:10 | = 1 ccm Serum | + 9 ccm steriler physiol. NaCl-Lös. |
| " II | = 1:25 | = 0,5 " | + 12 " " " " |
| " III | = 1:50 | = 5,0 " d. Verdg. II | + 5 " " " " |
| " IV | = 1:100 | = 1,0 " " I | + 9 " " " " |
| " V | = 1:250 | = 1,0 " " II | + 9 " " " " |
| " VI | = 1:500 | = 1,0 " " III | + 9 " " " " |
| " VII | = 1:1000 | = 1,0 " " IV | + 9 " " " " |
| " VIII | = 1:2500 | = 1,0 " " V | + 9 " " " " |
| " IX | = 1:5000 | = 1,0 " " VI | + 9 " " " " |
| " X | = 1:10 000 | = 1,0 " " VII | + 9 " " " " |

Ich setzte je 1 in einem Agglutinationsröhrchen enthaltenem Kubikzentimeter dieser Verdünnungen 1 ccm einer homogenen Bakterienemulsion zu, welche ich in der Weise herstellte, daß ich drei 24 Stunden alte Agarkulturen mit 25 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmte und diese Aufschwemmung durch steriles Papier filtrierte. Die Agglutinationsproben entsprachen infolgedessen folgenden Verdünnungen: 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:5000, 1:10 000, 1:20 000.

Ich habe ferner eine Kontrollprobe ausgeführt, d. h. in eins der gewöhnlichen Röhrchen 1 ccm einer einfachen physiologischen Kochsalz-

1) Verf. schreibt: „mezza patina di agarcultura“.

lösung getan und 1 ccm der Bakterienemulsion zugesetzt, um festzustellen, ob keine spontane Agglutination der Keime eintrat.

Ich stellte die Röhrchen in einen Thermostaten bei 37° C, ließ sie dort 2 Stunden stehen und untersuchte dann sowohl makro- wie mikroskopisch.

Die Resultate habe ich in Tabelle I zusammengestellt. Ich habe in dieselbe die Proben, welche ich mit dem Bac. paratyphi A- resp. dem Bac. paratyphi-B-Immunsereum und den Kulturen vom Lugo-Bacillus, Proteus vulgaris, Bac. paratyphi B, Bac. enteritidis Gärtner nicht eingetragen, weil das Resultat stets negativ war. Dasselbe gilt für das diesen letzten 4 Keimarten entsprechende Immunsereum und die Kulturen von Bac. paratyphi A, Bact. coli, Typhusbacillus.

In der Tabelle habe ich folgende Abkürzungen benutzt: + positive, vollständige oder unvollständige Agglutination; — keine Agglutination; ? makroskopisch nicht mit Sicherheit zu beurteilendes Resultat; M makroskopische Untersuchung; m mikroskopische Untersuchung.

Tabelle I.
Agglutinationsprobe.

| Verdünnung des Serums | Immunsereum für Lugo-Bacillus | | | | Immunsereum für Proteus vulgaris | | | | Immunsereum für Bac. paratyphi B | | | | Immunsereum f. B. enter. Gärtner | | | |
|-----------------------|-------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------------------------|
| | Lugo-Bacillus | Proteus vulgaris | Bac. paratyphi B | Bacillus enteritidis Gärtner | Lugo-Bacillus | Proteus vulgaris | Bac. paratyphi B | Bacillus enteritidis Gärtner | Lugo-Bacillus | Proteus vulgaris | Bac. paratyphi B | Bacillus enteritidis Gärtner | Lugo-Bacillus | Proteus vulgaris | Bac. paratyphi B | Bacillus enteritidis Gärtner |
| 1:20 | M + | + | + | ? | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | + | — | + | + | + | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:50 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:100 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:200 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:500 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:1000 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:2000 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:5000 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:10000 | M + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| | m + | + | + | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| 1:20000 | M + | ? | — | — | — | + | ? | — | — | — | + | ? | — | — | + | + |
| | m + | + | — | — | — | + | + | — | — | — | + | + | — | — | + | + |
| Kontrolle | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Bakteriolyse. Das Serum derselben Kaninchen, welche ich für die Agglutinationsprobe verwendet hatte, diente mir auch zur Bakteriolyse, welche ich mit den gewöhnlichen 4 Keimen ausführte: Lugo-Bacillus, Proteus vulgaris, Bac. paratyphi B, Bac. enteritidis Gärtner. Diese Probe führte ich in vivo, d. h. im Peritoneum von Meerschweinchen, folgendermaßen aus: In 1 ccm steriler Bouillon verrührte ich eine

Oese einer ungefähr 18 Stunden im Brutofen bei 37° C gehaltenen Agarkultur; diesem Gemisch setzte ich 1 ccm der Verdünnung 1:200 des Immunsersums zu und inokulierte das Ganze in das Peritoneum eines Meerschweinchens. Vermittelt Kapillarröhrchen aspirierte ich 20 Minuten nach der Inokulation etwas Peritonealflüssigkeit, welche ich im hängenden Tropfen und in gefärbten Präparaten untersuchte. Diese Untersuchung wiederholte ich viermal, und zwar mit einem Zwischenraum von je 20 Minuten. Die Resultate habe ich in folgender Tabelle (II) zusammengestellt, in welcher das Zeichen + eine positive Bakteriolyse, das Zeichen — das Ausbleiben der Bakteriolyse bedeutet:

Tabelle II.
Probe der Bakteriolyse.

| Untersuchte Keime | Immuns Serum für Lugo-Bacillus | Immuns Serum für Proteus vulgaris | Immuns Serum für Bac. paratyphi B | Immuns Serum für Bac. enteritidis Gärtner |
|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---|
| Lugo-Bacillus | + | + | — | — |
| Proteus vulgaris | + | + | — | — |
| Bac. paratyphi B | — | — | + | — |
| Bac. enteritidis Gärtner | — | — | — | + |

Immunisierung. Mit den Keimen: Lugo-Bacillus, Proteus vulgaris, Bac. paratyphi B und Bac. enteritidis Gärtner kann man Tiere (Meerschweinchen und Kaninchen) aktiv immunisieren. Ich hielt es infolgedessen für zweckmäßig, auch diese Probe zu benutzen, um den in Frage stehenden Keim zu identifizieren. Ich impfte somit den mit jedem der vier genannten Mikroorganismen immunisierten Tieren sicher tödliche (wie aus den Versuchen mit Kontrolltieren hervorging) Dosen der in dem betreffenden Fall nicht zur Behandlung angewendeten Bakterien ein. Die Resultate sind aus folgender Tabelle (III) ersichtlich:

Tabelle III.
Immunisierungsprobe.

| Zur Immunisierung angewendeter Keim | In sicher tödlicher Dosis eingepfelter Keim | Resultat |
|-------------------------------------|---|---------------------|
| Lugo-Bacillus | Proteus vulgaris | Die Tiere überleben |
| " " | Bac. paratyphi B | " " sterben |
| " " | Bac. enteritidis Gärtner | " " " |
| Proteus vulgaris | Lugo-Bacillus | " " überleben |
| " " | Bac. paratyphi B | " " sterben |
| " " | Bac. enteritidis Gärtner | " " " |
| Bac. paratyphi B | Lugo-Bacillus | " " " |
| " " " | Proteus vulgaris | " " " |
| Bac. enteritidis Gärtner | Lugo-Bacillus | " " " |
| " " " | Proteus vulgaris | " " " |

Die Resultate der serodiagnostischen und immunisatorischen Untersuchungen sind so deutlich, daß keine besonders ausführliche Erörterung erforderlich ist. In der Tat geht aus der Tabelle hervor, daß die gegen den Lugo-Bacillus immunisierten Tiere ein für diesen Keim und für den Proteus vulgaris agglutinierendes und bakteriolytisches, für den Bac. paratyphi B und den Bac. enteritidis Gärtner inaktives Serum liefern, und daß sie die Inokulation einer sicher tödlichen Dosis

von *Proteus vulgaris* vertragen, während sie infolge der Einspritzung einer gleichen Dosis der beiden übrigen Keime zugrunde gehen.

Die mit dem *Proteus vulgaris* immunisierten Tiere verhalten sich ähnlich, indem sie einer sicher tödlichen Dosis vom Lugo-Bacillus, aber nicht einer solchen von *Bac. paratyphi B* und von *Bac. enteritidis* Gärtner widerstehen; für diese beiden ist ihr Serum inaktiv, während dasselbe auf den *Proteus vulgaris* und den Lugo-Bacillus agglutinierend und bakteriolytisch wirkt. Die mit dem *Bac. paratyphi B* resp. dem *Bac. enteritidis* Gärtner immunisierten Tiere liefern ein sowohl agglutinatorisch wie bakteriolytisch nur gegenüber dem entsprechenden Keim aktives Serum, und widerstehen der Inokulation einer tödlichen Dosis von *Proteus vulgaris* oder vom Lugo-Bacillus nicht.

Der Lugo-Bacillus entspricht also nicht nur seinen morphologischen und kulturellen Eigenschaften nach, sondern auch in seinem Verhalten bei den serodiagnostischen und immunisatorischen Proben dem *Proteus vulgaris*, mit dem er identifiziert werden kann.

Der Vollständigkeit halber habe ich noch Untersuchungen ausgeführt über das

pathogene Vermögen.

Daß der Lugo-Bacillus für Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten pathogen war, hatte sich bereits aus meinen früheren, mit den ersten aus dem Fleisch isolierten Kulturen ausgeführten Untersuchungen ergeben. Es handelte sich nun darum, meine Untersuchungen in dieser Richtung auszudehnen, um das Krankheitsbild besser kennen zu lernen, welches sich bei den Tieren entwickelt, und festzustellen, ob auch andere Tierarten für den Keim empfänglich sind oder nicht.

Ich wendete somit meine Aufmerksamkeit auch auf die weißen Mäuse, auf Hunde, Katzen und Tauben. Der Kürze halber will ich die Protokolle der mit den einzelnen Tierarten ausgeführten Versuche nicht wiedergeben, und nur angeben, daß der Lugo-Bacillus sich pathogen erwies für das Kaninchen (Einführung auf intravenösem, intraperitonealem, subkutanem Wege und auf dem Wege des Verdauungsapparates), für das Meerschweinchen und die Murides (weiße, schwarzfleckige Ratten und weiße Mäuse; Einführung auf intraperitonealem und subkutanem Wege und durch den Verdauungsapparat) und, obwohl nicht konstant, für die Katze (intraperitoneal und subkutan). Bei den Katzen erzeugt der subkutan eingeführte Keim stets einen Abszeß, welcher sich entweder öffnet, und dann heilt er aus und das Tier überlebt, oder sich nicht öffnet, und in diesem Fall geht das Tier unter zunehmender Entkräftung nach einigen Tagen zugrunde.

Für die Hunde und die Tauben erwies sich hingegen der Lugo-Bacillus selbst in starken Dosen, intraperitoneal und subkutan eingeführt, nicht pathogen. Aus der Gesamtheit der von mir ausgeführten Versuche geht hervor, daß — wie es gewöhnlich bei solchen Experimenten der Fall ist — nicht alle einer für den Keim empfänglichen Art angehörenden Individuen zugrunde gingen; der Endausgang war infolgedessen nicht konstant, während man das pathogene Vermögen des Keimes als konstant betrachten kann, da auch die überlebenden Tiere fast stets Krankheitserscheinungen aufwiesen. Am längsten und am häufigsten überlebten die Tiere bei den Versuchen von Infektionen auf dem Wege des Magens.

Bei der Untersuchung des pathogenen Vermögens habe ich stets frische Agarkulturen angewendet; ich habe diese den Kulturen auf flüssigen Nährsubstraten vorgezogen, erstens um die Bakterienquantität,

welche einverleibt wurde, besser dosieren zu können, und dann um möglichst die eventuelle Wirkung irgendwelcher vom Keim ausgeschiedenen und in den flüssigen Nährsubstraten vorhandenen Giftstoffe auszuschneiden. Wir werden weiter unten sehen, ob und unter welchen Verhältnissen eine Erzeugung von Toxinen erfolgt. Hier will ich versuchen, auf Grund der während der Versuche gemachten Beobachtungen und der entsprechenden nekroskopischen Befunde das Krankheitsbild zu schildern, welches der Lugo-Bacillus bei den empfänglichen Tieren hervorruft. Dieses Bild ist, ungeachtet der Tierart und des Weges, auf welchem die Inokulation geschah, mehr oder minder dasselbe; die verschiedenen nekroskopischen Befunde zeigten keine großen Unterschiede.

In erster Linie interessiert uns der Verlauf der Krankheit. Derselbe ist meistens akut, indem die Krankheit in wenigen Tagen zum Exitus führt, und zuweilen hyperakut (tödlicher Ausgang selbst nach weniger als 12 Stunden). Die diesbezüglichen Verschiedenheiten hängen natürlich von der eingepflichten Dosis der Kultur und von dem Wege ab, auf welchem diese inokuliert wurde. In der Tat, wenn die eingepflichtete Menge nicht eine gewisse minimale Grenze überschreitet, überlebt das Tier, und wenn es nach mehr oder minder langer Zeit getötet wird, findet man bei der Autopsie keine bemerkenswerten Veränderungen, welche auf eine Wirkung des eingepflichten Keimes zurückgeführt werden könnten. Nur zwei Ausnahmen hiervon habe ich beobachtet. In dem einen Fall handelte es sich um ein 1300 g schweres Kaninchen, welchem eine Oese einer 24 Stunden alten Agarkultur subkutan eingepflichtet wurde; das Tier starb nach ungefähr einem Monat und zeigte eine starke Abmagerung, während im Unterhautgewebe, an der Stelle der Inokulation, eine haselnußgroße Masse mit käsigem Aussehen vorgefunden wurde. Eine ähnliche Masse fand man auch in der Bauchhöhle an einer der anderen genau entsprechenden Stelle. Diese zweite Masse haftete am Peritoneum an. Die abdominalen Organe waren durch ein fibrinöses Exsudat miteinander verlötet, zeigten aber, einzeln untersucht, ebenso wie die thorakalen Organe, nichts Bemerkenswertes.

Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die beiden Massen hauptsächlich aus Leukocyten zusammengesetzt; Bakterien waren nicht nachweisbar. Es wurden Kulturen aus dem Herzblute, aus den verschiedenen Organen und aus den beiden Massen angelegt; nur bei letzteren entwickelte sich ein Bacillus, der mit dem Lugo-Bacillus identifiziert wurde. Die übrigen Kulturen blieben steril.

Der zweite Fall entspricht gänzlich dem ersten; es handelte sich um ein 1100 g schweres Kaninchen, welchem am 13. Jan. 1910 zwei Oesen einer 24 Stunden alten Agarkultur subkutan eingepflichtet wurden. Das Tier starb am 11. Febr. 1911 und zeigte bei der Autopsie dasselbe Bild wie das vorige, mit dem Unterschied, daß die Eiteransammlungen zahlreicher waren: man fand deren eine an der Inokulationsstelle und 6 (3 größere und 3 kleinere) im Peritoneum. Nur aus dieser konnte der Lugo-Bacillus gezüchtet werden.

Diese beiden Beobachtungen sind vereinzelt geblieben; sie beweisen immerhin, daß der in Frage stehende Keim nicht nur eine akute, sondern auch eine chronisch verlaufende Krankheit hervorrufen und außerdem lokalisierte eitrige Prozesse herbeiführen kann, wie man auf Grund der mikroskopischen und kulturellen Untersuchung der im Unterhautgewebe und im Peritoneum angetroffenen Eiteransammlungen annehmen kann.

Abgesehen von diesen Fällen, beobachtet man einen etwas spät eintretenden Tod zuweilen bei den per os infizierten Tieren. Diese über-

leben in anderen Fällen der Infektion, und weisen keine bemerkenswerten Erscheinungen oder nur leichte Störungen auf. Ich habe untersucht, ob es sich in diesen Fällen wirklich um gegen die Wirkung der ingerierten Keime unempfindliche Tiere handelte, oder ob nicht eine wahre und echte Heilung in dem Sinne vorlag, daß sich, nachdem die Tiere eine Krankheit überstanden hatten, welche nicht schwer genug war, um sie zu töten, wieder ein normaler Gesundheitszustand eingestellt hatte. Zu diesem Zwecke habe ich mehrere Tiere einer und derselben Art (Ratten, resp. Meerschweinchen resp. Kaninchen) mit Kleie gefüttert, der ich Agarkulturen des Lugo-Bacillus beimengte, und zur gleichen Zeit ein Tier der betreffenden Art mit einfacher Kleie ernährte. Ich konnte somit feststellen, daß die Tiere, selbst nach einmaliger Verfütterung der infizierten Kleie, obwohl sie anscheinend völlig gesund waren, bei der nach 1—2 Tagen ausgeführten Autopsie fast stets die Zeichen einer Entzündung des Darmes und besonders des Dünndarmes aufwiesen. Die Schlingen des Dünndarmes waren hyperämisch; ihr Inhalt schleimig, fadenziehend, gelblich, so wie man ihn bei den infolge der normal verlaufenen Infektion stets antrifft.

Die aus dem Herzblute dieser Tiere angelegten Kulturen blieben steril; dagegen konnte der Keim leicht aus dem Dünndarminhalte isoliert werden. Dieser Befund legt die Annahme nahe, daß die Tiere, wenn sie die Ingestion mit dem Lugo-Bacillus infizierten Materials überleben und nach mehr oder minder langer Zeit getötet, keine krankhaften Erscheinungen aufweisen, zuerst erkrankten, daß aber, wenigstens die Enteritis, welche der Keim so frühzeitig herbeiführt, heilte.

Was den Symptomenkomplex anbelangt, der infolge der Infektion auftritt, so ähnelt derselbe ziemlich demjenigen, den man im allgemeinen bei allen experimentellen akuten Infektionen beobachtet. Das Tier verliert seine Lebhaftigkeit und seine Freßlust, verweigert das Futter, und schwächt sich ab; seine Bewegungen werden torpide, langsam und anstrengend; das Tier wimmert, besonders wenn die Krankheit ziemlich vorgeschritten ist, was für das Auftreten von schmerzlichen Empfindungen spricht; es tritt Durchfall ein, die Faeces sind nicht mehr geformt, sondern breiig, weich; es tritt ein allgemeines Zittern auf; die Gliedmaßen werden paretisch, und schließlich findet man das Tier auf einer Seite niederliegend; zuweilen treten konvulsivische Bewegungen auf, die Atmung wird oberflächlich, das Tier wird kalt und am Ende tritt der Tod ein.

Sehr interessant ist das Verhalten der Temperatur, welches sich unabhängig von dem Infektionswege und konstant erwies. Ich will einige Beispiele anführen:

19. Juli 1910. Einem 1150 g schweren Kaninchen werden 3 Oesen einer ungefähr 24 Stunden alten schrägen Agarkultur, in 1,5 ccm steriler Bouillon emulgiert, subkutan eingepflegt. Während der beiden letzten Tage vor der Inokulation schwankte die Temperatur (rektal) zwischen 39° und 40°. Die Inokulation wurde am 19. Juli 1910 um 10 Uhr ausgeführt. Unmittelbar vor der Inokulation betrug die Temperatur 39,9° C. Die nächsten Messungen ergaben:

| | | | | |
|------------|---|-------------|------------------|---------|
| 19. 7. 10. | Um 3 ¹ / ₄ Uhr | nachmittags | Rectaltemperatur | 40,9° C |
| | „ 6 | „ abends | „ | 40,8° |
| | „ 8 | „ „ | „ | 40,8° |
| 20. 7. 10. | „ 10 | „ morgens | „ | 41,0° |
| | „ 6 ¹ / ₂ | „ abends | „ | 41,2° |
| 21. 7. 10. | „ 10 | „ morgens | „ | 41,0° |
| | „ 6 | „ abends | „ | 35,0° |
| | „ 8 | „ „ | „ | 34,0° |
| 22. 7. 10. | Das Tier wurde am Morgen tot aufgefunden. | | | |

2) Einem 1400 g schweren Kaninchen wurden am 13. Januar 1911 gegen 6 Uhr abends 3 Oesen einer 24 Stunden alten Agarkultur intraperitoneal eingepf. Unter normalen Verhältnissen schwankte die Temperatur zwischen 39° und 40° C.

| | | | | |
|------------|-------------------------------|---------------|------------------|---------|
| 14. 1. 11. | Um 10 | Uhr morgens | Rectaltemperatur | 37,0° C |
| " | 12 | " " | " | 36,0° |
| " | 2 ¹ / ₂ | " nachmittags | " | 35,2° |
| " | 5 | " " | " | 34,0° |
| " | 7 | " abends | " | 32,0° |

15. 1. 11. Das Tier wurde am Morgen tot aufgefunden

3) Einem 1270 g schweren Kaninchen wurde am 24. Januar 1911 um 9 Uhr morgens eine Aufschwemmung von 3 Oesen einer 24 Stunden alten Agarkultur in 1 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung in die Randvene eines Ohres eingepf. Normalerweise schwankte die Temperatur zwischen 39° und 40° C.

| | | | | |
|------------|-------------------------------|---------------|------------------|---------|
| 24. 1. 11. | Um 9 | Uhr morgens | Rectaltemperatur | 39,3° C |
| " | 11 | " vormittags | " | 42,0° |
| " | 3 ¹ / ₂ | " nachmittags | " | 40,0° |
| " | 6 | " abends | " | 38,5° |
| " | 7 | " " | " | 37,0° |
| " | 8 | " " | " | 35,2° |

23. 1. 11. Das Tier wurde am Morgen tot aufgefunden.

4) Einem 1000 g schweren Kaninchen wurde während zwei aufeinanderfolgenden Tagen ein Gemisch von Kleie mit einer Emulsion von 24 Stunden alten Agarkulturen in steriler physiologischer Kochsalzlösung verfüttert. Vor dem Versuche schwankte die Temperatur zwischen 39° und 40° C. Während des Versuches verhielt sie sich folgendermaßen:

| | | | | |
|------------|-----------------------------------|---------------|------------------|---------|
| 22. 1. 11. | Um 10 ¹ / ₂ | Uhr morgens | Rectaltemperatur | 40,0° C |
| " | 6 | " abends | " | 39,8° |
| 23. 1. 11. | " 10 | " morgens | " | 40,0° |
| " | 6 | " abends | " | 39,6° |
| 24. 1. 11. | " 10 | " morgens | " | 38,0° |
| " | 12 | " " | " | 37,3° |
| " | 3 | " nachmittags | " | 35,6° |
| " | 5 | " " | " | 34,5° |
| " | 6 | " abends | " | 33,7° |
| " | 8 | " " | " | 31,0° |

25. 1. 11. Am Morgen wurde das Tier tot aufgefunden.

5) Einem ungefähr 400 g schweren Meerschweinchen wurde am 4. Juli 1910 um 10 Uhr morgens eine Aufschwemmung von 1 Oese einer 24 Stunden alten Agarkultur in 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal eingepf. Unter normalen Verhältnissen schwankte die Temperatur zwischen 38° und 39° C.

| | | | | |
|-----------|-------------------------------|---------------|------------------|---------|
| 4. 7. 10. | Um 10 | Uhr morgens | Rectaltemperatur | 38,3° C |
| " | 12 | " mittags | " | 38,0° |
| " | 2 ¹ / ₂ | " nachmittags | " | 35,0° |
| " | 3 ³ / ₄ | " " | " | 33,0° |
| " | 6 ¹ / ₂ | " " | " | 31,0° |

Das Tier starb einige Minuten nach 7 Uhr abends.

6) Einem 220 g schweren Meerschweinchen wird am 13. Januar 1911 ein Gemisch von Brot mit einer Aufschwemmung einer 25 Stunden alten Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung verabreicht.

Am Morgen des 16. Januar 1911 befand sich das Tier in einem schweren Zustande; Rectaltemperatur 29° C. Gegen 11 Uhr vormittags starb es. Diese Beispiele zeigen also, daß die Temperatur zuerst zu einem, jedoch geringen, Anstieg über die Norm hinaus, neigt, und daß nach dieser Periode eine Hypothermie eintritt, welche anfangs gering ist,

aber dann stets zunimmt und schließlich, wenn sich der Tod nähert, äußerst ausgesprochen (8° – 10° C unter der Norm) wird. Bei einigen äußerst akut verlaufenen Fällen ist die Rectaltemperatur 1 Stunde vor dem Tode bis auf 27° C herabgesunken.

Handelt es sich hierbei vielleicht um eine Intoxikationserscheinung? Das werden wir bei Besprechung meiner Untersuchungen über die Erzeugung von Giftstoffen sehen.

Auch der nekroskopische Befund war ziemlich konstant, so daß man ganz gut ein allgemeines pathologisch-anatomisches Bild für die Infektion aufstellen kann.

Im Unterbauchgewebe findet man stets eine starke Hyperämie, begleitet, wenn die Inokulation hypodermatisch geschah, von einem starken ausgedehnten hämorrhagischen gelatinösen Oedem, welches bewirkt, daß sich die Haut leicht lostrennen läßt; in den Fällen, wo die Einimpfung auf einem anderen Wege geschah, beobachtet man nur ein leichtgradiges Oedem, welches sich durch eine größere Saftigkeit der Haut äußert. Die Leisten- und Achsellymphdrüsen sind angeschwollen und meistens gerötet. Die Gefäße der Muskeln der Thorax- und Bauchwand sind kongestiert, und zwar besonders stark, wenn die Infektion per os erfolgte. In den Fällen von Infektion auf intraperitonealem Wege ist der Bauch stark gespannt; dies ist, wenn die Infektion auf einem anderen Wege geschah, nicht der Fall. Die Gefäße des parietalen Peritoneums sind stets kongestiert; in den Fällen, wo eine ausgesprochene Peritonitis vorliegt, wie es bei den intraperitoneal eingeimpften Tieren der Fall ist, findet man in der peritonealen Höhle eine mehr oder minder große Menge eines serösen oder serös-hämorrhagischen Exsudates. Zuweilen, wenn die Krankheit längere Zeit dauert, kann das Exsudat auch einen fibrinösen Charakter annehmen. Die Leber, die Milz und die Nieren haben eine dunkle Farbe, bedingt durch die stets eintretende Hyperämie; die genannten Organe zeigen doch meistens keine bedeutende Vergrößerung ihres Volumens. Die Gallenblase ist oft mit schleimiger, fadenziehender Galle ausgefüllt. Die Nebennieren sind ebenfalls meistens kongestioniert und nehmen eine rötliche Farbe an, welche zuweilen einen hämorrhagischen Charakter erreicht. Auf der Oberfläche des Magens sind die Gefäße deutlich sichtbar, besonders bei der Infektion per os; in diesem Fall ist die Schleimhaut hyperämisch und der Mageninhalt ist zuweilen aus einer weichen, zuweilen schleimartigen glasigen Masse gebildet. Die stärksten und deutlichsten Alterationen findet man am Dünndarm, welcher immer mehr oder minder stark angegriffen ist: es kann hier von einer intensiven Gefäßkongestion bis zur Entstehung kleiner Blutungen und zu einer ziemlich ausgedehnten hämorrhagischen Infiltration der Wand kommen. Der Inhalt des Dünndarmes ist stets schleimig, fadenziehend, schmutzig-gelb und zuweilen hämorrhagisch, wie es bei der Infektion per os meistens der Fall ist. Zuweilen, und zwar gewöhnlich bei der intraperitonealen Inokulation, sind einige Dünndarmschlingen durch einen vorwiegend gasigen Inhalt sehr aufgetrieben. Der Dickdarm zeigt eine weniger starke Hyperämie; sein Inhalt ist breiig; dasselbe gilt für den Mastdarminhalt; in dem Mastdarm trifft man jedoch zuweilen geformte Faeces an. Die Gefäße des Mesenteriums, und zwar sowohl die größeren wie die kapillaren, sind prall gedehnt und deutlich sichtbar.

Die pleurale Höhle und die perikardiale Höhle enthalten zuweilen spärliche seröse Flüssigkeit; dies ist gewöhnlich der Fall, wenn auch im

Peritoneum ein Exsudat vorhanden ist. Die Lungen haben eine mehr oder minder intensive rosige Farbe; aus der Schnittfläche fließt das Blut leicht heraus; man findet weder pneumonitische Knoten noch sonstige besondere krankhafte Lokalisierungen. Das Pericard und das Myocard zeigen ebenfalls kongestierte Gefäße; die Herzhöhlen, besonders die Vorkammern, sind mit dunklem, zum Teil flüssigem, zum Teil geronnenem Blute ausgefüllt.

In den gefärbten, aus dem Blute des Herzen und der verschiedenen Organe hergestellten Präparaten ist der Keim, jedoch stets in beschränkter Anzahl, nachweisbar; in den aus dem Blute, den verschiedenen Organen und den Sekreten, wie der Galle und dem Harn, angelegten Kulturen entwickelt sich der Lugo-Bacillus in Reinkultur; denselben kann man leicht aus dem Darminhalte isolieren; in diesem Fall ist er jedoch oft mit anderen Keimarten vergesellschaftet. Da dieser Befund nicht nur in den Fällen von Infektion per os, sondern auch bei subkutaner, intra-peritonealer und intravenöser Infektion beobachtet wird, liegt die Folgerung nahe, daß der Keim, gleichgültig auf welchem Wege er in den Organismus eindringt, stets das Darmlumen erreicht.

Bei der Infektion per os bleibt die Entwicklung des Keimes oft in den aus dem Herzblut angelegten Kulturen aus; dagegen fallen die aus der Galle und der Leber angelegten Kulturen stets positiv aus. Diese Tatsache beruht wahrscheinlich auf verschiedenen Tatsachen: der negative Ausfall der Kulturen aus dem Herzblut kann davon abhängen, daß der Lugo-Bacillus von dem Verdauungstraktus nicht immer in den Kreislauf übergeht, während er stets, auf anderem Wege, die Leber erreicht, oder die Sache könnte sich dadurch erklären lassen, daß der Keim nur in geringer Menge ins Blut übergeht und somit in diesem kulturell schwer nachzuweisen ist.

Der klare, sauer reagierende Harn enthält Eiweiß, aber keine Zylinder und keinen Zucker.

Aus diesen nekroskopischen und kulturellen Befunden können wir schließen, daß der Lugo-Bacillus, gleichgültig auf welchem Wege er in den Organismus eingeführt wird, bei empfänglichen Tieren eine Septikämie herbeiführt, ohne stets die Entstehung lokaler Krankheitsherde hervorzurufen, und daß er dabei die stärkste Wirkung auf den Dünndarm entfaltet, aus welchem er leicht isoliert werden kann.

Um die histologischen Läsionen kennen zu lernen, habe ich Herz, Lunge, Leber, Milz, Niere, Nebenniere, Magen, Darm und Muskelmassen in Alkohol fixiert, in Paraffin eingebettet, mit der Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin behandelt und untersucht. Ich fand aber, mit Ausnahme der Niere, keine bemerkenswerten anatomischen oder histologischen Veränderungen der Gewebe der genannten Organe, sondern nur eine starke allgemeine Füllung der Blutgefäße.

In der Niere sind hingegen die Zellen in ihrem Protoplasma alteriert, sie zeigen ein granulöses Aussehen und scheinen in Zerfall begriffen zu sein; man kann die Grenze zwischen den einzelnen Zellen nicht deutlich unterscheiden; das Lumen der Nierenkanälchen ist durch eine Masse granulösen Aussehens besetzt, welche mit derjenigen identisch zu sein scheint, aus welcher das Protoplasma gebildet ist; es sind keine Zylinder nachweisbar. Dieser Befund legt die Annahme nahe, daß die Substanz, welche die Kanälchen ausfüllt, durch den Zerfall des Protoplasmas entstanden sei. Die Zellkerne sind gut erhalten und gut färbbar.

Durch derartige Veränderungen der Nierenelemente läßt sich die Albuminurie durch Abwesenheit von Zylindern erklären.

Ich habe auch die Schnitte auf Bacillen untersucht, und zwar nach dem von Semenowicz und Marzinowjky (2) angegebenen Verfahren, d. h. mit verdünnter Ziehlscher Flüssigkeit und Löfflerschem Methylenblau. Ich hatte bereits bei den aus den einzelnen Organen hergestellten Ausstrichkulturen beobachtet, daß der Keim nicht zahlreich nachweisbar war; infolgedessen war a priori anzunehmen, daß in den Schnitten der Nachweis sehr schwer gelingen würde. In der Tat sind in zahlreichen Schnitten keine, in einigen einzelne in den Blutgefäßen gelegene Bacillen nachweisbar. Die Anwesenheit des Lugo-Bacillus in den einzelnen Organen war übrigens genügend durch die Kulturen nachgewiesen worden, und war außerdem a priori anzunehmen, indem der Keim bei seinem Eindringen in den Kreislauf, um die Septikämie zu erzeugen, sich mit dem Blute in allen Organen zerstreut.

Versuche zum Nachweis von Toxinen.

Um zu untersuchen, ob der Keim eventuell imstande war, Toxine zu erzeugen, habe ich Kulturen auf gewöhnlicher Bouillon angelegt und 1 Monat lang im Thermostaten gelassen. Einige der Kulturen wurden dann durch Berkefeldsche Kerzen filtriert und in dem Filtrat wurde, nachdem seine Sterilität festgestellt war, auf Giftstoffe gefahndet. Andere Kulturen wurden bei 60—65° C lange genug gehalten, um eine Abtötung der Keime zu erreichen; nachdem festgestellt war, daß diese wirklich erfolgt war, wurde untersucht, ob die betreffenden Kulturen noch auf Versuchstiere (Kaninchen, Meerschweinchen, gefleckte Ratten, weiße Mäuse) schädlich wirkten. Das so hergestellte Material (Filtrat oder abgetötete Kultur) wurde auf verschiedenen Wegen: intravenös, subkutan, intraperitoneal, per os in den Organismus eingeführt. Die größte Aufmerksamkeit habe ich der Verabreichung per os geschenkt, weil dieselbe, indem sie sich den natürlichen Verhältnissen am meisten näherte, mir von größtem Interesse schien. Die Protokolle dieser Versuche lasse ich der Kürze halber aus. Es genügt, daß ich hervorhebe, daß sowohl in den durch Erwärmen auf 60—65° C abgetöteten Bouillonkulturen wie in dem sterilen Filtrat aus diesen tatsächlich ein Toxin vorhanden ist. Die abgetötete Kultur ist aktiver als das Filtrat, was die Vermutung nahelegt, daß das Toxin an den Bacillenkörper gebunden sei, d. h. daß es sich um ein Endotoxin handle, welches infolge des Zerfalles, welchem im Laufe der Zeit die Bakterien anheimfallen, in das Filtrat übergeht. In der Tat, nur die Filtrate aus Kulturen eines gewissen Alters sind merkbar giftig, während die abgetöteten Bakterienleiber, selbst wenn sie aus 24—48 Stunden alten Agarkulturen herkommen, toxisch wirken, dies jedoch in geringerem Maße als alte Bouillonkulturen.

Das Krankheitsbild, welches sich infolge der Einimpfung lebender Kulturen entwickelt, hat also eine doppelte Ursache, nämlich die infektiöse und die toxische Wirkung des Lugo-Bacillus. Welche Rolle kommt der toxischen Wirkung zu? Um diese Frage zu lösen, wollen wir das Bild kurz zusammenfassen, welches bei den Tieren vorgefunden wurde, welche ausschließlich infolge der Intoxikation starben, indem die infektiöse Wirkung durch Filtrierung oder Abtötung der Kulturen ausgeschaltet worden war. Das allgemeine Bild war ziemlich konstant und unabhängig von der Art des Tieres und von dem Wege, auf dem die Einverleibung des Toxins geschah. Die lokale Wirkung war hingegen je nach der Einführungspforte verschieden und stets in den Teilen am stärksten, mit welchen das Toxin zuerst in direkte und innige Berührung kam. So

erreichen beispielsweise die Alterationen des Unterhautgewebes den höchsten Grad, wenn das Toxin subkutan eingeführt wird.

Abgesehen von dieser lokalen Wirkung zeigte sich das Toxin, gleichgültig auf welchem Wege es eingeführt wurde, stets ziemlich aktiv. Die Tiere gingen oft zugrunde, zuweilen überlebten sie hingegen; dies bedeutet aber meistens nicht, daß sie empfänglich waren, sondern daß sie die Intoxikationskrankheit überstanden.

Dus klinische Bild der Intoxikation mit dem Toxin des Lugo-Bacillus hat keine ganz besonderen Charaktere: hat sich einmal der krankhafte Prozeß eingestellt, so wird das Tier apathisch, es bewegt sich nicht mehr, verliert die Freßlust, verweigert das Futter. Inzwischen tritt eine allgemeine Abschwächung des Organismus ein, welche forwährend zunimmt, das Tier liegt danieder, hat nicht mehr die Kraft, um in der normalen Lage zu stehen, fällt um und stirbt schließlich. Zuweilen tritt Durchfall auf, und zwar mehrere Stunden vor dem Exitus; dieses Symptom scheint nicht mit der Dauer der Krankheit sondern mit der eingeführten Toxinmenge zusammenzuhängen, da ich es nicht selten in ganz akut verlaufenen Fällen (Exitus nach 7—8 Stunden) beobachtete.

Die Dauer der Krankheit ist je nach der eingeführten Dosis und dem Wege der Einführung verschieden; gewöhnlich ist der Verlauf ein akuter und dauert wenige Stunden bis einige Tage. Eine lange Dauer war besonders bei der Einführung per os beobachtet.

In klinischer Hinsicht interessant ist auch bei diesen Versuchen der Verlauf der Temperatur, welcher uns erlaubt, den pathologischen Zustand des Tieres zu einer Zeit zu erkennen, wo der toxische Prozeß noch nicht so vorgeschritten ist, daß man ihn an anderen Zeichen erkennen könnte. Ich will einige Beispiele anführen:

1) Einem 480 g schweren (A) und einem 270 g schweren (B) Meerschweinchen wurden am 28. Juni 1911 3 ccm des sterilen Filtrates aus Bouillonkultur intraperitoneal inokuliert; der Verlauf der rectalen Temperatur war folgender:

| | | Meerschw. A | Meerschw. B |
|------------|------------------------|-------------|-------------|
| 29. 6. 11. | Um 9 Uhr morgens | 38,0° C | 36,4° C |
| | „ 11 „ vormittags | 37,2° | 34,0° |
| | „ 12 „ mittags | 36,0° | 33,3° |
| | „ 3 „ nachmittags | 33,8° | — |
| | „ 4 ^{1/2} „ „ | 31,2° | — |

Um 6 Uhr abends war das noch lebende Tier A in einem sehr schlimmen Zustande und starb nach kurzer Zeit.

2) Einem 180 g schweren Meerschweinchen wurden am 8. Juli 1911 2 ccm des sterilen Filtrates aus einer Bouillonkultur subkutan eingepf. Verlauf der rectalen Temperatur:

| | | |
|------------|-------------------|---------|
| 9. 7. 11. | Um 9 Uhr morgens | 38,8° C |
| | „ 12 „ mittags | 39,3° |
| | „ 6 „ abends | 39,9° |
| 10. 7. 11. | „ 9 „ morgen | 37,1° |
| | „ 12 „ mittags | 35,8° |
| | „ 3 „ nachmittags | 30,2° |

Um 4 nachmittags wurde das Tier tot gefunden.

3) 350 g schweres Meerschweinchen (A) und 200 g schweres (B). Während zwei Tagen (11. und 12. Juli 1911) Verfütterung eines Gemisches von Futter und durch Erwärmen auf 60—65° C abgetöteter Bouillonkultur. Verlauf der rectalen Temperatur:

| | | | Meerschw. A | Meerschw. B |
|------------|----------|-------------|-------------|--------------|
| 13. 7. 11. | Um 9 Uhr | morgens | 39,4° C | 38,2° C |
| | „ 6 „ | abends | 39,0° | 38,4° |
| 14. 7. 11. | „ 9 „ | morgens | 38,3° | 36,2° |
| | „ 12 „ | mittags | 37,0° | 33,0° |
| | „ 3 „ | nachmittags | 34,2° | tot gefunden |
| | „ 6 „ | abends | 32,0° | |

Das Tier stirbt nach kurzem.

Wir sehen also, daß auch hier, ähnlich wie infolge der Einimpfung frischer Kulturen, die Temperatur anfangs vielleicht eine geringe Erhöhung zeigt, aber dann sinkt, und daß die eingetretene Hypothermie zuerst langsam, später aber rasch zunimmt und schließlich eine sehr bedeutende wird (8—10° C unter der Norm). Das geschieht nicht nur, wenn die Krankheit mehrere Tage dauert, sondern auch, wenn sie einen ganz akuten Verlauf hat und das Tier in wenigen Stunden zum Tode führt. In einzelnen Fällen beobachtete ich kurz vor dem Tode eine Rectaltemperatur von 27° C.

Bei der Autopsie der infolge eines natürlichen Verlaufes des toxischen Prozesses zugrunde gegangenen Tiere findet man im Unterhautgewebe und in der thorako-abdominalen Muskelwand die Gefäße mehr oder minder stark kongestioniert, so daß man zuweilen ein deutliches Kapillarnetz beobachten kann.

Ein über eine weite Zone ausgedehntes gelatinöses Oedem hämorrhagischen Aussehens beobachtet man nur bei der subkutanen Einimpfung. Die Leisten- und Achsellymphdrüsen sind auch in Mitleidenschaft gezogen und sind stets sichtbar und hyperämisch, zuweilen so stark, daß sie eine intensive rote Farbe annehmen, ein Zustand dieser, den ich nicht besser als hämorrhagisch zu bezeichnen wüßte.

Der Bauch ist gewöhnlich, selbst bei der intraperitonealen Inokulation, weder aufgetrieben noch gespannt. Die Gefäße des parietalen Peritoneums und des Mesenteriums mit mit Blut ausgefüllt; bei der intraperitonealen Einimpfung findet man auch ein mehr oder minder hämorrhagisches Exsudat im Peritoneum. Die Leber und die Milz sind vielleicht etwas vergrößert; sie zeigen eine Hyperämie verschiedenen Grades, also eine mehr oder minder dunkle Verfärbung; diese Erscheinung ist jedoch bei der Leber oft wenig ausgesprochen. Dasselbe gilt für die Nieren, während die Nebennieren stets hyperämisch sind; dies jedoch in verschiedenem Grade, von einer schwachen rosigen bis zu einer dunkler roten Farbe, welche kleine Milzstücke vortäuschen könnte.

Am Verdauungsapparat findet man, gleichgültig auf welchem Wege die Einführung des Giftstoffes geschah, stets Veränderungen, und zwar zuweilen nur eine einfache Hyperämie der Dünndarmschlingen, zuweilen neben einer solchen Modifizierung des Dünndarminhaltes, welcher schleimig, fadenziehend, schmutzig weiß oder schmutzig gelb erscheint und auch im ganzen übrigen Darne diarrhoisch ist. Der Magen nimmt oft ein cyanotisches Aussehen an, dies jedoch nur bei der Einführung des Toxins per os; sein Inhalt ist nicht selten schleimig und glasartig.

In den Pleurahöhlen ist wenig Exsudat vorhanden, und zwar nur wenn auch die Peritonealhöhle solches enthält. Die Lungen sind in verschiedenem Grade, von einer ganz leichten rosigen Färbung bis zu einer dunkelroten hämorrhagischen Färbung hyperämisch; die Hyperämie ist jedoch nicht gleichmäßig über das ganze Organ verbreitet, sondern auf einen mehr oder minder großen Teil beschränkt.

Das Herz ist mit größtenteils flüssigem dunklen Blute gefüllt.

Die aus dem Blute und aus den Organen angelegten Kulturen bleiben stets steril.

Interessant scheint mir die von mir mehrmals beobachtete geringere Widerstandsfähigkeit des Tieres mit lädierter Leber gegen die Intoxikation. Bei den Versuchen mit Kaninchen habe ich nicht selten eine ziemlich schwere Coccidiose der Leber gefunden; in den betreffenden Fällen hatte der Krankheitsprozeß einen rascheren Verlauf gehabt und intensivere Erscheinungen geäußert, als bei in gleicher Weise behandelten Kaninchen mit gesunder Leber. Ich will ein Beispiel anführen:

Zwei Kaninchen von ungefähr demselben Gewichte (1 kg) wurden je 1,5 ccm einer abgetöteten Bouillonkultur in die Randvene des Ohres eingespritzt; das eine starb nach 8 Stunden, das andere nach 24 Stunden; die Leber des ersten zeigte eine schwere Coccidiose, diejenige des zweiten war normal.

Aehnliche Beobachtungen machte ich bei intraperitoneal injizierten Kaninchen.

Ich habe bereits erwähnt, daß nicht alle injizierten Tiere sterben, und die Vermutung geäußert, daß diejenigen, welche überleben, zwar erkranken aber heilen. Wodurch wird diese Annahme begründet? Ersteres durch die Tatsache, daß solche Tiere zuerst ähnliche Symptome aufweisen wie diejenigen welche zugrunde gehen, aber später wieder lebhaft werden, wieder fressen und sich erheben; zweitens durch die thermometrischen Beobachtungen, welche zeigen, daß während einer gewissen Zeit eine geringe Hypothermie (2° — 3° C unter der Norm) besteht, welche verschwindet, wenn sich die Gesundheitsverhältnisse erholen. Schließlich sprechen für meine Annahme auch noch die Spuren eines überstandenen Krankheitsprozesses, welche man bei der Autopsie solcher Tiere findet und welche hauptsächlich in hyperämischen Erscheinungen bestehen.

Wenn wir nun das klinische Bild der durch die Intoxikation umgebrachten Tiere mit demjenigen der Tiere vergleichen, denen eine lebende Kultur eingepflegt wurde, so finden wir bedeutende Beziehungen. Dasselbe gilt für das pathologisch-anatomische Bild. Daraus ist zu folgern, daß die infolge der Einimpfung lebender Kulturen auftretenden klinischen Erscheinungen und pathologisch-anatomischen Veränderungen größtenteils auf die toxische Wirkung des Lugo-Bacillus zurückzuführen sind, während die infektiöse Wirkung ihren höchsten Ausdruck in der Septikämie findet. Dieser Mikroorganismus ist also imstande, einen doppelten, toxisch-infektiösen Prozeß herbeizuführen.

Nachdem ich den in Frage stehenden Keim identifiziert und seine Pathogenität für Versuchstiere nachgewiesen hatte, schien es mir interessant, einige Untersuchungen auszuführen über seine

Widerstandsfähigkeit.

Der Bacillus aus Lugo ist, wie wir wissen, nicht sporenbildend und weist infolgedessen keine besondere Widerstandsfähigkeit auf.

Mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Bouillon- oder Agarkulturen werden durch ungefähr $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen auf 60 bis 65° C abgetötet. Dieselbe Temperatur tötet den Keim in 5 Minuten, wenn eine Oese einer Kultur in 2—3 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert wird.

Die feuchte Wärme (Temperatur über 65° C zerstört die Lebensfähigkeit des Keimes sehr rasch. Dieser widersteht nur wenig Sekunden freiströmendem Wasserdampf.

Der Keim widersteht besser der trockenen Wärme (mehr als 1 Stunde bei 65° C), der Austrocknung, dem diffusen Licht, wenig dem direkten Sonnenlicht und den Desinfizientien (2-proz. Karbollösung, 1-prom. Sublimatlösung).

In den Kulturen auf flüssigen oder festen Nährsubstraten bleibt der Keim sehr lange Zeit (6—7 Monate und selbst mehr) am Leben, wenn man die Kulturen vor dem Lichte und vor einer übermäßigen Austrocknung schützt.

Die Virulenz nimmt hingegen in den Kulturen ab; sie kann aber durch Tierpassagen wieder leicht hergestellt werden.

* * *

Ist nun der aus dem Fleische isolierte *Proteus* als der direkte oder indirekte Erreger der bei den Personen in Lugo beobachteten Beschwerden zu betrachten? Ich bin nicht in der Lage, diese Frage entscheidend zu beantworten, weil ich nicht die Faeces oder das Ausgebrochene der betreffenden Personen zur Verfügung haben konnte, um darin auf den Keim zu fahnden, ebenso wie ich nicht Blut derselben zur Verfügung haben konnte, um auf die eventuelle Anwesenheit von Antikörpern zu fahnden. Verschiedene Betrachtungen lassen jedoch die Annahme sehr wahrscheinlich erscheinen, daß diesem Keim eine große Bedeutung zukommt.

Aus den verschiedenen Proben des Fleisches wurden nur zwei Keime isoliert, und zwar einer, der auf Grund besonderer Untersuchungen als *B. mesentericus vulgatus* erkannt wurde und sich nicht pathogen erwies, und der *Proteus*, welcher sich tierpathogen erwies und auch die Fähigkeit zeigte, eine toxische Wirkung zu entfalten. Da kein Zweifel darüber bestehen kann, daß die bei den Personen beobachteten Beschwerden auf die Anwesenheit irgendwelcher Mikroorganismen in der betreffenden Wurst zurückzuführen sind, liegt, da nur zwei Keime aus dieser isoliert wurden, und eine eventuell von dem einen gespielte Rolle in Abrede gestellt werden konnte, die Annahme nahe, daß dem anderen, nämlich dem *Proteus*, eine Rolle in der Aetiologie der Krankheitserscheinungen zuzuschreiben sei.

Die Pathogenität dieses Keimes ist übrigens schon bei anderen Gelegenheiten in Frage gekommen. Wenn wir auch von verschiedenen Krankheitsprozessen beim Menschen absehen wollen, welche wir in der Literatur beschrieben finden und bei welchen die bakteriologischen Untersuchungen einen *Proteus* zutage förderten, welchem eine pathogene Wirkung zugeschrieben wurde, und uns nur auf die alimentären Intoxikationen beschränken, so finden wir mehrere Fälle berichtet, in denen man sich dazu veranlaßt fühlte, diesen Keim als die Ursache der durch das betreffende Fleisch herbeigeführten Störungen anzusprechen.

Von den am eingehendsten untersuchten Fällen will ich folgende erwähnen:

Lévy (3) fand den *Proteus* massenhaft im Fleisch, welches nach Aufbewahrung in einem schlechten Eisschranke verzehrt wurde und toxisch wirkte. Er konnte denselben Keim aus den Wänden des Eisschranks und aus den Organen einer infolge Fleischvergiftung gestorbenen Person isolieren.

Wesenberg (4) berichtet über eine Epidemie (63 Fälle), welche in Mansfeld infolge des Genusses des Fleisches einer Kuh auftrat; er konnte einen tierpathogenen Keim isolieren.

Glücks mann (5) betrachtet den Proteus als die Ursache einer bei 2 Personen beobachteten alimentären Vergiftung, welche rohes Fleisch eines geschlachteten Schweines genossen hatten. Eine dieser Personen starb und aus ihrem Körper konnte der Proteus isoliert werden.

In dem von Silberschmidt (6) mitgeteilten Fall handelt es sich um eine Epidemie von 45 Fällen, bedingt durch eine als Landjäger bezeichnete und aus Rind- (zuweilen auch Pferde-)Fleisch und Schweinefett zusammengesetzte Wurstart. Ein Fall endete letal; bei der Autopsie trat aber kein interessanter Befund zutage. Die Nahrung, welche die Störungen hervorgerufen hatte, zeigte keine Veränderungen ihrer organoleptischen Eigenschaften. Silberschmidt unterzog sie sorgfältiger bakteriologischer Untersuchungen im Vergleich zu ähnlichen aber nicht verdächtigen Produkten, und fand, daß in diesen keine, in jener Proteus zahlreich nachweisbar waren.

Der Genuß von Ochsenwurst rief bei 81 Soldaten kurzdauernde gastrointestinale Störungen hervor. Pfuhl (7), der die Wurst untersuchte, führte, da weder unorganische noch organische Gifte nachgewiesen werden konnten, auf welche die beobachteten Krankheitserscheinungen zurückgeführt werden können, die Beschwerden auf den Proteus mirabilis zurück, der im betreffenden Fleisch nachgewiesen wurde und sich tierpathogen erwies.

Ueber eine ähnliche, ebenfalls infolge Genusses von Rindfleischwurst aufgetretene Epidemie berichtet Schumburg, welcher in dem betreffenden Fleisch einen virulenten Proteus isolieren konnte. In allen diesen Fällen, meinen mitinbegriffen, handelt es sich also um Fleisch, welches Krankheitserscheinungen hervorgerufen hat und den Proteus enthält. Diese Vermehrung hätte an und für sich keine besonders große Bedeutung, wenn ihr eine solche nicht durch andere Umstände verliehen würde. Wir wissen in der Tat, daß die der Proteus-Gruppe angehörenden Mikroorganismen sehr verbreitet sind und infolgedessen einen nicht seltenen Befund bei der bakteriologischen Untersuchung der Nahrungsmittel, besonders derjenigen, die sich am leichtesten alterieren, bilden, und daß dieser Befund häufig in den Fällen beobachtet wird, wo der Prozeß der Fäulnis (wenn überhaupt von Fäulnis die Rede sein kann) noch so wenig vorgeschritten ist, daß man ihn weder an den organoleptischen Charakteren des betreffenden Nahrungsmittels, noch durch einfache chemische Untersuchungen, wie die Ebersche Reaktion, erkennen kann. Während jedoch der Proteus in den Fällen, wo er einen harmlosen und unschädlichen Saprophyten darstellt, nicht virulent ist, haben wir es in meinem und in den anderen erwähnten Fällen mit einer ganz anderen Sachlage zu tun, indem sich der Keim unzweifelhaft pathogen und toxisch erwies, und zwar auch bei Einverleibung auf dem Wege des Verdauungsapparates. Man muß somit anerkennen, daß es sich in diesen Fällen um ganz andere Mikroorganismen handelte als die entsprechenden gewöhnlichen harmlosen, und daß ihnen eine große Bedeutung zugeschrieben werden muß.

Auf welchem Wege ist der Proteus in das Fleisch gelangt? Obwohl kein Zweifel darüber möglich ist, daß er beim Menschen und bei Tieren Krankheitsprozesse hervorrufen kann, glaube ich in meinem Falle nicht annehmen zu müssen, daß der Keim bereits während des Lebens des Tieres, von welchem das Fleisch herstammte, in dem Organismus desselben vorhanden war, denn in diesem Falle hätte man eine ausgesprochene, leicht nachweisbare Veränderung des Fleisches beobachten

müssen, während, wie gesagt, keinerlei Alteration nachweisbar war. Wenn man somit die Präexistenz des Keimes im lebenden Organismus des Tieres, von welchem das Fleisch herstammte, ausschließt, muß man annehmen, daß er nach dem Tode des Tieres, und zwar meines Erachtens bei der Verarbeitung des Fleisches, in dieses gelangt sei. Der Proteus ist ein ziemlich widerstandsfähiger Keim und hat sich infolgedessen, da es sich um roh aufbewahrtes Fleisch handelte, in demselben lebend erhalten und vielleicht auch entwickeln können.

* * *

Aus dem Gesagten können wir folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Aus verschiedenen Proben einer Wurstart wurden ausschließlich 2 Bakterien isoliert, von denen die eine als *Bacillus mesentericus vulgatus* identifiziert wurde, während die andere als der Proteus-Gruppe angehörend und mit dem *Proteus vulgaris* identifizierbar erkannt wurde.

2) Diese beiden Keime sind in der Natur sehr verbreitet und stellen infolgedessen einen bei den bakteriologischen Untersuchungen, besonders bei denen von Nahrungsmitteln, ziemlich häufigen Befund dar. Der erste gehört jedoch zu einer Gruppe, welche nie als pathogen betrachtet oder vermutet wurde, während der andere (*Proteus*) nicht immer pathogen ist, aber zuweilen derartige pathogene Eigenschaften aufgewiesen hat, daß man ihn als tier- und menschenpathogen betrachten konnte.

3) Im gegenwärtigen Falle erwies sich der *Proteus* pathogen für Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Mäuse, Katzen, nicht pathogen für Hunde und Tauben. Er zeigte ferner toxische Eigenschaften, und zwar sowohl bei Einspritzung steriler Kulturfiltrate als auch bei Injektion abgetöteter Kulturen.

4) Das klinische und pathologisch-anatomische Bild ist in seinen Grundzügen, gleichgültig, auf welchem Wege die lebenden Kulturen oder die toxischen Produkte derselben einverleibt wurden, mehr oder minder konstant.

5) Die bedeutendsten Veränderungen führt der Keim im Verdauungsapparate herbei.

6) Das klinische und pathologisch-anatomische Bild, welches durch die reine Intoxikation (Ausschaltung des infektiösen Momentes durch Filtrierung oder Abtötung der Kulturen) hervorgerufen wird, entspricht demjenigen, welches infolge der Einimpfung lebender Kulturen, also unter der doppelten toxisch-infektiösen Wirkung, auftritt. Auf die toxische Wirkung ist die starke Hypothermie zurückzuführen, welche fortschreitend bis zum Exitus zunimmt; die infektiöse Wirkung ist durch die Septikämie angekündigt, welche man nach der Einverleibung lebender Kulturen stets beobachtet.

7) Aus dem Gesagten geht hervor, daß die toxischen Erscheinungen, welche bei den Personen auftreten, welche das in Frage stehende Fleisch

genossen hatten, höchstwahrscheinlich, wenn nicht mit völliger Sicherheit auf den aus diesem Fleische isolierten *Proteus* zurückzuführen sind.

Rom, September 1911.

Literatur.

- 1) Pergola, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.
- 2) Marzinowjky, Semenowicze, Manuale di microscopia e batteriologia dell'Abba. p. 210.
- 3) Lévy, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 34. 1894.
- 4) Wesenberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 28. 1898.
- 5) Glücksmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 25. 1899.
- 6) Silberschmidt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899.
- 7) Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900.
- 8) Schumburg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 41. 1902.

Nachdruck verboten.

Ein eigenartiger Schmarotzer an *Canthocamptus staphylinus* (*Canthocamptophilus Ludwigii* Reukauf).

Von **E. Reukauf**, Weimar.

Mit 9 Figuren im Text.

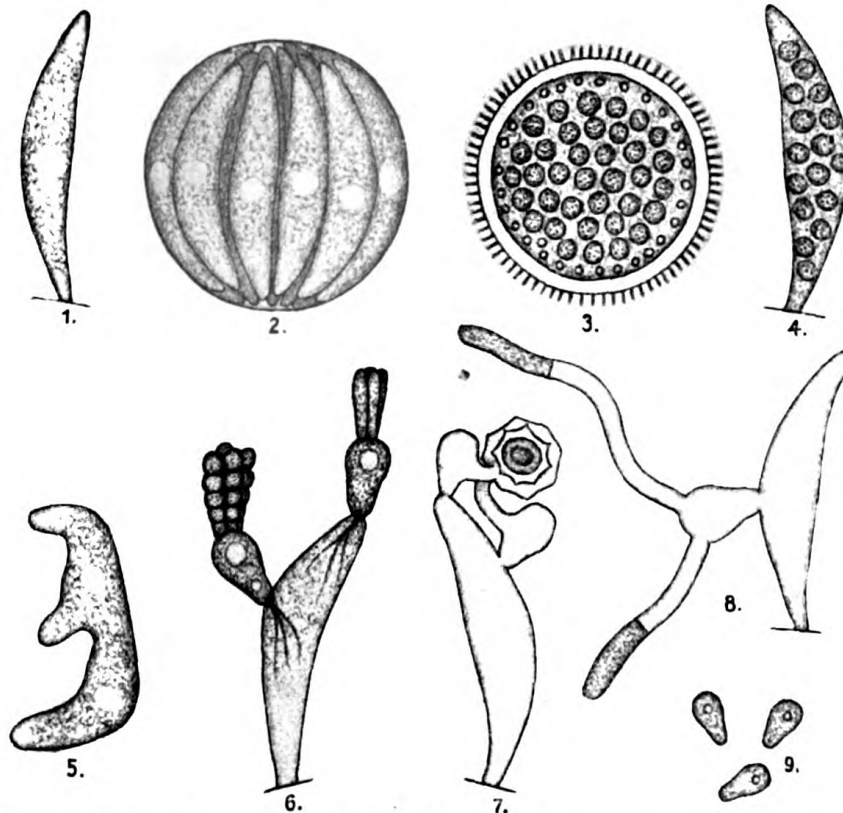
In einer an der Thüringer Bahn gelegenen Ausschachtung bei Weimar, die nur in den Wintermonaten und im Frühjahr Wasser enthält, im Sommer aber völlig austrocknet, fand ich, zum ersten Male bereits vor mehreren Jahren, den kleinen Ruderfußkreb *Canthocamptus staphylinus* oft mit eigentümlichen farblosen Sicheln besetzt (Fig. 1), die man bei oberflächlicher Betrachtung vielleicht für kleine *Amoebidium*-Schläuche halten könnte, die aber, wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, in Wirklichkeit mit diesem an kleinen Krustern sonst ja recht häufigen Parasiten nichts zu tun haben. Es handelt sich hierbei vielmehr um einen scheinbar nur auf *Canthocamptus* vorkommenden Schmarotzer, der, soviel ich habe feststellen können, noch nicht bekannt ist und den ich zu Ehren des als Mikrobiologen ja bestens bekannten Herrn Hofrat Prof. Dr. F. Ludwig, Greiz, *Canthocamptophilus Ludwigii* benennen will.

Die oben erwähnten Sicheln fanden sich hauptsächlich bei weiblichen Tieren, und zwar nicht nur an allen Körperteilen, sondern auch an den ihnen aufsitzenden Vorticellen und anderen Einzellern. In ganz auffallender Weise gehäuft aber zeigten sie sich meist an der Unterseite und deren Extremitäten, sowie an dem vom Männchen dem Weibchen am Hinterleib applizierten säbelscheidenförmigen Spermatophor. Unter Beachtung dieser Fingerzeige konnte ich denn auch bald die Herkunft der Sicheln feststellen. Sie stammen aus dünnwandigen Sporen (Fig. 2), die zu je 1—3 in den Eiern der Krebschen gebildet werden, und zwar so zahlreich, daß zuweilen der gesamte Inhalt der den Weibchen anhängenden Eiersäckchen infiziert ist. An den noch im Ovar befindlichen Eiern jedoch habe ich noch keine Spur von Infektion bemerkt.

Die Sporen finden sich gewöhnlich in demselben Eierballen in verschiedenen Entwicklungsstadien vor, sind also von verschiedener Größe und zeigen verschiedenartigen Inhalt. Die anfangs ziemlich gleichmäßige,

feinkörnige Innenmasse differenziert sich mit zunehmender Ausbildung mehr und mehr und zerfällt schließlich in die durchschnittlich $45\ \mu$ langen Sichel, die nach völliger Reife durch Platzen der Sporenhülle frei werden und sich dann besonders in der Umgebung des Eierballens an dem Wirtstier mit dem einen Pol festsetzen.

Die an gewisse Coccidienformen erinnernden, Sichelkeime produzierenden Sporen finden sich namentlich in den Wintermonaten; im Frühjahr, bei drohender Austrocknung des Tümpels, werden sie abgelöst durch



- Fig. 1. Ektoparasitärer Sichelkeim. Vergr. 825:1.
 Fig. 2. Dünnwandige Spore mit Sichelkeimen. Vergr. 575:1.
 Fig. 3. Dickwandige Spore im Durchschnitt. Vergr. 575:1.
 Fig. 4. Sichelkeim, mit Kügelchen gefüllt. Vergr. 825:1.
 Fig. 5. Monströser Sichelkeim. Vergr. 575:1.
 Fig. 6. Sichelkeim mit Konidienbildung. Vergr. 825:1.
 Fig. 7. Sichelkeim mit Zygosporienbildung. Vergr. 825:1.
 Fig. 8. Sichelkeim mit längeren Hyphen für Zygosporienbildung. Vergr. 825:1.
 Fig. 9. Zweifelhafte Gebilde aus der Leibeshöhle von *Canthocamptus staphylinus*. Vergr. 1400:1.

dickwandige, mit kleinen Kügelchen gefüllte und außen mit kurzen Strahlen besetzte Sporen (Fig. 3), die wohl als Dauerformen aufzufassen sind.

In kleine Kugeln ist zuweilen auch der Inhalt der ektoparasitären Sichel geteilt (Fig. 4), die übrigens dann und wann auch ganz leer — mit abgelöster Spitze — angetroffen werden.

Die den dünnwandigen Sporen entstammenden Sichel scheinen bewegungsfähig zu sein; wenigstens habe ich in Kulturtropfen mehrmals langsame wackelnde und drehende Vorwärtsbewegung an ihnen beobachtet, ohne daß Bakterien vorhanden gewesen wären, durch deren Anstoß die

Bewegung etwa verursacht worden wäre. Fortbewegungsorgane aber habe ich nicht an ihnen bemerkt. In den Kulturtropfen fanden sich manchmal auch monströse Sichel (Fig. 5), die fast den Eindruck machten, als seien sie durch Konjugation zweier normaler Exemplare entstanden.

Die ektoparasitären Sichel zeigen nun eine eigentümliche Art der Weiterentwicklung, die aus Fig. 6 ersichtlich ist. An ihrer freien Spitze oder an der Seite wachsen nämlich birnförmige Sprosse hervor, von deren Grunde ein zarter, wurzelartig geteilter Fortsatz in das Innere der Sichel hineinragt und die an ihrem Scheitel mehrere — meist 4 — dicht zusammenstehende und schließlich zerfallende Ketten von Konidien entwickeln, deren weiteres Schicksal ich jedoch noch nicht habe ermitteln können.

Wenn im Spätfrühling die Austrocknung des Tümpels bevorstand und Sichelkeime nur noch ganz spärlich gefunden wurden, dann beobachtete ich aber an diesen mehrfach auch noch Zygosporienbildung, wie solche durch Fig. 7 veranschaulicht wird. Daß dabei auch zuweilen ziemlich lange Hyphen von dem den Sichel aufsitzenen Promycel gebildet werden müssen, bevor es zur Konjugation kommt, ist aus Fig. 8 ersichtlich. Den Zygosporien fällt offenbar die Aufgabe zu, den Parasiten, der geradezu ein Bindeglied zwischen Sporozoen und Hyphomyceten darzustellen scheint, über die Trockenperiode hinweg zu erhalten, welchem Zweck ja wohl auch die dickwandigen, stacheligen Sporen dienen.

Ob auch die in Fig. 9 wiedergegebenen Gebilde, die ich mehrfach zahlreich in der Leibeshöhle infizierter Tiere antraf, in den Entwicklungskreis des beschriebenen Schmarotzers gehören, vermag ich nicht zu sagen.

Diesen selbst habe ich bis jetzt an keiner anderen als der eingangs erwähnten Stelle bei dem in stehenden Gewässern doch überall häufigen *Canthocamptus staphylinus*, aber auch bei keinem anderen Kruster vorgefunden.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit bakterieller und chemischer Rattenvertilgungsmittel.

[Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut der Freien und Hansestadt Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dunbar; Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Trautmann).]

Von Oberarzt Dr. Aumann, komm. zum Institut.

Mit 2 Tabellen im Text.

Die seit den letzten Jahrzehnten wieder in höherem Grade drohende Einschleppung von Pest durch Ratten hat in verstärktem Maße die Aufmerksamkeit auf die Notwendigkeit einer einheitlichen Bekämpfung der als Verbreiter der Seuche hauptsächlich in Betracht kommenden Nager gelenkt. Einer der wichtigsten Vorschläge, die Calmette (1) als Berichterstatter der „Sanitären Internationalen Kommission“ (7. Nov./18. Dez. 1911) in Paris zur Annahme vorlegte, lautete: „L'embarquement, à bord d'un navire de rats pesteux constitue le principal danger de propagation de la peste.

Le début des épizooties de peste chez les rats passe souvent in-

aperçu. Toutes mesures tendant à réduire d'une façon permanente la population murine à bord des navires et dans les ports contaminés ou indemnes, et aussi dans les localités exposées aux épidémies de peste, doivent être considérées comme de nature à apporter l'obstacle le plus efficace à la diffusion de la maladie."

Daß die Ratten auch des weiteren bei der Verbreitung von anderen Krankheiten, z. B. Paratyphusinfektionen etc., eine sicherlich nicht zu unterschätzende Rolle spielen, ist bereits verschiedentlich vermutungsweise geäußert worden; bündige Beweise hierfür zu erbringen, wird allerdings auf große Schwierigkeiten stoßen, aber manche dunkle Nahrungsmittelinfektionen lassen sich vielleicht auf diese Weise leicht und ungezwungen erklären.

Schließlich erreichen die Zahlen, die den von den Ratten der Landwirtschaft durch Vernichtung von Saaten etc. angerichteten Schaden angeben, eine solche Höhe, daß die durch den Kampf gegen diese Schädlinge verursachten Unkosten noch immer reichlich durch die erzielten Gewinne aufgewogen werden.

Diese wenigen Punkte weisen zur Genüge darauf hin, wie außerordentlich wichtig in hygienischer und volkswirtschaftlicher Beziehung eine umfassende Bekämpfung der Rattenplage ist. Von einem Erfolge können unsere Bekämpfungsmethoden aber nur dann begleitet sein, wenn uns einmal sicher und stets gleichmäßig wirkende Mittel zur Verfügung stehen. Neben einer leichten und bequemen Anwendungsweise wäre dann vor allem noch zu verlangen, daß diese Mittel keine Gefahr für den Ausleger selbst oder sonstige Lebewesen bedeuten. Die letztere Forderung hat sich allerdings bei allen uns zur Verfügung stehenden Rattenvertilgungsmitteln sowohl chemischer wie bakteriologischer Natur bisher nicht erfüllen lassen; es dürfte wohl überhaupt wenig Aussicht auf Gewinnung eines nur für Ratten pathogenen Mittels bestehen.

Der Hamburger Staat wendet seit langen Jahren eine erhebliche Summe für die Bereitstellung von Rattengiften auf, die zur Bekämpfung der Rattenplage sowohl innerhalb des Stadt- und des Landgebietes von Hamburg, wie auch auf den, den Hafen anlaufenden Schiffen zur Anwendung gelangen. Es besteht daher naturgemäß ein großes Interesse für die Frage, welches der so überaus zahlreichen und oft mit überschwänglichem Lob angepriesenen Rattenvertilgungsmittel uns dem anzustrebenden Ziel am nächsten brächte. Das Hygienische Institut ist aus diesem Anlaß bereits seit Jahren mit der Prüfung einschlägiger Präparate beschäftigt. Ich habe nun die während einer fünfjährigen Erfahrung (1905—1910) gesammelten Ergebnisse einer Durchsicht unterzogen und zusammengestellt.

Die Untersuchungen erstreckten sich einmal auf chemische Rattenvertilgungsmittel, als deren wichtigste Phosphor- und Meerzwiebelbrei für uns in Betracht kommen. Zur Prüfung gelangten sowohl Proben von Giften, wie sie für Hamburg von den damit betrauten Stellen angefertigt werden, als auch solche, die von anderen Seiten eingesandt oder uns auf unser Ansuchen überlassen wurden.

Ausgedehnte Untersuchungen wurden dann aber auch vor allen Dingen mit Rattenvertilgungsmitteln bakterieller Natur vorgenommen. Dabei handelte es sich durchgängig um solche Präparate, deren Wirkung in der Erzeugung einer Infektionskrankheit durch Bak-

terien der Paratyphusgruppe (Bact. ent. Gärtner) besteht oder angeblich bestehen soll.

Auf die Verfahren zur Vernichtung von Ratten auf Seeschiffen durch Einleiten von Gas (Nocht-Giemsascher und Clayton-Apparat) werde ich nicht eingehen. Ebenso nicht auf die Verwendungsmöglichkeit des Nocht-Giemsaschen Verfahrens zur Entrattung von Ländereien¹⁾.

A. Bakterielle Rattenvertilgungsmittel.

Folgende Präparate, deren Wirksamkeit eben durch Bakterien bedingt sein sollte, gelangten zur Untersuchung.

- 1) „Fort mit den Katzen“ Elberfelder Vertilgungsmittelfabrik.
- 2) Ratin I.
- 3) Rattenseuchebacillen, Dr. Noerdlinger, Flörsheim.
- 4) Rattenpest.
- 5) Hausdörfers Bakterienpräparat.
- 6) Rodro II.

Die Grundlagen für die ausgeführten Untersuchungen, insonderheit für die, die ich persönlich im Jahre 1910 durchgeführt habe, finden sich in der ausführlichen Arbeit Trautmanns (2): „Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger“; ich gebe daher keine Angaben über Versuchsanordnung etc., zumal es mir nur darauf ankommt, in Kürze über die erzielten Ergebnisse zu berichten.

In den ersten beiden Präparaten wurden Bakterien nachgewiesen, die kulturell und serologisch als Bact. ent. Gärtner identifiziert wurden. Bei der Kultur „Rattenseuchebacillen“ handelte es sich um eine Mischkultur von Gärtner-Bakterien und Kokken. Ob hierdurch ein besonders guter Erfolg erzielt werden sollte, vermag ich nicht anzugeben. Unsere Ergebnisse sprechen allerdings nicht dafür. Die Kultur des unter dem Namen „Rattenpest“ vertriebenen Mittels ergab Trautmann zwei verschiedene, gelatineverflüssigende (also nicht Paratyphus-) Stämme. Das Mittel „war so gut wie wirkungslos“.

Bezüglich der Stellung des Bacillus Ratin stehe ich (3) mit der Mehrzahl der übrigen Autoren [Trautmann (2), Xyländer (4), Lebram (5), Hübner (6)] entgegen Bahr, Raebiger und Grosso (7) auf dem Standpunkt, daß er als echtes Bact. ent. Gärtner zu bezeichnen ist, wie ich auch bereits an anderer Stelle betont habe.

Wenn Bahr stets darauf hinweist, daß bisher noch keine Krankheitsfälle nachgewiesen seien, die als Infektionen beim Auslegen von Ratinkulturen im Zusammenhang gedeutet werden könnten, so genügt meiner Meinung nach zur Klärung der Frage der Menschenpathogenität des Ratinstammes schon der Hinweis, daß eben der Originalstamm bei einem an Cystitis erkrankten Kinde isoliert wurde. Daß er daher tatsächlich einmal menschenpathogen gewesen ist, halte ich nach dieser Sachlage für ziemlich sicher. Wünschenswert wären allerdings für den erwähnten Krankheitsfall zu einem sicheren Beweisschluß noch

1) Ich verweise auf die Arbeit von Giemsa „Ueber die Vernichtung von Ratten und anderen für die Verbreitung von Menschenpest in Betracht kommenden Nagetieren (Erdhöhlenbewohnern) durch Kohlenoxyd“ (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 15. 1911. p. 461), sowie auf die Ausstellung der Hamburger Desinfektionsanstalten in Dresden „betr. Rattenvertilgung im Zoologischen Garten in Hamburg und Bekämpfung der Wühlmaus auf der Insel Neuwerk mit Kohlenoxyd nach Nocht-Giemsascher“ (Sonderkatalog der Gruppe Desinfektion. p. 11 u. 12).

serologische Untersuchungen gewesen; aber auch so, glaube ich, hieße es den Verhältnissen Zwang antun, wollte man in diesem Falle das „Bact. Ratin“ — natürlich richtiger ent. Gärtner — nicht als ätiologischen Erreger der beobachteten Cystitis betrachten. Es sollte daher noch viel entschiedener Einspruch erhoben werden, wenn von gewissen Seiten immer wieder die Unschädlichkeit der bei der Rattenvertilgung benutzten bakteriellen Präparate betont wird. Im übrigen sind auch bereits von verschiedenen Seiten Fälle von Infektionen bei dem Auslegen bakterieller Rattenvertilgungsmittel mitgeteilt worden, so daß die Frage wohl als geklärt betrachtet werden kann.

Sowohl in „Hausdörfers Bakterienpräparat“, sowie in „Rodro II“ konnten keine Bakterien nachgewiesen werden, obwohl sie als Bakterienpräparate bezeichnet waren. Bei dem Hausdörferschen Bakterienpräparat lassen auch schon die Angaben der Firma den Schluß zu, daß wir es nicht mit einer Bakterienwirkung zu tun haben. Die Wirkung soll nämlich bereits nach Verlauf von 24 bis 48 Stunden nach der Aufnahme eintreten. Eine Toxinwirkung scheint ausgeschlossen, da die Präparate bei subkutaner Einverleibung völlig unwirksam waren. Nach den klinischen Erscheinungen und den Sektionsbefunden handelt es sich bei beiden Präparaten vielmehr um typische Meerzwiebelwirkung. Ich komme später nochmals auf diese Präparate und ihren Wert zurück.

Es läßt sich daher vermutungsweise annehmen, daß sie, vielleicht analog der früheren Zusammensetzung des Ratins II, sowohl Bakterien als auch *Scilla maritima* enthalten sollten, um durch diese Kombination eine bessere Wirkung zu erzielen. Bei Ratin II hat man allerdings bekanntlich diese Zusammensetzung wieder aufgegeben, da die erhofften Ergebnisse nicht erzielt wurden, die Bakterien auch bereits nach kurzer Zeit in dem Präparat nicht mehr nachweisbar waren (Bahr, Ueber Ratin II).

Das „Hausdörfersche Bakterienpräparat“ und „Rodro II“ zeigen allerdings gegenüber reinen Bakterienpräparaten eine etwas höhere Wirksamkeit; aber einmal widerspricht die Angabe des Lieferanten der tatsächlichen Zusammensetzung; des weiteren steht die Höhe des Preises in durchaus keinem Verhältnis zu den Erfolgen, denen gegenüber die mit einfachem Meerzwiebelpräparat erzielten Ergebnisse wohl als gleichwertig, zum mindesten aber nicht als schlechter zu bezeichnen sind.

Die Rattenvertilgungsmittel 4 und 5 scheiden daher bei der Beurteilung der Wirksamkeit bakteriologischer Mittel aus, so daß sich die Ergebnisse auf die Mittel „Fort mit den Katzen“, „Ratin I“, „Ratten-seuche bacillen“ und „Rattenpest“ beziehen.

Trautmann hatte bei seinen Versuchen unter günstigsten Bedingungen (Virulenzsteigerungen) nur in etwa 45—50 Proz. Erfolge zu verzeichnen. Die Untersuchungen hatte er an Sielratten vorgenommen, während der größte Teil der von mir ausgeführten Prüfungen an weißen Ratten vorgenommen war. In der Praxis, bei der naturgemäß nur mit ungünstigen Bedingungen gerechnet werden muß, dürfen die Erfolge wohl unbedenklich als bedeutend geringer angenommen werden, denn durch umfangreiche serologische Untersuchungen ist von verschiedenen Autoren bereits Trautmanns (2) Nachweis von Schutzstoffen im Blute bestimmter Ratten bestätigt worden, so daß in einem großen Prozentsatz das Vorhandensein einer natürlichen Immunität berücksichtigt werden muß. Auch seine Annahme, daß „der Erfolg von Bakterienkulturen

überhaupt im Kampfe gegen die Ratten aus biologischen und mechanischen Gründen stets ein eingeschränkter sein“ dürfte, ist im großen und ganzen bisher stets bestätigt worden und kann auch durch die Angaben Bahrs etc. nicht erschüttert werden¹⁾.

Als Ergebnis der nun in den erwähnten 5 Jahren von uns angestellten Untersuchungen hat sich gezeigt, daß wir bei der Anwendung von Bakterienkulturen in frischem, also unter günstigen Umständen virulentem Zustande im Durchschnitt mit einem Erfolg von rund 33 $\frac{1}{3}$ Proz. zu rechnen haben. Bei Verwendung älterer oder nur einige Tage der Witterung ausgesetzter Präparate — die Virulenz nimmt schon in kurzer Zeit ab — sinkt die Zahl auf sogar nur 20 Proz. herab.

Diese Zahlen sind also nur durchaus ungünstige. Sie finden eine weitere Bestätigung darin, daß bei der praktischen Anwendung eines bakteriellen Rattenvertilgungsmittels im allgemeinen noch die Auslegung eines weiteren Präparates, das wohl meistens Meerzwiebel enthält, als unbedingt erforderlich bezeichnet wird. Daß allerdings durch ein kombiniertes Verfahren — zuerst Auslegen eines bakteriellen Rattenvertilgungsmittels, nach 2—3 Wochen eines Meerzwiebelpräparates, wie es bei dem Ratinverfahren verlangt wird — bedeutend bessere Ergebnisse zu erzielen sind, ist bedingungslos zuzugeben. Für uns stand aber nur die Frage der Wirksamkeit bakterieller Präparate allein zur Diskussion, und da hat sich, wie aus den im vorstehenden mitgeteilten Zahlen hervorgeht, eben ergeben, daß die Wirkung eine durchaus unbefriedigende ist.

Aus einem weiteren und in erster Linie ins Gewicht fallenden Grunde ist aber für eine Stadt von dem Charakter Hamburgs, die durch ihren ausgedehnten Welthandel einer Einschleppung von Seuchen am meisten ausgesetzt ist, die Stellungnahme zu der Anwendung von bakteriellen Rattenvertilgungsmitteln von besonderer Wichtigkeit. Bereits 1904 hatte Dunbar auf Grund von Untersuchungen, die anlässlich einer Paratyphusepizootie unter den Ratten des Hygienischen Instituts vorgenommen wurden, auf das pestähnliche Symptomenbild bei Paratyphusinfektionen der Ratten hingewiesen. Trautmann (2) hat die Characteristica des Befundes, der auch bei der Diagnose der Rattenpest in differentialdiagnostischer Beziehung von außerordentlicher Wichtigkeit ist, in seiner bereits erwähnten Arbeit beschrieben. Auf Grund der damaligen Untersuchungen hat Dunbar von einer Verwendung von Bakterien der Paratyphusgruppe bei einer Bekämpfung der Rattenplage in Hamburg entschieden abgeraten²⁾.

1) Mereshkowsky bestreitet in Bd. 62 (1912) dieser Zeitschrift eine, übrigens schon von Mühlens, Dahm und Fürst (ebenda, 1909, Bd. 48) bestätigte Angabe Trautmanns (Zeitschr. f. Hyg. 1906. Bd. 54), daß man durch Anzucht eines avirulenten Rattenbacillus auf mit Taubenblut benetztem Agar die Virulenz des Stammes für zahme Ratten zu steigern vermöge. Offenbar ist Mereshkowsky hier, wie in anderen Punkten, im Unrecht. Denn er nimmt graue Ratten, übersieht also, daß Trautmann ausdrücklich mehrfach ausführt, daß und warum die genannte Beobachtung für graue (wilde) Ratten nicht zutrefte, sondern nur für nicht immune weiße Zuchtratten.

2) Da das Hygienische Institut sich amtlich mit der Untersuchung pestverdächtiger Ratten beschäftigt (die beigelegte Tabelle I zeigt die Zunahme dieser Untersuchungen seit 1900), so muß diese Maßnahme als unbedingt notwendig bezeichnet werden.

Daß eine Verwendung von bakteriellen Bekämpfungsmitteln bei der großen Zahl des Untersuchungsmaterials gerade durch das betonte mikroskopisch und makroskopisch

B. Chemische Rattenvertilgungsmittel.

Erheblich günstigere Ergebnisse konnten wir bei unseren Untersuchungen mit der Verwendung chemischer Rattenvertilgungsmittel erzielen.

Wir müssen hier hauptsächlich zwei Klassen von chemischen Mitteln unterscheiden, und zwar einmal solche, die als wirksames Agens Meerzwiebel enthalten; die 2. Klasse umfaßt die große Reihe der Phosphorpräparate. Ich werde außerdem noch mit einigen Worten auf das neuerdings zur Vertreibung und Vertilgung fast sämtlicher Arten von Ungeziefer angepriesene Saprol eingehen.

1. Meerzwiebelpräparate.

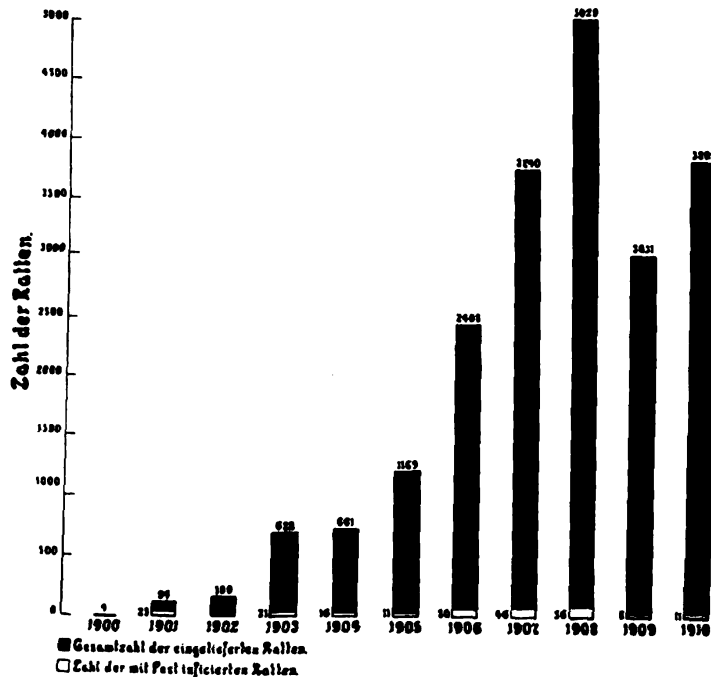
Bei der Berechnung der durch Verwendung von Meerzwiebelpräparaten erzielten Ergebnisse habe ich die bereits oben erwähnten Präparate

- 1) Hausdörfers Bakterienpräparat
- 2) Rodro II

mitberücksichtigt, da ihre Wirksamkeit auf den Gehalt von Meerzwiebel zurückzuführen ist. Des weiteren gelangten noch zur Untersuchung

an Pest erinnernde Bild die Untersuchung außerordentlich schweren, und den Abschluß einer sicheren Diagnose in die Länge ziehen kann — ferner daß wir bei dem Bacterium ent. Gärtner auch mit fehlender Beweglichkeit und Agglutinabilität zu rechnen haben,

Tabelle I.



habe ich (8) vor einiger Zeit beschrieben — unter Umständen auch zu unnötigen Beunruhigungen führen würde, braucht nicht weiter erörtert zu werden. Alles Gründe, die um so mehr ins Gewicht fallen, da die mit bakteriellen Rattenvertilgungsmitteln zu erzielenden Erfolge als außerordentlich gering und in keiner Weise zufriedenstellend bezeichnet werden müssen.

Schließlich ist noch die Gefahr einer Verstreuung der Keime durch immun gewordene Ratten und geradezu künstlich gezüchtete Bacillenträger unter ihnen nicht zu gering zu veranschlagen.

- 3) Ratin II,
- 4) „Fort mit den Katzen“, Elberfelder Rattenvertilgungsfabrik. „Verbessertes Präparat.“
- 5) Rat extern,
- 6—9) Meerzwiebelpräparate der Lieferanten für den Bundesstaat Hamburg.

Die Wirksamkeit war bei sämtlichen geprüften Mitteln eine durchgängig gleich große. Wurden die Meerzwiebelpräparate in frischem Zustande verfüttert, so gingen die Tiere in rund 75 Proz. der Fälle zugrunde; aber auch mit Mitteln, die mehrere Tage den Einflüssen der Witterung ausgesetzt waren, erzielten wir noch in 60 Proz. günstige Ergebnisse. Sehr alte Präparate gelangten nicht zur Untersuchung; irgendwelche beachtenswerte Ergebnisse wären auch kaum zu erzielen gewesen. Die Laboratoriumserfolge sind also bei der Verwendung von Meerzwiebelpräparaten durchschnittlich doppelt so gute als bei der Verwendung von bakteriellen Rattenvertilgungsmitteln, ein Ergebnis, das auch in der Praxis durchaus bestätigt wird. Diese Zahlen machen auch die Ergebnisse von ungefähr 100 Proz., die bei dem erwähnten kombinierten Ratinverfahren erzielt werden, leicht verständlich, da wir eben mit der Summation zweier für sich allein nicht zum Ziele führender Mittel zu rechnen haben.

2. Phosphorpräparate.

Die günstigsten Ergebnisse bei der Bekämpfung der Rattenplage werden bekanntlich bei der Verwendung von Phosphorpräparaten erzielt. Dementsprechend ist die Zahl der einzelnen Präparate eine sehr große, zumal sie auch sehr leicht in kleineren Betrieben hergestellt und somit immer in frischem Zustande geliefert werden können; ein Punkt, der gerade bei der Anwendung von Phosphorpräparaten besonders wichtig ist. In seinen Vorlesungen für Schiffsärzte schreibt Nocht: „Von den vielen in Gebrauch befindlichen Rattengiften kann nach unseren Erfahrungen nur der Phosphor empfohlen werden, weil phosphorhaltige Nahrung fast immer gern von den Ratten genommen wird, namentlich wenn sie recht fett ist. . . .“

Auch im Hamburger Staatsgebiet gelangen durchgängig phosphorhaltige Mittel zur Anwendung, und zwar mit zufriedenstellendem Erfolge; die hohen Prozentzahlen, wie wir sie allerdings bei unseren Laboratoriumsversuchen erreicht haben, wird man leichterklärlicherweise in der Praxis nie erwarten dürfen.

Es gelangten im ganzen zur Anwendung 15 phosphorhaltige Präparate, deren Aufzählung im einzelnen kein Interesse bietet.

Mit frischen oder gut verschlossen gehaltenen Phosphorpräparaten erzielten wir in 100 Proz. Erfolge; werden aber Phosphorpräparate nur wenige Tage der Luft und dem Sonnenschein ausgesetzt, so nimmt ihre Wirksamkeit ab; wir konnten allerdings auch dann noch in 96 Proz. einen Erfolg erzielen; ich bemerke aber nochmals, daß die Ergebnisse durch Laboratoriumsversuche festgestellt wurden, die naturgemäß günstiger ausfallen müssen, als sie bei Bekämpfung der Rattenplage in praxi erzielt werden. Wir werden daher auch trotz der guten Wirksamkeit der Phosphorpräparate nie damit rechnen können, durch Anwendung dieses Mittels allein zum Ziele zu gelangen.

3. Saprol.

Saprol, ein Gemisch von 80 Teilen roher Karbolsäure und 20 Teilen Mineralöl, wird im allgemeinen zur groben Desinfektion bei Aborten etc. angewendet; durch die Beimengung der leichten Kohlenwasserstoffe schwimmt es zunächst auf den zu desinfizierenden Massen und dringt dann allmählich in die Tiefe, so daß sich seine Wirkung auf Lebewesen aus dem völligen Luftabschluß und der Kresolwirkung, die der der Phenolvergiftung gleicht, erklären läßt.

Bei dem Saprolverfahren ist die Vertreibung der Ratten — eine Vernichtung der Ratten findet nicht statt — wohl lediglich auf den Geruch des Saprois zurückzuführen. Dieser scheint ihnen äußerst unangenehm zu sein, wie mir auch auf meine Anfrage bei der chemischen Fabrik Flörsheim mitgeteilt wurde, so daß diese Nager die mit Saprol behandelten Stellen meiden. Da der Wert des Saprois praktisch nur in einem Fernhalten der Ratten von bestimmten Stellen zu erblicken ist, so kommt es eigentlich nur für isoliert liegende Gebäude in Betracht. Für räumlich ausgedehnte Bekämpfungsgebiete, also ein bebaute und vor allen Dingen mit Sielleitungen versehene Stadtteile, ist dieses Verfahren kaum zu empfehlen, scheint wohl überhaupt im großen kaum anwendbar zu sein.

Wir haben unsere Versuche zur Feststellung des Wertes des Saprolverfahrens in dem isoliert liegenden Tierstall des Hygienischen Instituts, in dem sich ein Ueberhandnehmen von Sielratten längere Zeit bemerkbar machte, vorgenommen. Sämtliche von außen sichtbaren Löcher in dem Mauerwerk, in den Holzverschalungen etc. wurden gründlich mit Saprol begossen, mit Glassplittern ausgefüllt und nochmals mit Saprol begossen. Im Innern des Gebäudes wurden alle erreichbaren Ecken und Winkel ebenfalls mit Saprol reichlich bestrichen. Trotz unseres gründlichen Vorgehens haben wir eine Abnahme oder gar ein völliges Verschwinden der Ratten und Mäuse nicht feststellen können.

Zu gleicher Zeit wurden von den öffentlichen Desinfektionsanstalten auf mehreren Grundstücken, auf denen die Ratten trotz wiederholten Giftlegens infolge ständigen Zuzuges aus defekten Sielen nicht beseitigt werden konnten, Versuche mit Saprol ausgeführt. Da aber das Saprol, wie bereits oben bemerkt, nur eine Vertreibung der Ratten bewirkt, so mußte damit gerechnet werden, daß sich in Nebenräumen und anliegenden Gebäuden die Rattenplage dann in verstärktem Maße bemerkbar machen würde. Diese Beobachtung wurde auch tatsächlich erhoben.

Von Wichtigkeit war daneben noch die Feststellung, wie lange die Wirkung des Saprois anhielt, und ob und wann sich wieder Ratten von neuem an den behandelten Stellen eingefunden hätten.

Die Versuche wurden in 6 Gebäuden unternommen; die Rattenschlupflöcher wurden mit Saprol ausgesprengt, danach mit Saprol durchtränkte Zeugstücke in die Löcher eingelegt. In den sechs auf diese Weise behandelten Gebäuden wurde nun zunächst tatsächlich das Verschwinden der Ratten festgestellt; zugleich wurde aber in den angrenzenden Wohnungen über eine plötzlich bemerkte Rattenplage Klage geführt.

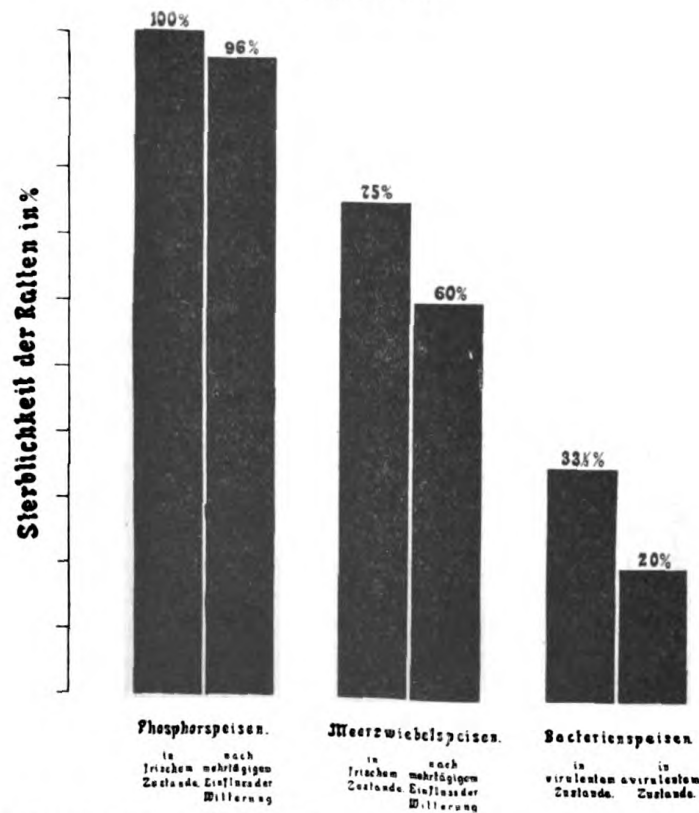
Einige Wochen nach den angestellten Versuchen hatten sich in sämtlichen mit Saprol behandelten Gebäuden die Ratten wieder in gleicher Menge eingestellt wie vorher. Ein anderes Ergebnis war ja auch von vornherein gar nicht zu erwarten gewesen.

Immerhin wird durch die Untersuchungen bestätigt, daß man Saprool bei allein stehenden Gebäuden mit einem gewissen Erfolge wird anwenden können.

Untersuchungen über die Wirkungen des Saprools zur Fernhaltung der Ratten von Schiffen, die ich für außerordentlich wichtig und auch in gewisser Beziehung für aussichtsreich halte, liegen bisher noch nicht vor. Aber auch dann werden wir jedes Rattenvertreibungsverfahren — wohl in erster Linie Saproolbehandlung — stets mit einem oder mehreren Rattenvertilgungsverfahren — Gift legen, bei Schiffen vor allen Dingen Ausgasen nach dem Nocht-Giemsaschen Verfahren — verbinden müssen.

Daß wir bei der Anwendung eines einzigen Rattenvertilgungsmittels, welcher Art es auch sei, niemals durchgreifenden Erfolg bei der Bekämpfung der Rattenplage erzielen können, ist von Kollé (10) mit Recht hervorgehoben und wird durch unsere Ergebnisse nur bestätigt. Nachstehende Tabelle, in der ich die von uns mit den einzelnen Mitteln festgestellten Ergebnisse übersichtlich zusammengestellt habe, mag dieses nochmals zum Ausdruck bringen.

Tabelle II.



Denn selbst bei der Anwendung von Phosphorbrei werden wir in Wirklichkeit wegen des rasch eintretenden Nachlassens seiner Wirksamkeit unter den Witterungseinflüssen immer nur mit einer unvollständigen Rattenvernichtung rechnen müssen. Und nicht zuletzt dürfen wir bei der Bekämpfung der Ratten die Natur der äußerst vorsichtigen Nager nicht außer acht lassen, die bei dem Auftreten von Massensterben unter

ihren Artgenossen mißtrauisch und dann bei der Aufnahme von Nahrung äußerst wählerisch werden.

Zusammenfassung.

Von den im allgemeinen zur Anwendung gelangenden Rattenvertilgungsmitteln hat sich auf Grund der in den Jahren 1905--1910 gesammelten Erfahrungen und durch Prüfung von insgesamt 30 Präparaten gezeigt, daß mit Phosphorpräparaten die besten Erfolge (100—96 Proz.), mit Meerzwiebelgiften noch zufriedenstellende (75—60 Proz.), mit bakteriellen Mitteln dagegen nur unbefriedigende Ergebnisse ($33\frac{1}{3}$ —20 Proz.) erzielt werden.

Die Anwendung der üblichen bakteriellen Rattenvertilgungsmittel aus der Paratyphusgruppe ist in Hafenstädten wegen des pestähnlichen Symptomenkomplexes, wie er durch die in Betracht kommenden Infektionserreger bei Ratten erzeugt wird, abzulehnen.

Durch die Verbindung mehrerer Rattenvertilgungsmittel — analog etwa dem Ratinverfahren — läßt sich im allgemeinen eine zufriedenstellende Wirkung erzielen.

Saprol bietet gewisse Vorteile bei der Befreiung allein stehender Gebäude von Ratten. Versuche auf Schiffen sind wünschenswert.

Literatur.

- 1) Calmette, Conf. San. Internat. de Paris en 1911. (Rev. d'Hygiène. T. 34. 1912. p. 6.)
- 2) Trautmann, Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906. p. 104.)
- 3) Aumann, Ueber die Ubiquität der Bakterien der Paratyphusgruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911. p. 310.)
- 4) Xylander, Der Ratinbacillus als Rattenvertilgungsmittel. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 28. 1908. p. 145.)
—, Ratin. I und II., sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtner-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1910. p. 445.)
- 5) Lebram, Ratinbacillus und Bact. enteritidis Gärtner. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 315.)
- 6) Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. Jena (G. Fischer) 1910.
- 7) Bahr, Ueber die zur Vertilgung von Ratten und Mäusen benutzten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 263.)
—, Die Resultate der Versuche zur rationellen Rattenvertilgung etc. (Ibid. Bd. 52. 1909. p. 441.)
—, Ueber Ratin. II. (Ibid. Bd. 54. 1910. p. 228.)
Bahr, Raebiger u. Grosso, Vergleichende Untersuchungen über den Bacillus paratyphi B etc. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 5. 1908/09. p. 295.)
—, Ratin. I und II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 231.)
- 8) Aumann, Praktisches und Theoretisches zur Frage der Fleischvergiftung. (Med. Klinik. Bd. 7. 1911.)
- 9) Nocht, Vorlesungen für Schiffsärzte. Leipzig (G. Thieme) 1906. p. 214.
- 10) Kolle, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1905. p. 289.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Culiciden und Mitteilung über das Vorkommen von *Phlebotomus papatasi* Scop. im Kanton Waadt (Schweiz).

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

Mit 3 Figuren.

Unsere Beobachtungen über Culiciden, von Ende Oktober 1910 bis Ende Oktober 1911 sind, zusammengefaßt, folgende:

a) Beobachtungen über die Ueberwinterung der Culiciden.

In der Orbeebene (Kanton Waadt) überwinterten Larven von Culiciden und *A. bifurcatus* in ziemlicher Menge. Eier von *Culex* schlüpften auch im Laufe des Dezembers aus. Am 4. Dezember 1910 (Lufttemperatur + 4°, Wassertemperatur + 4°) fanden wir 1—2 Tage alte *Culex*-Larven, außerdem fanden wir am 24. Dezember 1910 (Lufttemperatur — 1°, Wassertemperatur unter einer dünnen Eisdecke + 1°) kleine Larven von *A. bifurcatus*, die von sehr kurzer Zeit ausgekrochen zu sein schienen. Im Winter eingesammelte und ins Laboratorium gestellte Larven, welche mit gestoßenen Krustentieren gefüttert wurden, welche sie mit Vorliebe fressen, gaben die ersten Imagines von *C. nemorosus* am 26. Februar 1911 (Lufttemperatur + 20°). Die ersten aus in toten Blättern überwinterten Eiern von *Culex* ausgekrochenen Larven fanden wir am 12. März 1911 (Lufttemperatur + 7°, Wassertemperatur + 6°); diese Larven schienen 1—2 Tage alt zu sein. Die Eier von *C. velutinus* waren schon im Februar ausgekrochen. Den 19. Februar 1911 (Lufttemperatur + 8°, Wassertemperatur + 1°) hatten wir mehrere mittelgroße und große Larven gefunden.

In den Pfützen fanden wir die ersten Puppen von *C. nemorosus* und *A. bifurcatus* am 23. April 1911 (Lufttemperatur + 7°, Wassertemperatur + 15°), und am 30. April 1911 (Lufttemperatur + 13°, Wassertemperatur + 11°) sahen wir in denselben die ersten Imagines von *C. nemorosus*.

Larven von *A. bifurcatus* und *A. maculipennis* haben wahrscheinlich dieses Jahr auch wieder in Sondrio (Veltlin) überwintert, denn am 18. März 1910 (Lufttemperatur + 9°, Wassertemperatur + 10°) fanden wir daselbst zahlreiche große und mittelgroße Larven der ersten Art und eine große der zweiten. Diese letztere verpuppte sich am 28. März und entwickelte ein ♂ von *A. maculipennis* am 1. April. Im Laufe des Winters 1910—1911 überwinterten Imagines von *C. pipiens* massenhaft in den Kellern der Häuser in Yvonand und Orbe (Kanton Waadt). Diese Imagines, nur ♀, hafteten, eng aneinander gedrückt, an den Mauern der Keller und bildeten einen förmlichen braunschwarzen Ueberzug. Sie blieben unbeweglich. Verscheuchte man sie, so zeigten sie keine Stechlust, und suchten sogleich eine andere ungestörte Ecke der Kellerwand auf. Diese Imagines bezogen die Kellerräume in der zweiten Hälfte Oktober und blieben dort bis gegen April.

Einige Exemplare von *Theobaldia annulata* ♂ und ♀ überwinterten in den Stuben eines Hauses in Orbe. Am 23. und 30. Oktober 1910 steckten wir in eine Glasschachtel, die eine kleine Schale

Zuckerwasser enthielt, ein ♀ von *Th. annulata* und ein ♀ von *A. maculipennis*. Die zwei Imagines sah man oft auf dem Rande der Schale, wo sie die Zuckerlösung saugten. Das ♀ von *A. maculipennis* starb am 8. Dezember 1910 durch Unfall, das von *Th. annulata* am 18. Dezember.

Wir konnten feststellen, daß, wenn man im Winter Imagines von Culiciden in den Stuben fängt und sie dann in Glasschachteln stellt, dieselben gewöhnlich in sehr kurzer Zeit eingehen; bleiben sie hingegen frei in den Stuben, so überleben sie den ganzen Winter.

b) Ueber die Häufigkeit der Culiciden im Jahre 1911.

Wie im Jahre 1910 waren *C. nemorosus*, *C. pipiens*, *A. bifurcatus*, *A. maculipennis* häufig im Sommer 1911. Die erste Art war äußerst zahlreich und lästig in den zwischen 1500 und 1800 m hoch gelegenen Tannenwäldern des Veltlins und auch bis über 2000 m. Wir fanden auch *C. pipiens* auf der Alp Saoseo (1900 m, Val di Campo, Graubünden), in der Umgebung vom Bernina-Hospiz (2370 m) und erhielten *Th. annulata* zugeschickt, die 1300 m hoch im Kanton Wallis gefangen worden war.

c) Ueber Culicidenbrutplätze.

Wir konnten dieses Jahr einige interessante Beobachtungen über Culicidenbrutplätze in den Wäldern machen. Im Wäldchen von Plamont (500 m) bei Orbe wurden wir im Sommer 1911 von zahlreichen *Culex* angefallen. Weder im Walde selbst, noch in der Nähe war stehendes Wasser zu finden. Als wir sorgfältig im Walde suchten, fanden wir einen äußerst interessanten Brutplatz. Im Stamme einer Roßkastanie (*Aesculus hypocastanum*) war ein eiförmiges Loch (Fig. 1a) von 6×8 cm, welches in eine 22 cm tiefe Höhlung führte, die mit Wasser gefüllt war (Lufttemperat. +23°, Wassertemp. +17°); das Wasser war braungelb und gerbsäurehaltig. In diesem Wasser fanden wir vom 11. Juni 1911 an viele Larven und Puppen von *Culex*

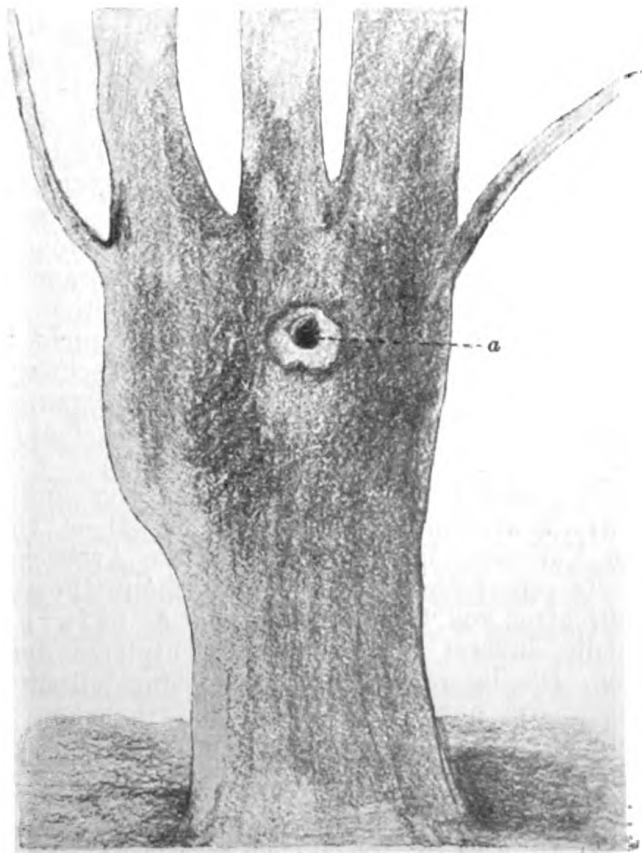


Fig. 1.

und Larven von *A. bifurcatus*. Die *Culex*-Larven hielten sich meistens am Grunde des Wassers auf. Der *Culex*, den wir in diesem Baumstamme fanden, nötigt uns zu einer kurzen Beschreibung.

Die Larven sind klein, mit sehr deutlichen, abwechselnd hellen und dunkeln Ringen. Die Atmungsrohre ist sehr kurz und schwarz. Der Kopf ist sehr breit, schwarz. Der kurzen Atmungsrohre zufolge nehmen die Larven im Wasser eine fast horizontale Stellung ein.

Die Puppen sind klein, die vordere Extremität ist schwarz, die hintere gelb und schwarz. Die Atmungsrohren sind dünn, mittelgroß, am freien Ende schräg geschnitten.

Die Imagines sind sehr klein, ungefähr von derselben Größe wie die Imagines von *St. fasciata*. Kopf, Taster, Rüssel und Fühler

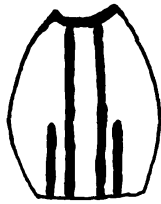


Fig. 2.

schwarz. Genick silberweiß. Thorax (Fig. 2) mit 2 schwarzen Längslinien, welche von einer nach hinten konvexen, Genick und Thorax trennenden schwarzen Linie bis zur hinteren Extremität des Thorax gehen. Diese Linien sind von 2 anderen schwarzen Linien flankiert, welche nur den hinteren Teil des Thorax einnehmen. Laterale Ränder des Thorax schwarz mit unregelmäßigem elfenbeinweißen Flecke.

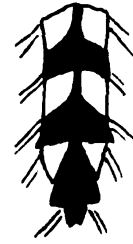


Fig. 3.

Hinterleibsringe fast schwarz, mit auf jeder Seite einem silberweißen, etwas trapezförmigen lateralen Fleck (Fig. 3). Bei den mit Blut vollgesaugten ♀ zeigt der Körper, seitlich gesehen, einen schwarzen Streifen, der von 2 Reihen silberweißen, trapezförmigen Flecken flankiert wird. Die Ringe tragen auf den Seiten feine, helle Haare. Beine schwarz, mit etwas helleren Ringen. Knie elfenbeinweiß, Coxae gelblich. Krallen: 1·1—1·1—1·1 beim ♀, 2·1—2·1—1·1 beim ♂. Flügel ungefleckt. Die ♂ sind kleiner als die ♀, ihre Fühler sind sehr flaumig und braun. Taster ein wenig länger als der Rüssel, das letzte Glied ist am Ende leicht gebogen.

Die aus Larven und Puppen des Wassers der Roßkastanie gewonnenen Imagines waren identisch mit denjenigen, die im Walde umherflogen und so große Stechlust zeigten, auch tagsüber. Sie brauchten $\frac{1}{2}$ Minute, um sich vollzusaugen. Der Stich war nicht sehr schmerzhaft. Die ♂ stachen nicht. Eier konnten wir nicht finden, wahrscheinlich weil diese Mückenart einzelne, sehr kleine, schwer zu findende Eier absetzt, denn im Wasser der Höhle der Roßkastanie, welches wir im Laboratorium aufbewahrten und in welchem keine Larven waren, entwickelten sich 2 Larven im Laufe des Sommers¹⁾.

Es scheint uns, daß der eben von uns beschriebene *Culex* sich *C. ornatus* Hoffmannsegg (Meigen) nähert, von welcher Art er vielleicht eine Varietät ist. Wir gaben diese Art schon einmal für *Orbe* an²⁾, wo sie sehr selten ist. Die interessante Feststellung dieses sonderbaren Brutplatzes von *C. ornatus* und *A. bifurcatus* ist ein neuer Beweis für die äußerst verschiedenen Brutplätze der wälderbewohnenden Culiciden. Die in warmen Ländern festgestellten Tatsachen beiseite lassend, weisen wir nur darauf hin, daß wir schon einmal einen Brutplatz im Baumstumpfe einer geschnittenen Buche beschrieben haben³⁾. Es fragt sich, ob solche Fälle, wie der eben von uns angegebene, nicht häufiger,

1) Wir kennen jetzt auch die Eier. (Note während der Korrektur.)

2) Atti della soc. per gli studi sulla malaria. Vol. 5. 1904. p. 1.

3) Ibid. Vol. 7. 1906. p. 1.

als man glauben könnte, in mückenreichen Wäldern vorkommen, die kein stagnierendes Wasser aufweisen. Im Juli 1911 war, wie schon gesagt, *C. nemorosus* sehr zahlreich in Tannenwäldungen des Veltlins zwischen 1500—1800 m; diese Wäldungen boten nirgends Wasser. Bei einer sorgfältigen Baumuntersuchung entdeckten wir hier und dort am Fuße einiger Tannen kleine, kerbenförmige Ausbuchtungen des Stammes, die mit nassem Moos gefüllt waren und früher wahrscheinlich Wasser enthalten hatten. In einer dieser Ausbuchtungen fanden wir die Haut einer Puppe von *Culex*. Man kann deshalb annehmen, daß die Mehrzahl der in diesen Wäldern herumfliegenden Imagines sich in solchen Ausbuchtungen entwickelt hatte.

d) Beobachtungen über Mückenstiche.

Am 30. März 1911 um 6 Uhr abends (Temperatur des Zimmers + 12°) setzte sich im Zimmer eines Hauses in Orbe ein ♀ von *Th. annulata* auf die Hand eines von uns und stach sofort. Diese Mücke, in einem Glasbehälter mit ein wenig Wasser gestellt, stach wieder am 3. April um 6 Uhr abends (Temperatur des Zimmers + 12°), ging dann durch Unfall zugrunde. Bis dahin war es uns nie gelungen, Mensch oder Tier von *Th. annulata* stechen zu lassen¹⁾, so daß wir mit Ficalbi diese Art als phytophag ansahen. Aber schon Grassi²⁾ gab an, daß er *Th. annulata* Menschen stechen sah, und Theobald bestätigt neuerdings, daß diese Art den Menschen angreift³⁾. Im Band 4 schreibt er: „Recent observations have shown that this large mosquito is a very vicious biter in this country (England)“⁴⁾. W. Hatchett Jackson sagte ihm, daß die Stiche dieser Mückenart oft so bössartig sind, daß der Gestochene das Bett hüten muß. Im Sommer 1905 war *Th. annulata* eine wahre Plage in Weston-super-Mare. Nach Mayer⁴⁾ sticht *Th. annulata* auch Vögel. Demnach besteht kein Zweifel mehr, daß *Th. annulata* zu denjenigen Mückenarten gezählt werden muß, die Menschen und Warmblüter stechen.

In der Umgebung von Orbe fing *C. nemorosus* in den Wäldern zu stechen an am 21. Mai 1911 (Lufttemperatur + 15° um 3 Uhr nachmittags) und *Culex pipiens* in den Zimmern am 7. Juni 1911. Wie wir schon sagten, war *C. nemorosus* unausstehlich im Juli in den Tannenwäldern des Veltlins. Am 22. Juni setzten sich in einem Walde zwischen 1500—1800 m am hellen Tage bei schönem Sonnenschein unzählige ♀ dieser Art auf einen von uns, dessen Anzug dunkelgrau war. Sie setzten sich weder auf das Gesicht, noch auf die Hände, sondern ausschließlich auf das Kleid, durch welches hindurch sie zu stechen suchten. Die einzigen ♀, die stachen, waren solche, die dem Kleid entlang bis zum Kragen geklettert waren und dort die Halshaut fanden. Am Abend desselben Tages wurde in einem Biwak in ungefähr 2000 m Höhe einer von uns von einer Unzahl von *C. nemorosus* belästigt und am folgenden Tage griff ihn diese Art wieder an auf einem Gipfel von 2400 m.

Wir konnten nochmals bestätigen, daß *A. bifurcatus*, *C. nemorosus* und *C. ornatus* Kaltblüter nicht stechen; in diesem Falle *Lacerta vivipara* (Lufttemperatur + 20°).

1) Ibid. Vol. 5. 1904. p. 40.

2) Studi di uno zoologo sulla malaria. Roma 1901. p. 138.

3) A Monograph of the Culicidae. Vol. 4. London 1907. p. 277 und Vol. 5. p. 271.

4) Bull. Inst. Pasteur. 1911. p. 493.

e) Vernichtungsversuche der Imagines von *Culex* im Winter.

Die große Menge ♀ von *C. pipiens*, die in den Kellern einiger Häuser von Orbe überwinterten, veranlaßte uns, ihre Vernichtung mittels einiger Substanzen zu versuchen. Die Freundlichkeit von Dr. H. Nördlinger, Flörsheim a. M. erlaubte uns, diese Experimente mit Mikrothan und Floria insecticide zu machen. Mit diesen 2 hellbraunen, ziemlich angenehm riechenden Flüssigkeiten und Wasser bereiteten wir je eine 3-proz. Lösung. Diese Lösungen waren seifig und klebrig. Wir füllten sie in Gärtner-Spritzen, dessen Strahl dann gegen die mit Mücken bedeckten Wände gerichtet wurde. Mit Mikrothan sowohl als auch mit Floria blieb die Mehrzahl der Mücken an der Wand haften und ging alsbald zugrunde, die übrigen wurden von der abrinnenden Flüssigkeit auf den Boden geschwemmt, und klebte dort fest. Nur wenige Exemplare kamen heil davon, und wir sind überzeugt, daß mit Pulverisatoren, die einen sehr feinen Spray haben und somit eine größere Fläche bespritzen (wie der Hygienical Pulverisator), sich noch bessere Resultate erzielen ließen. Um zu sehen, ob es sich nicht nur um eine mechanische Wirkung handelte, bespritzten wir die Mücken mit derselben Gärtner-Spritze, aber mit Wasser. Das Ergebnis war sozusagen negativ. Außer einigen direkt und stark vom Wasser getroffenen Exemplaren flogen alle anderen davon. Wir glauben daher, diese Vernichtungsmethode der Imagines in den Kellerräumen im Winter warm empfehlen können.

Interessant ist es, daß in den Kellerräumen, in welchen wir so viele Imagines von *C. pipiens* fanden, eine Menge dieser Dipteren in den Spinnengeweben gefangen war, eine Tatsache, die O'Connell und wir schon früher erwähnten¹⁾.

II. Ueber das Vorkommen von *Phlebotomus papatasi* Scop. im Kanton Waadt²⁾.

In einer vorangehenden Arbeit³⁾ schrieb einer von uns, daß diese Art wahrscheinlich auch in der Schweiz existieren dürfte. In der Nacht des 12. Juli 1911 wurde einer von uns in einem Zimmer in Orbe von einem Exemplar dieser Art gestochen und fing am folgenden Tage ein zweites Exemplar auf einer Wand des selben Hauses. Es ist somit bewiesen, daß *Ph. papatasi* in der Schweiz vorkommt, und die Behauptung Royers⁴⁾ über das Vorkommen dieser Art in Savoyen und Dauphiné ist bestätigt. Existiert auch das Papataciefieber in der Schweiz? Wir können es noch nicht behaupten, aber einer von uns beobachtete folgenden sehr merkwürdigen Fall:

Am 19. September 1911 geht Herr X in Orbe auf die Jagd und wird vielfach von Mücken gestochen. Einige Tage früher war Herr X auch in Thonon (Savoyen) gewesen. Seit dem 20. fühlt er sich „elend“,

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 134.

2) Der spezifische Namen dieses *Phlebotomus* ist von Scopoli mit zwei i geschrieben worden: *papatasi*. — Da aber dieser Name nur eine Ableitung des landläufigen italienischen Namens ist: *papatas*, (id est: der saugt oder frißt: *papa*, schweigend: *tas*), so soll der spezifische Name entweder nur mit einem i geschrieben werden: *papatasi*, oder besser ohne i: *papatas*. Der spezifische italienische Name ist mit einem p geschrieben, demnach muß Papataciefieber oder Papatasiieber und nicht Pappataciefieber geschrieben werden.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1911. p. 362.

4) La méd. orient. 1911. p. 318.

am 22. Bauchbeschwerden mit Brechreiz. Die Beschwerden sind andauernd, die Ermattung nimmt zu, am 29. ist Patient sehr matt und hütet einen Teil des Tages das Bett. Aufgeregte Nacht (Temperatur ist nicht gemessen worden). Den 30. fühlt er sich wohler, aber um 8 Uhr abends Durchfall, Schüttelfröste, Zähneklappern, 8 $\frac{1}{2}$ Uhr 39,2°, Puls 72. Die Schüttelfröste dauern 2 Stunden, nachher trockenes Hitzegefühl bis 1 Uhr nachts. Dann sehr starke Kopf- und Muskelschmerzen, geistige Aufregung, profuser Schweiß. Puls und Herztätigkeit sehr beschleunigt. Am 1. Oktober fällt die Temperatur auf 37°. Müdigkeit und Brechreiz bestehen immer noch, sowie Muskelschmerzen in Schulter und Arm. Temperatur fällt auf 36,3°. Am 2. Oktober dieselben Symptome. Temperatur 36,3°. Um 9 Uhr abends steigt die Temperatur plötzlich auf 39,2° mit denselben Erscheinungen wie beim ersten Anfalle. Am 3. fällt die Temperatur auf 37° und 36,3°. Ermattung und Schmerzen bestehen fort. Patient nimmt 0,40 g Chin. sulf. Am 4. 36,3°; er nimmt 0,60 g Chin. sulf. Um 7 $\frac{1}{2}$ Uhr erneuter Anfall, ein bißchen weniger heftig als die vorangehenden. Die Temperatur steigt auf 39,6°. Am 5. fällt die Temperatur auf 37,8° und 36,8°. Patient nimmt 0,60 g Chin. sulf. Am Abend ist die Temperatur 36,3°. Am 6. nimmt Patient 1,20 g Chin. sulf. und die folgenden Tage 1 g per die. Die Anfälle bleiben aus, aber Patient fühlt sich sehr matt [12. Oktober¹⁾].

Während der ganzen Dauer der Krankheit blieb die Milz normal. Die Augen waren sehr licht- und druckempfindlich, die Conjunctiva bulbaris war injiziert, auch nach dem Verschwinden der Fieberanfalle. Die mikroskopische Untersuchung des Blutes, auf eine beträchtliche Anzahl Präparate ausgedehnt, ließ weder Malariaparasiten, noch Alterationen der roten Blutkörperchen, noch Pigment nachweisen. Malaria existiert nicht in der Orbeebene und Patient litt nie daran. Müssen wir diesen Fall zu den Fällen von Papataciefieber rechnen? Der Verlauf der Krankheit, die Krankheitserscheinungen, die Injektion der Conjunctiva bulbaris (Zeichen von Pick?) lassen diese Diagnose vermuten, die Tatsache läßt sich aber bis auf weiteres nicht feststellen.

Wie dem auch sei, es existiert *Ph. papatasi* nördlich der Alpen in der Schweiz und sehr wahrscheinlich ist seine Verbreitung allgemeiner, als man annehmen könnte. *Ph. papatasi* ist also kein exklusiver Parasit der Südseite der Alpen, und die praktischen Aerzte nördlich dieses Gebirgszuges müssen von nun an an die Möglichkeit des Vorkommens der von diesem Parasiten übertragenen Krankheit denken.

Lausanne, 19. Oktober 1911.

1) Die herabgesetzte Leistungsfähigkeit der Schultermuskeln dauerte noch im Januar an.

Nachdruck verboten.

Ueber die Entwicklung und systematische Stellung des Erregers der Vogel malaria, *Plasmodium (Proteosoma) praecox*.

[Aus der parasitologischen Abteilung des Institutes für wissenschaftliche Krebsforschung, Heidelberg (Leiter: Exz. Czerny).]

Von Dr. phil. Hans v. Alten, Freiburg i. B.

Mit 1 Tafel.

Ueber die systematische Stellung und Benennung des in der Geschichte der Malariaforschung so wichtig gewordenen Parasiten der Vogel malaria herrscht immer noch einige Unklarheit, die wesentlich mit dadurch bedingt ist, daß ein Teil der Autoren den Parasiten als selbständige Gattung behandelt wissen will, während ein anderer Teil ihn zu den übrigen Angehörigen der Gattung *Plasmodium* stellt. Ohne auf die ganze Geschichte der ziemlich verwirrten Hämospordiennomenklatur näher eingehen zu wollen, sei hier nur darauf hingewiesen, daß im ersteren Falle nach v. Wasielewski (1901), auf dessen ausführliche Ausführungen ich im übrigen verweise, die von Danilewsky (1891) gebrauchte Bezeichnung *Cytosporon malariae* eigentlich den Vorrang verdient, und daß ihr gegenüber die anderen Bezeichnungen *Haemamoeba praecox*, beziehentlich *subpraecox* Celli und Sanfelice und *Proteosoma* Labbé (1894) zurücktreten müssen.

Der Name *Cytosporon malariae* wurde jedoch von Schaudinn (1902) abgelehnt, nach dessen Meinung kein Grund vorliegt, den Vogelparasiten von der Gattung *Plasmodium* zu trennen. Den Speciesnamen konnte Schaudinn nicht bestimmen, da ihm nach seinen eigenen Angaben die nötige Literatur nicht zur Verfügung stand. In diesem Falle würde dann die Benennung *Plasmodium praecox* die prioritätsberechtigteste sein (Lühe, v. Wasielewski).

(Dieselbe Bezeichnung wird zwar auch noch zuweilen auf den Perniciosaparasiten des Menschen angewandt, doch sind hier wohl die meisten Autoren für eine Stellung desselben in die besondere Gattung *Laverania*. Sollte diese Gattung nicht aufrecht erhalten werden, so würde alsdann nach Lühe der Name *Plasmodium quotidianae* der nächstberechtigteste sein.)

Hartmann (1907) hat nun den von Labbé (1894) gebrauchten Namen *Proteosoma* wieder aufgenommen, da der Vogelparasit verschiedene „primitive“ Merkmale aufweisen soll, die den übrigen Angehörigen der Gattung *Plasmodium* fehlen.

Hartmann faßt bekanntlich die Hämospordien als durch Parasitismus rückgebildete Flagellaten auf und vereinigt sie mit den Trypanosomen in der Ordnung *Binucleata*. Demnach würden „primitive“ Merkmale in diesem Falle hauptsächlich bedeuten: einen weniger rückgebildeten Lokomotionsapparat, ein Vorhandensein von Geißel und Blepharoplast (Kinetonucleus); auf das Vorhandensein des letzteren, besonders deutlich in den geschlechtlichen Stadien, wird besonderer Wert gelegt. Ein ausführliches Eingehen auf die *Binucleata*theorie, das eine ebenso ausführliche Berücksichtigung der von dem genannten Verfasser und von v. Prowazek ausgearbeiteten geistvollen Theorien

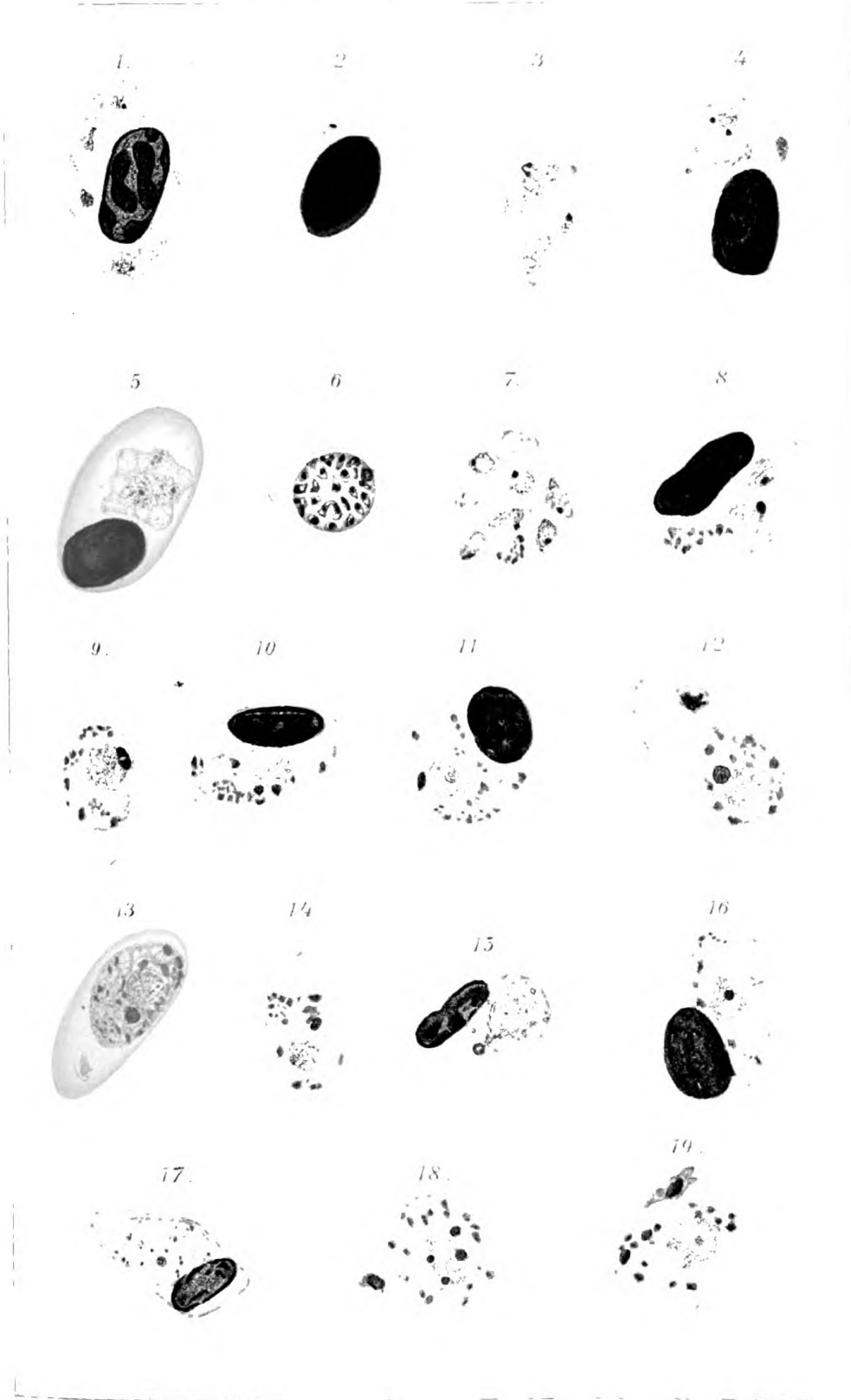


Fig. 1-19

Fig. 20-29

Fig. 30-39

Generated on 2019-09-14 21:08 GMT / http://hdl.handle.net/2027/osu.32435070754429
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

über die Konstitution des Protistenkernes erfordern würde, würde den Rahmen dieser kleinen Mitteilung überschreiten.

Ich möchte hier nur kurz darauf hinweisen, daß, da der Zelle zur Bildung von Fortbewegungsorganellen offenbar keine sehr verschiedenartigen Mittel zu Gebote zu stehen scheinen, das Vorkommen von Geißeln bei Protisten ein so weit verbreitetes ist, daß es wohl nur mit großer Vorsicht zu phylogenetischen Spekulationen verwendet werden darf; ich erinnere an die geißeltragenden Merozoiten von Coccidien, bei denen auch Hartmann eine Konvergenz annimmt, Schwärmsporen von Algen, Flagellatenformen bei Amöben und ähnliches.

Aehnliches würde vom Blepharoplasten gelten, der ja zum lokomotorischen Apparat gehörig angesehen wird; dessen Natur als selbständigen lokomotorischen Kernes außerdem nach einigen Autoren (Doflein, 1911) nicht nur nicht einwandfrei erwiesen, sondern sogar durch neuere Arbeiten (Alexeieff, Kühn und v. Schuckmann) wieder sehr ernstlich in Frage gestellt ist.

Es scheint mir daher bei dem heutigen Stande der Forschung noch nicht möglich, ein abschließendes Urteil über diese so komplizierten Fragen zu fällen; ich möchte in dieser Mitteilung nur einen kleinen Beitrag dazu liefern und habe mich in der Hauptsache darauf beschränkt, einmal nachzuprüfen, ob wirklich bedeutende Differenzen zwischen der Entwicklung des Vogelmalariaparasiten und der übrigen Plasmodium-Arten der Menschen und Affen bestehen, und ob diese eventuellen Differenzen so groß sind, daß sie eine Sonderstellung des ersteren rechtfertigen.

Zugleich möchte ich auch an dieser Stelle dem Leiter des Instituts für Krebsforschung, Exzellenz Czerny, für die Arbeitgelegenheit und Herrn Prof. v. Wasielewski für seine freundliche Unterstützung meinen besten Dank aussprechen.

Methoden.

Es ist selbstverständlich, daß für das Studium feinerer Zellvorgänge eine einwandfreie Fixierung ein Hauptfordernis ist. Es sind daher seit Pfeiffer (1892) und Argutinsky (1902) die neueren Autoren bestrebt, die für praktische Zwecke immer noch zu Recht bestehende Trockenfixierung durch feuchte Fixation zu ersetzen. Am meisten wird wohl jetzt dazu benutzt der Schaudinnsche Sublimatalkohol mit Nachbehandlung durch Jodalkohol oder nach Heidenhains Anregung Jod-Jodkalium-Natriumthiosulfat (Giemsa)¹⁾, nach der sich auch die neue Giemsa-Färbung sehr gut anwenden läßt. Diese in letzter Zeit für extraglobuläre Blutschmarotzer von Kühn und v. Schuckmann angewandte Methode zeigt leider bei der Anwendung auf die intracellulären Malariaparasiten mancherlei Nachteile, auf die auch v. Berenberg-Gossler (1909) aufmerksam machte; die roten Blutkörperchen verändern ihre normale Gestalt, und sie liegen dem Deckglas nicht so glatt an wie bei Trockenpräparaten. Außerdem erwachsen einige Schwierigkeiten bei der Färbung. Die Schizogoniestadien, die im übrigen sonst meist sehr gute Bilder geben, färben sich zwar verhältnismäßig rasch; zur Färbung der geschlechtlichen Stadien ist aber oft eine Färbedauer von 6—8 Tagen erforderlich, wobei dann oft eine solche Ueberfärbung der Erythrocyten eingetreten ist, daß der Parasit wie ein Negativ blaß

1) Dtsche med. Wochenschr. 1910.

auf blauem Grunde erscheint; trotzdem geht aber dann die Entfärbung mit Aceton-Xylol so rasch vor sich, daß es mir nicht gelang, die Differenzierung mit Immersion zu kontrollieren, ein Verfahren, das sich bei den Arbeiten über Kulturamöben (v. Wasielewski und Hirschfeld) und Trypanosomen (Kühn und v. Schuckmann) als so wertvoll erwiesen hat.

Die Präparate wurden also zum Teil trocken hergestellt mit folgender Alkoholfixierung, zum größten Teil feucht nach der oben angegebenen Methode.

Zur Färbung wurde vorwiegend die neue Giemsa-Lösung benutzt, deren Verwendbarkeit und Zuverlässigkeit in Fragen der Struktur des Protozookernes besonders von den oben genannten Autoren nachgewiesen wurde, deren diesbezügliche Angaben auch ich durchaus bestätigen kann.

Die Eisenhämotoxylinfärbung, auch bei Metazoenzellen stets mit Vorsicht anzuwenden (Heidenhain, Plasma und Zelle), ist bei Färbung endoglobulärer Parasiten besonders kritisch zu beurteilen, da sich ja in der Membran der Erythrocyten mit Vorliebe allerlei Niederschläge bilden, die komplizierte Strukturen vortäuschen können. Außerdem erscheinen dabei Kerneinschlüsse und Pigmentkörnchen in so gleichmäßiger Tönung, daß sie oft auch mit Hilfe der Betrachtung im polarisierten Licht nur sehr schwer diagnostiziert werden können.

Weiterhin ist es bei den zum Teil sehr starken Infektionen bei Vogel malaria keine Seltenheit, daß sich 3 oder 4 Parasiten in einem und demselben roten Blutkörperchen befinden, oft in verschiedenen Entwicklungsphasen. Auch konnte ich häufig Schizogoniestadien zusammen mit Makro- oder Mikrogametocyten, einmal auch einen Mikro- und Makrogametocyten zusammen in einem Blutkörperchen liegen sehen. Die Grenzen zwischen den einzelnen Parasiten sind bei Giemsa-Färbung fast stets einwandfrei zu erkennen, was bei Heidenhain-Färbung durchaus nicht immer der Fall ist, woraus eine weitere Fehlerquelle resultiert, die sich allerdings durch Kontrastfärbung (Bordeauxrot, Lichtgrün oder ähnliches) erheblich eindämmen läßt.

Für Zeichnungen ergaben die Trockenpräparate meist klarere und schönere Bilder; sie wurden aber nur dann benutzt, wenn sich genau gleiche Stadien auch unter den feucht fixierten auffinden ließen.

Außerdem stellte mir Herr Prof. v. Wasielewski auch von seinen Präparaten zur Verfügung, die noch mit Bleu de Marino gefärbt und, obgleich bereits im Jahre 1906 angefertigt, doch noch so vorzüglich erhalten waren, daß einige zu Zeichnungen benutzt werden konnten.

Die Technik der Impfung darf ich wohl als bekannt voraussetzen.

Schizogonie.

Die Schizogonie verläuft bekanntlich bei *Plasmodium praecox* nicht nach ein und demselben Schema. Zum Teil werden nur 6—8 Schizonten (Fig. 7) gebildet, die manchmal in schöner gleichmäßiger Rosette um den stark pigmentierten Restkörper gelagert sind, ähnlich wie bei einer menschlichen Quartana, zum Teil kann die Zahl der Schizonten 16 und mehr erreichen (Fig. 6), die dann mehr unregelmäßig durcheinander liegen. Die bei Lühe angegebene Höchstzahl von 36 habe ich nie gezählt; möglicherweise kann es sich bei so hohen Werten um mehrfache Infektion und Schizogonie in einem Erythrocyten gehandelt haben. Derartige Schwankungen sind übrigens auch von anderen Plas-

modiden bekannt, sie beträgt nach Blanchard (zitiert nach Lühe) für *Laverania* 4–30, für das *Plasmodium malariae* 6–12.

Die Erythrocyten werden bei sehr starken Infektionen häufig mehrfach befallen, und das Vorkommen von 3–4 Parasiten in einem roten Blutkörperchen ist keine Seltenheit. Trotzdem überstehen die Vögel diese schwere Erkrankung fast immer gut; wahrscheinlich sind sie imstande, durch stark gesteigerte Blutneubildung den Ausfall an intakten Erythrocyten auszugleichen; wenigstens erscheint es mir beachtenswert, daß in solchen Fällen sehr viele unreife Erythrocyten, Hämatoplasten, im peripheren Blute auftreten, und zwar in einer mit der Schwere der Infektion steigenden Anzahl, wo sie übrigens von den Parasiten durchaus nicht verschont werden.

Außerdem finden sich noch zahlreiche rote Blutkörperchen, deren Plasma sich mit Giemsa-Lösung blaugrau färbt und deren mehr rötlich gefärbter Kern einen auffallend lockeren und bröckligen Bau erkennen läßt. Etwas ähnliches, was damit vielleicht in Analogie zu setzen ist, ist auch bei der menschlichen Malaria bekannt; es finden sich dann ebenfalls graublau gefärbte kernlose rote Blutkörperchen (Polychromatophilie). Nach Jawein (zitiert nach Ziemann) soll diese Polychromatophilie zustande kommen durch Auflösen eines Teiles der Kernsubstanz kernhaltiger Erythrocyten im Plasma. Beim Menschen würden also derartige Bilder gleichfalls auf eine ausgiebige Blutregeneration hinweisen; eine Infektion solcher Normoplasten scheint aber äußerst selten vorzukommen, weshalb als einwirkende Schädigungen, die eine Kernauflösung veranlassen, von vielen Autoren Toxinwirkungen angenommen werden.

Bei den Vögeln macht es in der Tat den Eindruck, als ob ein Teil der Kernsubstanz, und zwar vorwiegend der sich blau färbende, in das Plasma abgegeben ist, während die sich rot färbende Komponente zäher festgehalten wird. Fast alle diese Degenerationsstadien sind infiziert; das in Fig. 1 dargestellte rote Blutkörperchen beherbergt z. B. 4 Parasiten, aber sonst sind es durchaus nicht immer die am stärksten infizierten Blutkörperchen, bei denen diese „Polychromatophilie“ auftritt, so daß möglicherweise auch diese degenerierenden Individuen junge, noch wenig widerstandsfähige Formen repräsentieren.

Neumann beschreibt sogenannte „unfertige Stadien“ und versteht darunter Parasiten, die „kleiner als Gameten, aber größer als Merozoiten erscheinen“, die auch bereits Teilung des Chromatins erkennen lassen. Er hält sie für frühzeitig durch Zerfall des Erythrocyten freigewordene junge Parasiten, denen damit das Hämoglobin zur Ernährung fehlt, und die daher „auf einem Zwergstandpunkt stehen geblieben sind“. Solche Formen (vgl. Neumann, Fig. 13–18) fand auch ich nicht selten; glaubte sie aber zum größten Teil als künstlich entstanden anzusprechen zu müssen (durch Druck, Quetschung beim Ausstrich), worauf oft in unmittelbarer Nähe liegende zerquetschte Blutkörperchen oder deren Kerne schließen ließen.

Die Schizogonie erreichte ihren Höhepunkt anfangs 12–14, später etwa 9–11 Tage nach der Impfung. Das Auftreten von Geschlechtsformen scheint übrigens durchaus nicht immer die Höhe der Infektion abzuwarten; ich konnte in einem Falle bereits am 5. Tage Mikrogametenbildung beobachten.

Das Auftreten von geißeltragenden Formen habe ich weder bei Merozoiten noch bei Mikrogameten je gesehen. Hartmann (1907), der

solche Formen abbildet, betont selbst ihre außerordentliche Seltenheit und hat nur einmal lebende in mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntem Blute auftreten sehen. Solche Zusätze wurden absichtlich vermieden; einmal, weil auch in „sterilisierter“ Kochsalzlösung nicht ganz selten kleine Flagellaten gefunden werden, und weil andererseits doch auch die Möglichkeit nicht außer acht gelassen werden darf, daß bei Anwendung nicht ganz isotonischer Lösungen durch Quellung eventuell Schrumpfung der zarten Parasitenkörper Strukturen vorgetäuscht werden, die in Wirklichkeit nicht vorhanden sind. Immerhin ist es natürlich durchaus möglich, daß die Hartmannschen Angaben früher oder später auch von anderen Autoren bestätigt werden; aber auch in diesem Falle würde ja damit das *Plasmodium praecox* keine „primitivere“ Stellung unter den Plasmodien einnehmen, da ja schon Plehn¹⁾ (1890) angab, lebhaft bewegliche, mit Geißeln versehene Merozoiten bei *Plasmodium vivax* gesehen zu haben. Schaudinn (1902) bestritt dies zwar zunächst, bemerkt aber in einer späteren kurzen Notiz (1904), daß auch er solche „trypanosomenähnliche“ Stadien bei Merozoiten und Sporozoiten beobachtet habe. Schließlich muß an die Möglichkeit gedacht werden, daß der seltene bisher von anderer Seite nicht bestätigte Befund Hartmanns sich durch eine eventuelle Mischinfektion von *Plasmodium* mit Trypanosomen erklärt; ein Vorkommen, auf das v. Wasielewski (Studien II. 1908) bereits hingewiesen hat.

Im übrigen möchte ich hier nicht ausführlich auf den ja gut bekannten Verlauf der Schizogonie eingehen, sondern nur kurz einige Beobachtungen über die Struktur des Kernes mitteilen, die für diesen Fall hauptsächlich in Betracht kommen.

In dem Kern des freien Merozoiten befindet sich ein meist nach dem spitzen Ende zu gelegenes, mit Giemsa-Lösung sich rot-violett färbendes Korn, das ich zunächst mit dem indifferenten Namen „Innenkörper“ bezeichnen möchte. Dieser lag bei feucht fixierten Präparaten stets innerhalb des Kernes. Dieser Innenkörper ist auch bei den jungen Schizonten fast immer nachzuweisen, wo er besonders bei leichter Ueberfärbung deutlich hervortreten pflegt (Fig. 1, 2). Bevor sich der Kern nun im Beginne der Schizogonie teilt, kann man öfter zwei Innenkörper vorfinden, die untereinander zusammenhängen, so daß dadurch die bekannten hantelförmigen Figuren entstehen (Fig. 3). Die Kernsubstanz lockert sich dann auf und man kann auch bei feucht behandelten Präparaten Stadien finden, die an eine primitive Mitose erinnern (Fig. 4), wogegen ich so deutliche Aequatorialplatten, wie sie Schaudinn bei Tertianaparasiten abbildet, nicht gesehen habe. Meist ist in diesem Stadium der Kernteilung die Trennung der beiden Innenkörper bereits vollendet, die an die Kernpole gewandert sind, in ihrem Verhalten an Centrosomen erinnernd; nur in seltenen Fällen bleibt der verbindende Faden bis nach der Teilung des Kernes bestehen, um sich erst dann zu lösen, so daß die beiden neugebildeten Kerne je wieder einen Innenkörper besitzen (Fig. 5).

Sehr wahrscheinlich geht auch allen folgenden Kernteilungen eine solche des Innenkörpers voraus, so daß man auch in späteren Stadien öfter Kerne mit zwei — unter sich gleich großen — Innenkörpern vorfindet. Als solche unvollendete Teilungsformen sind wohl auch die von Seitz (1910) veröffentlichten Abbildungen (No. 8 und 9) aufzufassen.

Am Schlusse der Kernvermehrung ist dann jeder Kern durchaus wieder wie der spätere Merozoitenkern gebaut (Fig. 6 u. 7).

1) Plehn, A., Aetiologische und klinische Malaria-Studien. Berlin 1890.

Diese Kernvermehrung vollzieht sich also nach einem ähnlichen Typus, wie er bei anderen Plasmodien bekannt und beschrieben ist.

Wie v. Berenberg-Gossler berichtet, schnürt sich auch bei *Plasm. Kochi* das Karyosom (= Innenkörper) hantelförmig durch, und darauf teilt sich der Kern unter mehr oder weniger deutlicher Polkappenbildung. Der Verfasser gibt auch Abbildungen für Schizogonieteilungen von Quartanparasiten, die ich mit Präparaten des Herrn Prof. v. Wasielewski zu vergleichen Gelegenheit hatte, und die auch bei *Plasm. malariae* einen Mechanismus der Kernteilung erkennen lassen, der durchaus dem des Vogelblutparasiten gleichgesetzt werden kann. Auch bei *Plasm. cynomolgi* scheinen die Verhältnisse ähnlich zu liegen (vgl. Mayer, Abb. 8—10). Was die Frage der Zweikernigkeit anbelangt, so möchte ich nochmals hervorheben, daß wo immer bei feucht fixierten Präparaten zwei getrennte Körner im Innern des Hauptkernes gefunden wurden, dieselben stets gleich groß und bei Giemsa-Färbung entsprechend der Dauer der Einwirkung stets beide gleichmäßig rot oder rot-violett getönt erschienen; daß sie also wohl als Teilungsprodukte des Innenkörpers bei noch nicht eingeleiteter Teilung des übrigen Kernes anzusprechen sind. Der Innenkörper lag auch stets innerhalb des Kernes es wäre also die Blepharoplastennatur desselben wohl noch zu erweisen. Stadien von Zweikernigkeit, wie sie von Halberstädter und Prowazek bei *Plasm. pitheci*, Mayer und Flu bei *Plasm. cynomolgi* und v. Berenberg-Gossler bei *Plasm. Kochi* abgebildet sind, zum Teil unter Bestehen einer Centrodese zwischen dem austretenden „zweiten Kern“ und dem „Karyosom“ des Hauptkernes konnten bei *Plasm. praecox* nicht beobachtet werden.

Die Deutung und Benennung des zunächst als „Innenkörper“ bezeichneten roten Kernes erscheint zurzeit durchaus nicht einfach.

Ich habe diesen völlig indifferenten Ausdruck gewählt, weil man mit dem früher auch noch von Schaudinn im gleichen Sinne angewandten Worte „Karyosom“ neuerdings einen Binnenkörper mit Centriol versteht, das bei *Plasm. praecox* sowohl mit Giemsa als Heidenhain auch bei Feuchtfixierung nicht nachzuweisen war.

Ein Centriol haben auch Kühn und v. Schuckmann bei dem von verschiedenen Autoren als „Karyosom“ bezeichneten Bestandteil des *Trypanosoma brucei* nicht aufgefunden und daher für dieses zentral gelegene, mit Giemsa sich blau färbende Strukturelement den Namen „Binnenkörper“ wieder eingeführt, so daß diese ursprünglich gleichfalls indifferente Bezeichnung in unserem Falle nicht anwendbar ist.

Zur Entscheidung über die Natur des roten Kernes könnten drei Umstände herangezogen werden:

- 1) die Lage,
- 2) die färberischen Eigenschaften,
- 3) das Verhalten bei der Teilung.

Ein Karyosom liegt meist zentral, während das rote Korn in diesem Falle immer an der Peripherie des Kernes lag.

Ein Karyosom färbt sich weiter mit Giemsa blau (vgl. Kühn und v. Schuckmann, v. Wasielewski) und nimmt erst bei sehr starker Färbung etwas Rot auf, das dagegen beim Differenzieren als erstes wieder verschwindet.

Bei *Plasm. praecox* dagegen färbt sich der Körper zunächst rot, nimmt dann im weiteren Verlauf einen leicht violetten Ton an, um beim Differenzieren wieder zu Rot zurückzukehren. Diese Farbe spricht auch

gegen eine Auffassung als Nucleolus, der sich gleichfalls blau färben müßte.

Eine Uebereinstimmung besteht mit dem Blepharoplasten der Trypanosomen, der stets ein leuchtendes Rot zeigt. Aber diese von Hartmann besonders vertretene Auffassung der Blepharoplastennatur des Binnenkörpers bedarf zum mindesten noch des Beweises. Gegen diese Auffassung spricht einmal die Lage. Ich habe ihn bei feucht fixierten Präparaten niemals außerhalb des Kernes liegen sehen; auch aus der von Hartmann gegebenen Abbildung eines gezeißelten Merozoiten geht nicht klar hervor, ob der „Blepharoplast“ wirklich ganz außerhalb des Kernes liegt, wodurch auch eine Beziehung zu der „Geißel“ fraglich wird.

Weiter spricht dagegen sein Verhalten während der Teilung; es stimmt vielmehr in der Art der hantelförmigen Zerschnürung und des öfter beobachteten Wanderns an die Pole des sich zur Teilung anschickenden Kernes mit dem als „Randkörper“ von Hirschfeld und v. Wasielewski bei *Lohamöben* und von Kühn und v. Schuckmann bei *Trypanosoma brucei* beschriebenen Kernes überein, womit es weiter übereinstimmt in der roten Tönung bei Giemsa-Färbung und dem — im übrigen allerdings unverbindlichen — Größenverhältnis zum Hauptkern.

Es könnte zweifelhaft erscheinen, ob dem färberischen Verhalten eine größere Bedeutung zugeschrieben werden kann; aber es hat sich die Giemsa-Lösung bei sorgfältiger Behandlung als durchaus zuverlässig erwiesen, und man müßte doch bei nah verwandten Formen auch dieselbe oder doch eine ähnliche Färbbarkeit der einzelnen Kernbestandteile erwarten.

Von den früheren Autoren wurde auf die spezifische Färbbarkeit weniger Gewicht gelegt; soweit ich aus den Abbildungen, im besondern der Affenplasmodien schließen konnte, färbt sich dort der als „Karyosom“ bezeichnete Körper gleichfalls rot; violett erscheint er nur, wenn auch sonst eine leichte Ueberfärbung vorhanden ist; das Verhalten bei der Teilung ist gleichfalls so ähnlich, daß man beide Gebilde wohl ohne Bedenken homologisieren kann. Dennoch möchte ich vorläufig aus den erwähnten Gründen den Ausdruck „Innenkörper“ noch beibehalten.

Wenn man den Innenkörper als Homologon des „Randkörpers“ der Trypanosomen und *Lohamöben* betrachtet — eine Auffassung, die vorläufig durchaus berechtigt erscheint — so ist bemerkenswert, daß der eigentliche Binnenkörper (Karyosom) der Trypanosomen bisher noch nicht im Kern der Plasmodien aufgefunden wurde; eine Tatsache, die gleichfalls gegen die Flagellatennatur der Hämosporidien verwertet werden könnte.

Geschlechtsformen.

Es war mir nicht möglich, schon bei den Schizogonieförmigen festzustellen, ob sie Gameten liefern werden oder nicht, wie dies v. Berenberg-Gossler bei *Plasm. Kochi* aus der Form und Größe des Karyosoms schließen konnte; wohl ist der Innenkörper nicht immer gleich groß, manchmal ist er auch gar nicht nachzuweisen, was ja aber auch durch Ueberlagerung durch das Chromatin des Kernes, nicht ausreichende Differenzierung und ähnliches bedingt sein kann.

Im Leben sind noch nicht zur Teilung geschrittene Schizonten von jungen Geschlechtsformen durchaus nicht immer leicht zu unterscheiden; auch das Pigment liefert keinen sicheren Anhaltspunkt dafür. Es liegt zwar bei den Geschlechtsformen im allgemeinen durch das Plasma zer-

streut, was aber auch bei den Schizogoniestadien der Fall sein kann; bei diesen wiederum findet sich das Pigment in einem Teil der Fälle, besonders bei den rosettenförmigen Anordnungen, in zentraler Lage, ebenso oft oder öfter noch liegt es peripher.

An gefärbten Präparaten aber macht sich der Unterschied bald deutlich bemerkbar.

Die Makrogametocyten haben offenbar im Jugendstadium (Fig. 8) noch nicht die Tendenz zur Abrundung wie in höherem Alter; sie entwickeln sich meist auf der einen Seite des Kernes, indem sie diesen nach und nach an die Peripherie des Erythrocyten drängen, sie können ihn aber auch selten teilweise umgreifen (Fig. 11). Das Plasma zeichnet sich schon bei kleinen Formen durch die schön dunkelblaue Färbung aus, die es mit Giemsa-Lösung annimmt sowie durch das Auftreten des gelblich-grünen Pigmentes, das gleichmäßig durch das Plasma verteilt oder auch auf einen kleinen Bezirk konzentriert sein kann.

In den ziemlich gleichmäßig rot gefärbten Kern fällt der auch bei jungen Individuen (Fig. 8) fast immer darstellbare Innenkörper auf, der sich gleichfalls rot färbt und nur bei Ueberfärbung ebenso wie der übrige Kern eine mehr violette Färbung annimmt.

Im weiteren Verlaufe des Wachstums nun nimmt der Makrogametocyt allmählich eine gleichmäßiger ellipsoide bis rundliche Gestalt an (Fig. 12, 13, 15), das Plasma färbt sich dunkler und das Pigment nimmt einen mehr bräunlich-grünen Farbenton an. Die durchgreifendsten Veränderungen aber scheinen sich am Kernapparat abzuspielen. Mit dem Plasma wächst auch der Kern ziemlich stark, er erscheint in diesen Stadien bedeutend größer als bei den Affenplasmodien. Auch der Innenkörper wächst und nimmt einen großen Teil des Kernes ein, wobei er sich ebenfalls etwas dunkler, immer aber deutlich rot färbt.

In allerdings sehr seltenen Fällen kann man dann Stadien finden, wie sie in Fig. 9 und 10 abgebildet sind (Trockenpräparat). In Fig. 9 läßt der Innenkörper deutlich eine Trennung in zwei Polkappen erkennen, die durch ein helleres Mittelstück untereinander verbunden sind, in Fig. 10 finden sich deutlich zwei gleich große, gleichmäßig gefärbte Innenkörper vor.

Bei der großen Seltenheit dieser Stadien ist aber wohl anzunehmen, daß sie nicht in den regulären Entwicklungszyklus hineingehören. Vielleicht sind es Degenerationsstadien mit beginnendem Innenkörperzerfall, vielleicht auch Rückbildung eines Makrogameten zur Schizogonie, wie sie Schaudinn bei *Plasm. vivax* beschreibt. Sichereres möchte ich darüber vorläufig noch nicht aussagen.

Gleichfalls selten — etwa 3mal — konnten Stadien beobachtet werden, wovon Fig. 11 ein Beispiel zeigt. Im Kern liegt ein runder Innenkörper und außerhalb des Kernes bereits im Plasma ein nicht ganz so großes, etwas unregelmäßig gestaltetes Korn. Beide unterscheiden sich aber durch ihre Färbbarkeit deutlich, denn während das außen liegende Korn sich leuchtend rot tingiert, ist der etwas schattenhafte Innenkörper mehr violett gefärbt. Ich glaube deshalb nicht, daß dieses Stadium etwa als auf die beiden vorigen folgend gedeutet werden kann. — Das Bestehen einer Verbindung zwischen beiden Körpern (Centrodese) war bei keinem der gesehenen Bilder mit Sicherheit zu erkennen.

Bei weitem am häufigsten aber und wohl als Regel anzusehen sind Stadien, wie sie Fig. 12 bis 15 zeigen. Die Lage des Innenkörpers wechselt in gewissen Grenzen. Er liegt selten zentral, meist ist er mehr

oder weniger nach der Peripherie des Kernes hin verschoben. In anderen Fällen befindet er sich auf der Grenze von Kern und Plasma (Fig. 12), dann außen, dem Kern noch anliegend, und schließlich entfernt vom Kern im Plasma (Fig. 13, 14).

Eine große Menge von Uebergängen lassen sich auffinden, und es erscheint mir daher zweifellos, daß alle diese Stadien eine Kette darstellen, daß also in einem bestimmten Stadium des Makrogametocyten der Innenkörper den Kern verläßt und in das Plasma übertritt. Ueber das weitere Schicksal, besonders auch bei freien Makrogameten, kann ich nichts Bestimmtes mitteilen; unter den Präparaten des Herrn Prof. v. Wasielewski fand sich ein Stadium, das den Anschein erweckt, als ob eine weitere Eliminierung des Innenkörpers auch aus dem Plasma erfolgen könne (Fig. 15); unter meinen eigenen Präparaten habe ich aber etwas ähnliches nicht gefunden. Es wäre gewiß von großer Wichtigkeit, weiteres über das Verhalten des Innenkörpers zu erfahren. Neumann, der nach seinen Angaben eine große Menge freiliegender Makrogameten besaß, geht leider auf diese Verhältnisse nicht genauer ein.

Aehnliche Stadien, wie die hier bezeichneten, sind nun auch bei anderen Malariaparasiten gefunden worden. Flu bildet solche ab (*Plasmodium cynomolgi*), die den Fig. 9 und 10 entsprechen, und ist geneigt, diese Bildungen als Parthenogenesis im Schaudinn'schen Sinne anzusprechen, eine Möglichkeit, die auch ich oben erwähnte. Auch Fig. 13 bei Flu entspricht der von mir gegebenen Fig. 11, nur daß bei mir der unregelmäßig gestaltete rote Körper bereits im Plasma liegt, während er bei Flu den Kern noch nicht verlassen hat.

Flu faßt auch diese Form als Parthenogenesis auf; ein Auffassung, der der weitere Verlauf (Ausstoßung des roten Kernes in das Plasma, Fig. 11) nicht recht geben würde.

Vielleicht handelt es sich auch in diesem Falle um Degenerationsformen (vgl. die unregelmäßige Gestalt des roten Körpers) oder um eine „Reduktionserscheinung“ (siehe unten).

Mayer teilt mit, daß er bei *Plasmodium cynomolgi* öfter „Regulierungsvorgänge in Form von Abstoßung von Kernteilen — ähnlich den von Halberstädter und v. Prowazek gesehenen — beobachten konnte“. Die Abbildung, die er dafür gibt (Fig. 16), ist zwar etwas stark gefärbt, und es sind Einzelheiten im Kern nicht mehr genau zu unterscheiden; jedoch scheint es mir sicher, daß auch hier der ganze Innenkörper ausgetreten ist, daß also ein gleiches Stadium vorliegt wie bei Fig. 13 und 14. *Plasm. praecox* nimmt also auch in diesem Punkte keine Sonderstellung unter den Plasmodiden ein.

Genauer bekannt sind ähnliche Vorgänge besonders von den Coccidien. So tritt nach Schaudinn beim Makrogameten von *Coccidium Schubergi* das Karyosom in das Plasma über, gelangt dort an die Peripherie und wird plötzlich unter Auflösung in kleinere Partikel hinausgeschleudert.

Bei *Coccidium lacazei* bleibt der Binnenkörper zwar im Kern (Schaudinn), löst sich später aber auf, und ein Teil der Kernsubstanz wird entfernt, ebenso bei *Coccidium proprium*, bei dem nach Siedlecki (98) die ausgestoßene Kernsubstanz im Plasma bleibt und hier allmählich zugrunde zu gehen scheint. Man vergleiche auch die Angaben Moroffs (1906) über *Adelea zonula*. Weiter berichtete Awerinzew (1910) von *Barrouxia spiralis*, daß beim Makrogametocyten das Karyosom sich vollständig auflöst, indem es allmählich

in das Protoplasma des entstehenden Makrogameten durchsickert und dort verschwindet.

Diese Vorgänge, für die Analoga aus den übrigen Protozoenordnungen sich ja noch in beträchtlicher Anzahl anführen ließen, werden wohl jetzt allgemein als Reifungserscheinungen angesehen, bei denen es sich eben darum handelt, eine größere Menge färbbarer Kernsubstanz zu entfernen. Eine „Reduktion“ im engeren, von den Metazoen her gebräuchlichen Sinne, wie sie auch bei Protozoen aus dem Auftreten von „Richtungskernen“ geschlossen ist — so bei *Herpetomonas* (v. Prowazek), wo außerdem Chromosomenreduktion gesehen wurde, *Actinophrys* (Schaudinn), *Actinosphaerium* (Hertwig) — und wie sie Schaudinn auch beim menschlichen Tertianaparasiten beschreibt, scheint bei *Plasmodium praecox* nicht vorzukommen.

Bastianelli und Bignami haben übrigens bei *Plasm. vivax* nur ein Austreten einzelner Chromatinkörnchen ins Plasma gesehen, das sie als Reduktionserscheinung deuten, und ähnliches beschreibt v. Berenberg-Gossler beim *Plasmodium Kochi*.

Bei den Mikrogameten liegen die Verhältnisse etwas anders. Der heranwachsende Mikrogametocyt ist von den weiblichen Geschlechtsformen gut zu unterscheiden, da er sich infolge der geringeren Anhäufung von Nährstoffen mit Giemsa-Lösung nur hellblau färben läßt. Von Anfang an von unregelmäßiger Gestalt, zeigt er auch später intraglobulär wenig Tendenz zur Abrundung; er breitet sich durch das ganze Blutkörperchen aus und drängt dabei den Kern meistens an den Rand desselben (Fig. 16, 17).

Der Kern wächst mit dem Plasma zu recht beträchtlicher Größe heran; er ist gleichfalls von unregelmäßiger Gestalt und seine anfangs noch ziemlich scharfen Konturen nehmen später immer mehr an Deutlichkeit ab, eine Erscheinung, die auch Awerinzew bei den Mikrogametocyten von *Barrouxia spiralis* beobachtet hat und auf Uebertreten von Kernchromatin ins Plasma zurückführt.

Ein Innenkörper ist fast immer deutlich vorhanden; er färbt sich bei jüngeren Formen tiefrot ähnlich wie bei Makrogametocyten, ohne aber die bei diesen vorhandene Größe zu erreichen (Fig. 16).

Bald treten nun an ihm bemerkenswerte Veränderungen auf. Er scheint sich zu teilen, denn man findet öfter in einem Kern zwei Innenkörper, manchmal von ungleicher, meist von derselben Größe (Fig. 17). In vielen Fällen geht die Teilung noch weiter, ich habe bis zu vier Kernkörper zählen können, die noch innerhalb des Kernes, zum Teil allerdings hart auf der Grenze des Protoplasma lagen (Fig. 18). Ähnlich sind nach Schaudinn die Verhältnisse bei *Plasm. vivax*, wenigstens bis zu diesem Punkte der Entwicklung. Denn jetzt bleiben beim Tertianaparasiten die Tochter-Innenkörper so lange im Kern, bis sich dieser unter Kontraktion und Eindringen des Pigmentes auflöst, worauf die Innenkörper auf die Oberfläche des Parasiten rücken und die Zentren für die Kernneubildung der Mikrogameten abgeben. Dies braucht bei *Plasm. praecox* nicht der Fall zu sein. Man findet sogar häufiger einige Innenkörper bereits im Plasma liegen, während auch der Kern deren noch enthält (Fig. 19). Außerdem sind noch wechselnde Mengen kleinerer Chromatinkörnchen im Plasma auffindbar (cf. *Plasm. vivax* Schaudinn).

Zum Vergleich mögen hier wieder die Verhältnisse bei Coccidien herangezogen werden, bei denen allerdings bedeutende Verschiedenheiten vorkommen.

Denn während sich z. B. nach Schaudinn und Siedlecki bei *Adelea* und *Coccidium lacazei* zunächst die Karyosome teilen und an die Peripherie der Zelle rücken, worauf sich um sie das Chromatin des Kernes anordnet, beteiligt sich bei *Coccidium Schubergi* nach Schaudinn das Karyosom überhaupt nicht an der Kernvermehrung, sondern verbleibt im Zentrum der Zelle, wo es später zugrunde geht und dadurch eine „Reduktion der Kernsubstanz“ bedingt.

Bei *Cyclospora caryolytica* (Schaudinn) wiederum zerfällt das Karyosom noch im Kern in Tochterkaryosome, die sich an der Neubildung der Tochterkerne beteiligen, wogegen nach Awerinzew bei *Barrouxia spiralis* das Chromatin des Karyosoms in Form kleinster Partikelchen in das Plasma des Mikrogametocyten übergeht.

Die weitere Entwicklung des Mikrogametocyten von *Plasmodium praecox* und die Formierung der Mikrogametenkerne, die ich noch nicht weiter verfolgen konnte, würde eine eingehende Untersuchung wohl lohnen, besonders daraufhin, wie weit die Zahl der auftretenden Tochter-Innenkörper konstant ist, und ob diese sich mit den ausgetretenen kleinen Chromatinteilchen zu Neubildung von Kernen vereinigen, was sich vielleicht in Analogie mit der Mikrogametenbildung bei *Plasm. vivax* vermuten läßt. „Reduktionserscheinungen“ ließen sich bei meinen Stadien noch nicht nachweisen.

Auch Schaudinn hat solche beim Tertianparasiten nicht mit Sicherheit beobachtet; aber er schließt aus dem steten Auftreten von 8 Tochterkaryosomen und der geringeren Anzahl von gebildeten Mikrogameten, „daß nicht immer alle Mikrogametenanlagen zur Ausbildung kommen“, daß vielleicht eines oder mehrere Karyosome zugrunde gehen.

v. Berenberg-Gossler hat seinerseits bei der Mikrogametenbildung von *Plasm. Kochi*, die im übrigen ganz ähnlich verläuft wie bei *Plasm. vivax*, den Rest des Binnenkörpers im Restkörper zurückbleiben sehen.

Es ist also sehr wohl denkbar, daß ein Modus der Ausstoßung von Kernsubstanz ähnlich einem der angeführten auch bei den Mikrogametocyten *Plasm. praecox* sich wird auffinden lassen.

Was nun zum Schluß die systematische Stellung des *Plasmodium praecox* anbelangt, so scheint mir aus den obigen Ausführungen doch hervorzugehen, daß vorderhand die Auffassung der Plasmodien als rückgebildete Flagellaten noch durchaus problematisch ist und beträchtlichen Schwierigkeiten begegnen dürfte; daß man vielleicht mit demselben Rechte die Coccidien unter die Binukleaten einreihen und deren Karyosom als Blepharoplasten bezeichnen könnte.

Auf die Bedenken, die einer Verwertung des Lokomotionsapparates zu phylogenetischen Spekulationen überhaupt entgegenstehen, habe ich schon im Anfang hingewiesen. Auch die Kernverhältnisse im übrigen sind vorsichtig zu verwenden, wofür die großen Verschiedenheiten, die sich bei einer relativ so geschlossenen Gruppe wie den Coccidien vorfinden, als Beispiel dienen mögen.

Wenn wir sie aber trotzdem zur Grundlage nehmen, so muß doch gesagt werden, daß sich darin das *Plasm. praecox* von den übrigen Arten der Gattung *Plasmodium* durchaus nicht in einem wichtigeren Punkte unterscheidet. Das Verhalten des Kernes und seines Innenkörpers in Merozoiten, Schizonten und während der Schizogonieteilungen,

weiter im Makrogametocyten beim Wachstum und bei den Reifungserscheinungen wie auch beim Mikrogametocyten ist durchaus homologisierbar dem, wie wir es bei Affenplasmodien und bei den im Menschenblute lebenden Formen im besonderen beim *Plasm. vivax* finden. Ein besonderer Nebenkern, wie er z. B. bei *Plasm. Kochi* von v. Berenberg-Gossler beschrieben ist, ist beim *Plasm. praecox* meiner Ansicht nach bisher noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen (auch von Seitz nicht, vgl. oben).

In dieser Beziehung würden also vom Hartmannschen Standpunkte die Affenparasiten ebenso „primitive“, vielleicht noch primitivere Merkmale aufweisen als der Parasit der Vogel malaria, ohne daß bisher der Vorschlag gemacht wurde, sie von der Gattung *Plasmodium* abzutrennen, so daß man wohl auch den Parasiten der Vogel malaria vorläufig noch dazu rechnen kann.

Auf dem gegenteiligen Standpunkte stehen von den früheren Autoren besonders Celli und Sanfelice, Labbé (1894), und neuerdings Hartmann (1907), andere wieder treten für die nächste Verwandtschaft des Vogelblutparasiten mit dem des Menschen ein: Danilewsky (1890), Grassi und Feletti, Schaudinn (1904), Lühe (1906), v. Wasielewski (1908) und Doflein (1911), nach dem „sich die Vogelblutparasiten wohl kaum von den Angehörigen der Gattung *Plasmodium* unterscheiden“. Auch Neumann wendet die Bezeichnung *Plasm. praecox* an.

Wenn Doflein trotzdem den als Vulgärnamen brauchbaren Gattungsnamen *Proteosoma* aufrecht erhält, so geschieht das einmal aus Zweckmäßigkeitsgründen, sodann, weil später wahrscheinlich eine Trennung der Gattung *Proteosoma* in verschiedene Unterarten erfolgen müsse, worauf übrigens auch bereits Lühe hingewiesen hat. Gegen die Wahrscheinlichkeit einer solchen Aufteilung sprach aber bereits Labbé, obgleich er die Gattung *Proteosoma* aufgestellt hatte; Verschiedenheiten der Parasiten in demselben Wirt kommen auch bei anderen Arten vor in bezug auf Größe, Anzahl der Merozoiten, Lage des Pigmentes usw. (vgl. oben); sie rechtfertigen, zumal bei dem stetigen Vorhandensein von Uebergangsformen, wohl noch nicht die Annahme verschiedener Gattungen, und andere schwerer wiegende Unterschiede existieren jedenfalls zurzeit noch nicht. Ich darf daher wohl mit Lühe die Ansicht vertreten, daß es noch dann zur Abtrennung einer besonderen Gattung Zeit ist, wenn man verschiedene Unterarten mit Sicherheit abgrenzen kann, so daß der Name *Plasmodium praecox* für den Parasiten der Vogel malaria bis auf weiteres zu Recht bestehen dürfte.

Heidelberg, Oktober 1911

Literatur.

- 1) Alexeieff, A., Sur quelques points de la structure des „Binucléates“ de Hartmann. (Compt. rend. soc. biol. T. 69.)
- 2) Argutinsky, P., Malariastudien. (Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 59. 1901.)
- 3) — —, Malariastudien. II. (Ibid. Bd. 61. 1902.)
- 4) Awerinzew, S., Studien über parasitische Protozoen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 18. 1910.)
- 5) v. Berenberg-Gossler, H., Beiträge zur Naturgeschichte der Malariaplasmodien. (Arch. f. Protistenk. Bd. 16. 1909.)
- 6) Bignami, A. e Bastianelli, G., Sulla struttura dei parassiti malarici e in specie dei gamete dei parassiti estivo-autumnali. (Atti Soc. per gli studi delle malaria Vol. 1. 1899.)

- 7) Bignami, A. e Bastianelli, G., Sullo sviluppo dei parassiti della terzana nell' *Anopheles claviger*. (Ibid. 1899.)
- 8) Doflein, F., Lehrbuch der Protozoenkunde. 1911.
- 9) Flu, P. C., Untersuchungen über Affenmalaria. (Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908.)
- 10) Halberstädter u. v. Prowazek, Untersuchungen über die Malaria Parasiten der Affen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 26. 1907.)
- 11) Hartmann, M., Das System der Protozoen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 10. 1907.)
- 12) — —, Ueber die Berechtigung der Flagellatengruppe „Binucleata“ und der Gattung „Prowazekia“. (Ibid. Bd. 23. 1911.)
- 13) — —, Die Konstitution der Protistenkerne. Jena 1911.
- 14) Hartmann, M. u. v. Prowazek, Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. (Arch. f. Protistenk. Bd. 10. 1907.)
- 15) Hartmann, M. u. Jollos, V., Die Flagellatenordnung „Binucleata“. (Arch. f. Protistenk. Bd. 19. 1910.)
- 16) Kühn, A. u. v. Schuckmann, W., Ueber den Bau und die Teilungserscheinungen von *Trypanosoma brucei*. (Sitzungsber. d. Heidelberg. Akad. d. Wissensch. 1911. Heft 11.)
- 17) — —, Cytologische Untersuchungen an Trypanosomen. (Zool. Jahrb. XV. Bd. 2. Suppl. 1912. Festschr. f. Spengel.)
- 18) Lühe, M., in Mense, Handb. d. Tropenkrankh. 1906.
- 19) Mayer, M., Ueber Malaria Parasiten bei Affen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908.)
- 20) Moroff, T., Untersuchungen über Coccidien. (Arch. f. Protistenk. Bd. 8.)
- 21) Neumann, R. O., Die Uebertragung von *Plasmodium praecox* auf Kanarienvögel durch *Stegomyia fasciata* etc. (Arch. f. Protistenk. Bd. 13. 1909.)
- 22) v. Prowazek, Die Entwicklung von *Herpetomonas*. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 20. 1904.)
- 23) Schaudinn, F., Neue Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. (Verh. d. Deutsch. Zool. Gesellsch. 1905.)
- 24) Schaudinn, F. u. Siedlecki, M., Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. (Verh. d. Deutsch. Zool. Gesellsch. 1897.)
- 25) Schaudinn, F., Generationswechsel der Coccidien und die neuere Malariaforschung. (Sitzungsber. d. Gesellsch. naturforsch. Freunde. Berlin 1899.)
- 26) — —, Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. (Zool. Jahrb. Bd. 13. 1900.)
- 27) — —, *Plasmodium vivax*, der Erreger des Tertianfiebers beim Menschen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 19. 1902.)
- 28) — —, Der Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaeta*. (Ibid. 1904.)
- 29) Seitz, Zur Frage der Hartmannschen Binukleaten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910.)
- 30) Siedlecki, M., Réproduction sexuée et début de la sporulation chez la coccidie du Triton (*Coccidium proprium*). (Compt. rend. soc. biol. Paris. 1898.)
- 31) v. Wasielewski, Th., Verbreitung und künstliche Uebertragung der Vogel malaria. (Arch. f. Hyg. 1901.)
- 32) — —, Studien und Mikrophotogramme zur Kenntnis der pathogenen Protozoen. Leipzig 1908.
- 33) v. Wasielewski, Th. u. Hirschfeld, L., Untersuchungen über Kulturamöben. (Abhandl. d. Heidelberg. Akad. d. Wissensch. 1910.)
- 34) Ziemann, in Mense, Handb. d. Tropenkrankh. 1906.

Tafelerklärung.

Plasmodium praecox.

Die Figg. 6, 15, 17 sind Abbildungen nach Präparaten des Herrn Prof. v. Wasielewski, die mir freundlichst zur Verfügung gestellt wurden.

Die übrigen sind nach eigenen Präparaten gezeichnet unter Benutzung des Abbeschen Zeichenapparates.

Objektiv Zeiss, homogene Immersion 1,5.

Kompensationsokular XII.

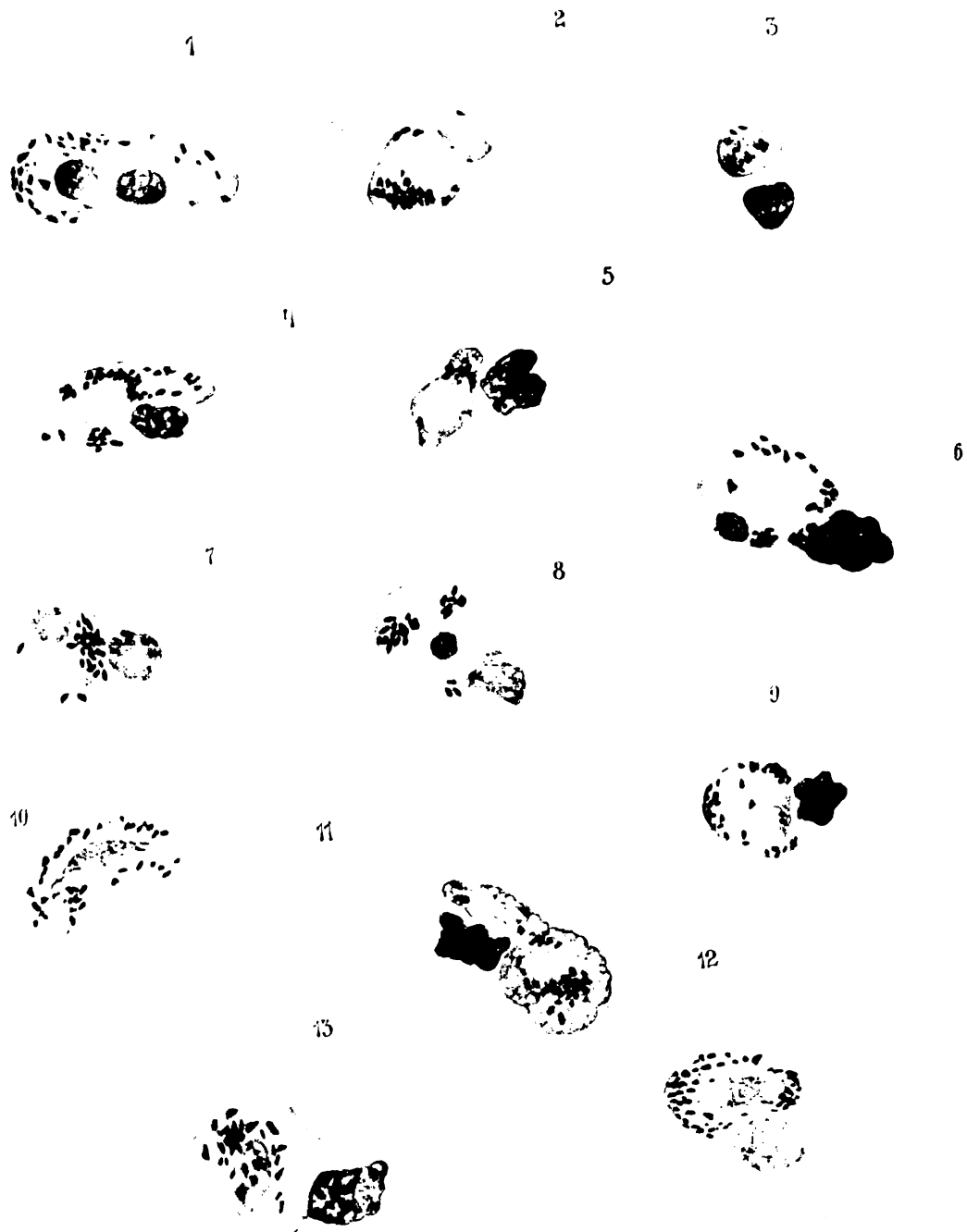
Vergrößerung: Figg. 6, 15, 17 ca. 2000, die übrigen ca. 2600—2800.

Fig. 1. Von vier jungen Parasiten befallener Erythrocyt (wahrscheinlich Degenerationsform).

Fig. 2. Junger Schizont (überfärbt).

Fig. 3. Schizonten. Hantelförmige Durchschnürung des Innenkörpers.

Digitized by Google



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

- Fig. 4. Schizonten.
 Oben: Innenkörper geteilt, Kern noch in Ruhe.
 Seitlich: Innenkörper an den Polen des in Teilung begriffenen Kernes.
- Fig. 5. Schizont nach vollendeter erster Kernteilung.
- Fig. 6. Endstadium der Kernvermehrung.
- Fig. 7. Freie Merozoiten.
- Fig. 8—15. Makrogametocyten.
- Fig. 8. Jugendform.
- Fig. 9. Innenkörper in Teilung.
- Fig. 10. Teilung vollendet (Parthenogenese?).
- Fig. 11. Reduktionserscheinung.
- Fig. 12—15. Austrreten des Innenkörpers aus dem Kern in das Plasma.
- Fig. 16—19. Mikrogametocyten in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Nachdruck verboten.

Ein neuer Blutparasit der afrikanischen Schildkröte, *Clemmys africana*, „*Haemoproteus Cajali*“ n. sp.

Von Dr. **Gustavo Pittaluga**,

Ordentl. Professor der Parasitologie und Tropenkrankheiten der Kgl. Universität Madrid;
 Chef der parasitologischen Unterabteilung des „Instituto nacional de Higiene de
 Alfonso XIII.“ (Direktor: Prof. Ramón y Cajal).

Mit 1 Tafel.

Bei einigen Exemplaren von *Clemmys africana*, welche im September des Jahres 1909 im Innern des im Tale des Campoflusses gelegenen Waldes gefangen wurden, fanden wir einen Parasiten, welcher unsere Aufmerksamkeit auf sich zog.

Der Parasit bildet Pigment. Das Vorkommen von Melanin oder Hämozoin (Sambon 1907) ist bei den Blutparasiten der Reptilien im allgemeinen und bei den Chelonidae im besonderen nicht häufig. Bei diesen Wirbeltieren hat man in den letzten Jahren eine große Anzahl von Hämogregarinen beschrieben (Telesporidien, welche durch die Abwesenheit von Pigment in den Schizonten, die sich im Innern der Zellen befinden, charakterisiert sind), dagegen aber sehr selten Pigmentparasiten.

Doflein in seinem klassischen, kürzlich erschienenen Lehrbuch der Protozoenkunde (Jena 1909) erwähnt keine von diesen Formen, weder in der Gattung *Plasmodium* noch in der Gattung *Haemoproteus*, welche im Blute der Reptilien vorkommen. Dagegen erwähnt er die Gattung *Haemocystidium* Castellani und Villey, welche unter den Hämatien einer indischen Schildkröte (*Chitra indica*) beschrieben ist. Diese Gattung besitzt Eigenschaften, welche in Wirklichkeit mit denen der Gattung *Plasmodium* übereinstimmen, wenn man die allgemein adoptierte neue Klassenordnung von Sambon und Hartmann für die Einteilung der Blutparasiten aus der Klasse der Protozoa annimmt. Tatsächlich hat Castellani, welcher in seiner „Abhandlung über tropische Medizin“ (Ende des Jahres 1910 unter Mitarbeit von Chalmers veröffentlicht, p. 299) die von ihm beschriebene Art *Haemocystidium simondi* als mit *Plasmodium simondi* synonym betrachtet. Endlich beschreibt Simon unter dem Namen *Haemamoeba metschnikovi* einen Blutparasiten der Schildkrötengattung *Trionyx* (*Trionyx indicus*), welcher wegen seiner morphologischen Eigenschaften zur Gattung *Haemoproteus* gehören und deswegen als *Haemoproteus metschnikovi* betrachtet werden sollte.

Der Parasit der zur Gattung *Clemmys* gehörigen Schildkröten, welchen wir in Spanisch-Guinea gefunden und zum erstenmal beschrieben haben, gehört unseres Erachtens zur Gattung *Haemoproteus* wegen der morphologischen Eigenschaften der in dem peripherischen Blut der genannten Wirbeltiere enthaltenen Schizonten und Sporonten. Diese Art ist aber vollständig neu, und wir haben uns erlaubt, ihr den spezifischen Namen *Haemoproteus Cajali* zu geben, sie dem berühmten spanischen Forscher widmend.

Die gewöhnlichen Schizonten des *Haemoproteus Cajali* haben das in Fig. 3 dargestellte typische Aussehen. Der protoplasmatische Leib des Parasiten nimmt einen großen Teil des Stromas der roten Blutkörperchen ein. Er umkreist den Kern in der für *Haemoproteus* im allgemeinen charakteristischen Form, und man unterscheidet in ihm eine ziemlich bedeutende kernförmige Masse. Die Hämazinkörner befinden sich im Umkreise des Cytoplasmas des Parasiten zerstreut.

Das Cytoplasma erscheint fein gekörnt oder zellig; in vielen Formen der ausgewachsenen Schizonten offenbart sich die zellenartige Struktur und ist mit absoluter Klarheit wahrnehmbar, wie aus den Fig. 4, 8, 11 hervorgeht. Wenn man mit einiger Sorgfalt eine Anzahl von Präparaten beobachtet, so kann man leicht die Entwicklungsstufen der Schizonten im Innern der Hämatien verfolgen. Kleine Formen, frisch kaum wahrnehmbar, welche wenig basophil sind und welche in den mit den gewöhnlichen Färbeverfahren hergestellten Präparaten kaum gefärbt sind, befinden sich in großer Menge in den Blutkörpern. Diese Formen nehmen an Umfang zu und erlangen das in Fig. 3 dargestellte Aussehen. Dieselben bilden also cytoplasmatische Körper, die, fast abgerundet, sich gewöhnlich in einem Ende der Hämatien befinden, in deren Innern sich eine oder zwei kleine chromatische Massen befinden, sowie einige kleine Körner von Melanin. Der Umfang dieser Schizonten nimmt immer mehr zu und allmählich verwandelt sich das abgerundete Aussehen in das einer verlängerten Spindel, wie aus Fig. 5 und 2 zu ersehen ist. Eine Art von Pseudopodien des Parasiten, welcher den Kern umrändert, breitet sich zwischen letzterem und dem Rande des Cytoplasmas oder Stroma der Hämatie aus, indem sich somit die typische Form der ausgewachsenen Schizonten bildet, welche wir bereits beschrieben und in den Fig. 4, 2 und 1 dargestellt haben. Gleichzeitig nimmt man in einigen Hämatien andere als die beschriebenen Formen wahr, welche wir als Sporonten deuten müssen. Zu dieser Gruppe gehören die in den Fig. 6, 9, 10, 12 und 13 dargestellten. Besonders verändern sich in diesen Formen Anordnung und Aussehen der chromatischen, kernförmigen Massen, doch wäre es voreilig, wollte man gegenwärtig auf Grund der geringen morphologischen Merkmale, die wir kennen, die Eigenschaften einer zweifellosen sexuellen Unterscheidung feststellen, trotzdem genannte Daten genügen, um zu bestätigen, daß wir es mit Sporonten zu tun haben. Bei einigen dieser Formen kann man deutlich im Innern der kernförmigen Masse die verschiedenen Chromosomen wahrnehmen.

Die Zahl der parasitischen Hämatien in den untersuchten Schildkröten war sehr bedeutend. Gegenwärtig ist uns die Art und Weise der Uebertragung und der unter den Wirbellosen zu suchende Wirt dieses Parasiten völlig unbekannt. Niemals haben wir beim Studium von frischen Präparaten beobachtet, daß sich im peripherischen Blute Mikrogameten gebildet haben. In einigen der beobachteten parasitären

Formen war die Beweglichkeit groß und die Pigmentkörner schienen sich strudelförmig in dem Cytoplasma des Parasiten zu bewegen. In dem Blute der Schildkröten bemerken wir niemals irgendeine parasitäre Form, welche im Plasma frei vorkommt. Aus diesem Grunde glauben wir, daß nur in gewissen Perioden die Schizonten und die Sporonten dieser Art eine Periode freien Lebens durchmachen, und dies vielleicht in dem Plasma der inneren Organe.

Wenn diese Art tatsächlich niemals eine extraglobuläre Entwicklungsperiode durchmacht, so müßten wir dieselbe in die Gattung Plasmodium einschließen. Aber das nierenförmige Aussehen der Schizonten und der augenscheinliche Formenunterschied zwischen den Schizonten (länglich, den Kern der Hämatien umringend) und den Sporonten (kugelförmig) bringen mich zu der Ansicht, daß es sich hier tatsächlich um einen Haemoproteus handelt.

Madrid.

Nachdruck verboten.

Darstellung von Anaphylaxiegiften in vitro ohne Komplement¹⁾.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Kaiserl. und Kgl. Militär-sanitätskomitees in Wien.]

Von Priv.-Doz. **B. Doerr** und Priv.-Doz. **V. K. Russ**.

Wie wir bereits im Jahre 1909 nachgewiesen haben, wirkt die intravenöse Injektion von Niederschlägen, welche bei der vitro-Reaktion eines Eiweißantigens mit einem präzipitierenden Antiserum vom Kaninchen entstehen, auf Meerschweinchen schädigend ein; im Blute der erkrankten Tiere vollzieht sich ein intensiver Komplementschwund (Doerr und Moldovan).

Je nach dem gegenseitigen Mengenverhältnis der beiden Faktoren waren in manchen Fällen nicht die Präzipitate, sondern die nach der Ausflockung restierenden überstehenden Flüssigkeiten pathogen. Doerr und Moldovan modifizierten daher die ursprüngliche Versuchstechnik in der Weise, daß sie Antigen und Antiserum in der Epruvette vermengten und das gesamte Reaktionsgemisch nach eingetretener Flockung Meerschweinchen endovenös injizierten; wie zu erwarten war, hatte auch dieser Eingriff Krankheitssymptome zur Folge.

Variierten Doerr und Moldovan zunächst die Menge des Antigens bei konstanter Dosis Antiserum, sodann das Antiserum bei gleichbleibendem Antigen, so ergab sich die Tatsache, daß nur sehr geringe Antigenquanten erforderlich waren, um bei überschüssigem Immunkörper dem Gemische Giftigkeit zu verleihen, daß man dagegen mit dem Antiserum nicht weit heruntergehen darf, ohne die Pathogenität aufzuheben. Es wurde betont, daß bei der Präzipitation analoge Verhältnisse herrschen, indem in vitro 0,001—0,0001 ccm, ja noch weniger präzipitables Serum die Fällung hervorruft, während man vom Präzipitin 0,02—0,1 ccm, also das 50—100-fache, zur sichtbaren Reaktion benötigt; dementsprechend ließ sich auch weiter im Tierversuch konstatieren, daß nur die vor der

1) Diese Untersuchungen wurden mit den Mitteln der Trenkle-Stiftung pro 1911 ausgeführt.

Injektion getrübten Gemenge auf das Tier wirkten, und daß mit abnehmender Intensität der Flockung die Inkubation der krankhaften Erscheinungen zu-, die Stärke derselben abnahm.

Da gerade gegen diese Experimente von Biedl und Kraus Einwände erhoben wurden, die uns nicht gerechtfertigt erscheinen, so sehen wir uns genötigt, dieselben in Kürze zu reproduzieren.

Ein präzipitierendes Antirinderserum vom Kaninchen No. 497, welches mit 200-fach verdünntem Rinderserum sofort ausflockte, wurde in wechselnden Mengenverhältnissen mit Rinderserum gemischt und die Gemenge nach 5 Minuten langem Stehen Meer-schweinchen intravenös injiziert. Wenn die Niederschlagsbildung sofort eintrat, waren diese Gemische giftig, sonst nicht.

A. In dieser Versuchsreihe kam der Einfluß des Antigens zum Ausdruck:

| M. | erhält | S. | Rinderser., | sof. schwerste Sympt., | † nach | 7 Std. |
|--------|--------|---------------|-------------|-------------------------------|--------|--------|
| M. 320 | 3,0 | 497 + 0,3 | | | † | 12 " |
| " 321 | " 3,0 | " 497 + 0,1 | " | " | † | 12 " |
| " 322 | " 3,0 | " 497 + 0,05 | " | nach 30 Min. deutl. Sympt., | † | 12 " |
| " 323 | " 3,0 | " 497 + 0,01 | " | " 45 " " " | † | 12 " |
| " 334 | " 3,0 | " 497 + 0,005 | " | " 60 " " " | † | 8 " |
| " 325 | " 3,0 | " 497 + 0,001 | " | keine Erscheinungen, überlebt | | |

B. Einfluß der Antikörpermenge.

| M. | erhält | Rinderser. + | S. | nach 10 Min. schwere Sympt., | † nach | 6 Std. |
|--------|--------|--------------|--------|-------------------------------|--------|--------|
| M. 340 | 0,2 | 2,0 | 497, | " 10 " Krämpfe | † | 12 " |
| " 341 | " 0,2 | " + 1,0 | " 497, | " 10 " Krämpfe | † | 12 " |
| " 342 | " 0,2 | " + 0,5 | " 497, | keine Erscheinungen, überlebt | | |
| " 343 | " 0,2 | " + 0,3 | " 497, | " " " | | |

In der Reihe A war folgendes zu beobachten: Während das Gemisch von 3,0 ccm Serum 497 + 0,3 ccm Rinderserum sofort stark getrübt war, nahm die Intensität der momentanen Trübung mit fallendem Antigen stark ab; beim letzten Gemisch war überhaupt keine Trübung mehr zu konstatieren.

Die nach der Injektion von gewaschenen Präzipitaten oder ausgeflockten Gemischen auftretenden Krankheitssymptome wurden von Doerr, Russ und Moldovan als anaphylaktische gedeutet, weil sie den letzteren äußerlich vollständig gleichen, vorzüglich aber deshalb, weil ihre Entstehung durch dieselben Faktoren veranlaßt war, welche im typisch anaphylaktischen Experiment nach der allgemein herrschenden Auffassung in Betracht kommen, nämlich durch ein Eiweißantigen, seinen Antikörper und den reagierenden Organismus des Tieres.

Gegen diese Versuche wenden sich Biedl und Kraus mit folgenden Worten: „Mit Präzipitat aus Pferdeserum genau nach der Vorschrift von Doerr und Moldovan bereitet, konnten wir auch dann keine Giftwirkung sehen, wenn das Doppelte der von ihnen angegebenen Dosis zur Anwendung gelangte. In jenen Versuchen mit Rinderserum, wo nach den Angaben von Doerr und Moldovan 3 ccm Kaninchenimmenserum plus 0,3 ccm Rinderserum gemischt nach 5 Minuten Stehenlassen normalen Tieren injiziert wurde, sahen wir wohl Vergiftungserscheinungen und selbst den Tod der Tiere. Doch konnten wir den gleichen Erfolg mit demselben Kaninchenserum auch ohne Zusatz von Rinderserum erzielen, und, was besonders wichtig erscheint, weder die Symptome der Vergiftung noch der Lungenbefund hatten irgendeine Ähnlichkeit mit dem bei der Anaphylaxie wahrnehmbaren“.

Versuchsprotokolle wurden nicht angeführt. Soweit sich nun die Behauptungen von Biedl und Kraus auf die Ungiftigkeit der Präzipitate „aus Pferdeserum“ oder auf die Differenz zwischen der Präzipitativwirkung überhaupt und dem anaphylaktischen Symptomenkomplex beziehen, verweisen wir einfach auf die nachstehend mitgeteilten Experimente, da sich aus ihnen das gerade Gegenteil folgern läßt. Wohl aber müssen wir schon hier betonen, daß für die oben mitgeteilte Versuchsreihe von Doerr und Moldovan (siehe sub A) die Annahme unzulässig ist, daß

die Giftigkeit der Antigen-Antiserumgemische von der primären Toxizität des Immunserrums herrührte; lehrt doch eine auch nur oberflächliche Prüfung der Resultate, daß die Pathogenität der Gemenge im geraden Verhältnis mit der zugesetzten Antigendosis anstieg, bei 0,001 ccm Rinder-serum (Meerschweinchen No. 325) gar nicht vorhanden war, somit auch nicht durch das Antiserum allein bedingt sein konnte.

In späterer Zeit haben Friedberger und Vallardi, sowie Moro und Tomono die Angaben von Doerr und Russ hinsichtlich der Giftwirkung der Präzipitate bestätigt. Die auf diesem Wege hervorgerufenen Symptome waren jedoch ausnahmslos relativ geringgradig, verliefen protrahiert und im besten Falle trat der Exitus erst nach mehreren Stunden ein. Daher blaßte das Interesse an diesem Phänomen ab, um so mehr als es inzwischen Friedemann und Friedberger gelungen war, in vitro gelöste Substrate darzustellen, welche, beim Meerschweinchen intravenös injiziert, Erscheinungen von maximaler Intensität, insbesondere akuten shockartigen Exitus auslösten (Anaphylaxiegifte, Anaphylatoxine).

Friedemann ließ auf ambozeptorbeladene Erythrocyten frisches Normalkaninchenserum einwirken, zentrifugierte vor Eintritt der Lyse und fand, daß das von den Blutkörperchen wieder befreite Serum für Kaninchen, also Tiere der gleichen Species hochgiftig war. Friedberger verwendete dagegen im Anschlusse an Doerr und Russ zunächst Präzipitate zur vitro-Gewinnung seiner Gifte; von der Ueberzeugung geleitet, daß dem Komplement eine wesentliche Rolle bei der Genese des anaphylaktischen Shocks zu vindizieren sei, versetzte er die Präzipitate mit frischem Normalmeerschweinchen Serum (Komplement), digerierte längere Zeit bei Zimmertemperatur oder bei 37° C, sedimentierte auf der Zentrifuge und injizierte die vom Präzipitat befreiten Abgüsse Meerschweinchen intravenös. Es traten schwere Symptome auf; ja es konnte bei der Einhaltung bestimmter quantitativer Verhältnisse, insbesondere bei Verwendung genügender Komplementmengen der akute Tod der Tiere so gut wie regelmäßig erzeugt werden (Friedberger und Vallardi). In ähnlicher Weise wie mit Serumeiweiß ließ sich die Giftproduktion auch mit Blutschatten, Erythrocyten, Bakterien durch frisches Meerschweinchen Serum und entsprechende Ambozeptoren bewerkstelligen.

Aus den zahlreichen Nachprüfungen der von Friedberger gewonnenen Resultate ergab sich im allgemeinen eine prinzipielle Bestätigung derselben, wie aus den Arbeiten von Biedl und Kraus, Moreschi und Vallardi, Salus und Schleissner, Schütze, Vaughan, Bessau, Besredka und Ströbel, Dewitzki, Neufeld und Dold, Dold, Sachs und Ritz, Moro und Tomono, Vay, Weil, Aronson, Wassermann und Keysser etc. hervorgeht. Im einzelnen waren aber doch bedeutungsvolle Abweichungen zu konstatieren; so gelang es Moro und Tomono in 77 Anaphylatoxinexperimenten nur dreimal, den akuten anaphylaktischen Tod von Meerschweinchen herbeizuführen, trotzdem sich diese Autoren streng an die von Friedberger und Vallardi als optimal bezeichneten Versuchsbedingungen hielten. In allen übrigen Fällen starben die Tiere entweder erst viele Stunden später oder aber sie erholten sich bald und blieben am Leben, ein Ergebnis, das insofern ohne Belang ist d. h. nicht als etwas Besonderes betrachtet werden kann, als man solche abgeschwächte Effekte ja auch dem Gesagten zufolge nach der Injektion

von bloßen Präzipitaten oder Antigen-Antiserungsmischen beobachtet hatte. Dieselben Erfahrungen hinsichtlich der Inkonstanz, richtiger der Seltenheit der Erfolge, die sich mit der Methodik von Friedberger erzielen lassen, hatten übrigens auch wir zu verzeichnen.

Sieht man indes von diesen Differenzen ab, so darf man wohl sagen, daß es Friedemann und Friedberger gelungen ist, durch Behandlung von ambozeptorbeladenen Eiweißantigenen verschiedenster Art mit frischem, komplementhaltigem Serum *in vitro* Gifte zu erzeugen, welche geeignete Versuchstiere bei intravenöser Injektion akut töten.

Beim Meerschweinchen entfalten diese „Anaphylatoxine“ nach Friedberger dieselben physiologischen Wirkungen, wie man sie bei echter Anaphylaxie wahrnimmt, und auch der autoptische Befund der akut verendeten Tiere ist in beiden Fällen der gleiche. Gerade in dieser Hinsicht wurden zahlreiche Einwände von Biedl und Kraus vorgebracht, die aber durch Friedberger, Graetz, Moreschi, Cesa Bianchi, Neufeld, Sachs, H. Pfeiffer, Friedberger und Ito entkräftet werden konnten.

Nun genügt aber die rein pharmakodynamische Identität nicht, um die von Friedemann und Friedberger dargestellten *in vitro*-Gifte mit dem im anaphylaktischen Shock wirksamen Agens zu identifizieren. Eine Reihe der verschiedensten Substanzen vermag beim Meerschweinchen, beim Hunde oder Kaninchen Wirkungen hervorzurufen, die den Erscheinungen der Eiweißanaphylaxie partiell oder vollständig ähnlich sind, wie z. B. Witte-Pepton, β -Iminazolyläthylamin, Essigsäure, Saponin, Cyankalium, Hirudin, Kieselsäurehydrosol, Schlangengifte etc., vorausgesetzt, daß man sie direkt in die Zirkulation bringt. Es wäre daher, da wir über die chemische Natur des wahren anaphylaktischen Giftes einerseits, über die der *in vitro*-Gifte andererseits nichts wissen, zumindest die Forderung zu erfüllen, daß ein *in vitro*-Gift nur dann als das wahre Anaphylaxiegift erklärt wird, wenn es sich in der Epruvette aus denselben Komponenten bildet und nach denselben Gesetzen entsteht, die im anaphylaktischen Experiment kooperieren.

Diesem Postulate war schon in der ursprünglichen Versuchsanordnung von Friedberger nur zum Teil Rechnung getragen, da sich im Reagenzglase Serum, im Tiere hingegen Plasma an der Entstehung des Giftes beteiligt, und da ferner der anaphylaktische Shock in Minuten oder Sekunden abläuft, während *in vitro* das komplementhaltige Serum stundenlang mit Antigen und Antikörper in Kontakt bleiben muß, um pathogene Funktionen zu erwerben.

Weitere Variationen der *in vitro*-Technik ergaben in dieser Hinsicht noch andere, schwerwiegendere Bedenken; die *in vitro*-Gifte kamen auch dann zustande, wenn man einen der im anaphylaktischen Experiment unerläßlichen Faktoren eliminierte. Die neuere Anaphylaxieliteratur enthält eine ganze Menge solcher Angaben; wir begnügen uns mit dem Hinweis auf folgende Fakten:

1) Man kann „Anaphylatoxine“, d. h. *in vitro*-Gifte aus gekochten Antigenen (koagulierte Eiweiß, gekochtem Pferdeserum, erhitzten Bakterien) ebenso leicht, ja besser und schneller gewinnen als aus nativen (Friedberger, Neufeld und Dold, Seitz). Im Gegensatz dazu ist es sichergestellt, daß gerade das klassische Antigen anaphylaktischer Prozesse, das artfremde Serum, auf das präparierte Tier im erhitzten Zustande gar nicht einwirkt, gleichgültig, ob man mit nativem oder gekochtem Antigen vorbehandelt hat.

2) Daß der Ambozeptor bei der Darstellung der vitro-Gifte nach Friedberger überhaupt völlig überflüssig ist. So gelang es Friedberger aus koaguliertem Eiereiweiß, inaktiviertem Pferdeserum, nativen und gekochten Bakterien durch bloße Behandlung mit frischem Normalmeerschweinchenserum ohne Zusatz von spezifischem Immuneserum akut tödliche Gifte zu gewinnen; desgleichen gingen Meerschweinchen ein, welchen er digerierte Gemische von inaktivem artgleichem und frischem Normalpferdeserum intravenös injizierte. Auch diese Versuche sprechen gegen die Identität der vitro-Prozesse und der wahren Anaphylaxie, da das antikörperfreie und bloß komplementreiche normale Meerschweinchen durch die Injektion von Eiweißantigen — speziell Pferdeserum — nicht geschädigt wird.

3) Läßt man frisches Normalmeerschweinchenserum in Kontakt mit Kaolin, Barymsulfat, Kieselgur oder filtriert man es durch Berkefeld-Kerzen, so wird es gleichfalls giftig. Es scheint, daß man die Kaolinwirkung verstärken kann, wenn man das Kaolin vorher mit Eiweißlösungen präpariert (z. B. inaktivem Pferde- oder Normalmeerschweinchenserum). Solche Experimente haben zuerst M. Wassermann und Keysser, später Sachs und Ritz, neuerlich Doerr und R. Pick, sowie Bauer ausgeführt; wollte man sie im Sinne von Friedberger so deuten, daß sich das Gift aus Antigen, Ambozeptor und Komplement bildet, so müßte man annehmen, daß das frische Normalmeerschweinchenserum alle drei Funktionen übernimmt.

Jedenfalls aber kommt auch in den Kaolinversuchen Komplement vor und es herrscht bis auf wenige Ausnahmen völlige Uebereinstimmung, daß gerade dieser Faktor bei der vitro-Darstellung der Gifte auf keine Weise entbehrt werden kann. Ersetzt man in der Technik von Friedemann oder Friedberger das frische, komplementhaltige Normalserum durch inaktives, so gelingt es nicht, letzteres giftig zu machen (Friedemann, Friedberger, Moro und Tomono, Neufeld und Dold, Moreschi) oder man bekommt zwar Giftwirkungen (Kraus, Seitz, Aronson), dieselben sind aber geringgradig, verlaufen protrahiert und führen erst in 24 Stunden zum Tode (Lurà). Wie schon einmal betont wurde, ist aber gerade auf das Erzielen der Vollwirkung, d. h. des akuten, in Minuten erfolgenden Exitus das größte Gewicht zu legen; digeriert man z. B. *Prodigiosus*-Bacillen mit inaktiviertem Meerschweinchenserum und sterben nun Meerschweinchen auf die endovenöse Injektion des von den Bacillen befreiten Inaktivabgusses erst in 24 Stunden, so will das wenig besagen, da man solche chronische Vergiftungen auch mit Extrakten erhält, die man aus Bakterien durch physiologische Kochsalzlösung oder destilliertes Wasser (Neufeld und Dold) hergestellt hat (Lurà).

Es erscheint nun von großer Bedeutung, zu untersuchen, ob das, was man Komplement nennt, für die vitro-Produktion von akut tödlichen, anaphylaxieartig wirkenden Giften wirklich so unerläßlich ist. Bekanntlich wurde diese Annahme im Vereine mit der Tatsache, daß im anaphylaktischen Shock Komplementschwund eintritt, zur Formulierung einer Hypothese über das Wesen der Anaphylaxie verwendet; man dachte sich dieselbe als eine Intoxikation, welche durch hochtoxische Spaltprodukte biologisch aktiver Eiweißkörper hervorgerufen wird, und bezeichnete als Ursache des chemischen Abbaues eine parenterale fermentative Proteolyse, bei der das Komplement als verdauendes Enzym fungiert (Friedemann, Friedberger, H. Pfeiffer, Moro und Tomono u. v. a.)

Der Eiweißkörper, der durch seinen Zerfall das anaphylaktische Gift liefert, soll nach Friedberger das Eiweißantigen, nach M. Wassermann und Keysser der Ambozeptor, nach Friedemann und H. Pfeiffer das Körpereiwweiß des reagierenden Tieres selbst sein.

Mit dieser Theorie lassen sich aber viele Erscheinungen nicht in Einklang bringen, wenn auch zugegeben werden muß, daß manche Experimentalergebnisse zu ihren Gunsten sprechen: wie z. B. die anaphylaxieartige Wirkung von Eiweißspaltprodukten überhaupt (Witte-Pepton, Hydrolyseprodukten), das Entstehen von peptonartigen, biureten Substanzen bei der vitro-Darstellung der Gifte (H. Pfeiffer, Friedberger, Moro und Tomono), die vermehrte N-Ausfuhr nach anaphylaktischen Reaktionen (Friedemann und Isaac, Weichardt und Schittenhelm). Es ist hier nicht der Ort, auf das Pro und Contra der Lehre von der Anaphylaxie als einer Vergiftung durch parenterale Verdauung einzugehen; zudem hat der eine von uns in einem kürzlich erschienenen Artikel (Wien. klin. Wochenschr. 1912) die Gesichtspunkte übersichtlich präzisiert, welche für die Beurteilung der meisten einschlägigen Fragen in Betracht kommen.

Hier soll lediglich über Versuche berichtet werden, in welchen die Erzeugung von akut wirkenden Giften mit Hilfe von Eiweißantigenen und homologen Antiseris ohne Komplement bewirkt wurde. Zunächst seien aber einige Bemerkungen über die Mittel vorausgeschickt, welche zur Ausschaltung des Komplementes dienen.

In den Experimenten von Friedberger und den zahlreichen anderen Autoren, die sich mit der Erzeugung von „Anaphylatoxinen“ in vitro befaßten, kam als Komplement so gut wie ausschließlich frisches Normalmeerschweinchenserum zur Verwendung. Dasselbe enthält nun allerdings jenen Körper, den wir in der Immunitätslehre als Komplement bezeichnen, und dessen Gegenwart wir in der Epruvette erschließen, wenn mit inaktivem Immunserum präparierte Erythrocyten ihr Hämoglobin austreten lassen; es enthält aber nicht bloß diesen Stoff, den wir nach den neuesten Untersuchungen als ein mit Fermentfunktion behaftetes Eiweißantigen (Moreschi und Vallardi) auffassen können, sondern eine ganze Reihe anderer Substanzen, wie Globuline, Albumine, Gerinnungsfermente u. dgl., die wir nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse mit dem Komplement nicht identifizieren dürfen.

Setzt man z. B. zu stabilem, flüssigem Gansplasma (0,5—1,0 ccm) auch nur eine Spur (0,05 ccm) frisches Normalmeerschweinchenserum, so erfolgt nach kurzer Zeit eine solide Koagulation, und ebenso werden Fibrinogenlösungen durch Zusatz von frischem Serum sofort zum Erstarren gebracht. Das deutet auf einen Gehalt an Thrombokinese resp. Fibrinferment.

Weiter wirkt frisches Normalmeerschweinchenserum antagonistisch auf wässrige Organextrakte. Letztere töten, wie seit langem bekannt, Versuchstiere bei intravenöser Injektion, wobei als wirksames Agens ein gerinnungserregender Stoff (Kinase, Cytozym, Gewebiskoagulin) angenommen wird, der auch in vitro Fibrinogen zu Fibrin umwandelt, wenn man wässrigen Organextrakt zu Hirudin- oder Peptonblut zufügt. Setzt man nun zu einem solchen Organextrakt frisches Normalmeerschweinchenserum zu, so verliert er seine Giftigkeit für das Tier (Dold) und seine koagulierende Wirkung in vitro erscheint deutlich gehemmt (L. Loeb). Inaktivierte Sera haben diese Eigenschaft nicht. Zur Erklärung könnte man nach L. Loeb annehmen, daß der Träger der pathogenen und ge-

rinnungserregenden Effekte, also das Koagulin selbst, inaktiviert wird, indem es sich mit gewissen Bestandteilen des frischen Serums verbindet, oder daß sich besondere, vom Koagulin verschiedene Komponenten der wässerigen Organextrakte mit Serumstoffen zu einer gerinnungshemmenden Substanz verbinden; die erste Auffassung wäre zwar einfacher, ist aber nach L. Loeb nicht zulässig, weil das Koagulin durch Erwärmen auf 56°C wenig leidet, während die Komponente der Gewebsextrakte, die mit dem Serum die Gerinnungshemmung gibt, größtenteils zerstört wird. Wie dem auch sei, jedenfalls enthalten frische Normalsera Stoffe, welche fähig sind Gewebskoaguline zu paralisieren, und diese Stoffe verschwinden bei längerem Stehen oder beim Erwärmen auf 56°C .

Um den Einfluß des Komplementes auf die Bildung von Anaphylatoxin auszuschalten, verfuhr man nun derart, daß man das frische Normalmeerschweinchenserum inaktivierte, d. h. auf $56-58^{\circ}\text{C}$ erwärmte. Setzt man diese Prozedur hinreichend lange fort, etwa 1 Stunde, mindestens aber 30 Minuten, so ist in der Tat das, was wir als Komplement bezeichnen, nicht mehr nachweisbar; erhitzt man hingegen bloß 5—7 Minuten auf die genannte Temperatur, so scheint zwar unmittelbar danach das Komplement verschwunden, doch tritt nach der Abkühlung eine spontane Regeneration desselben ein resp. es findet eine Erneuerung seiner durch die Erwärmung geschwächten Eigenschaften statt (Gramenitzki). Ein derart regeneriertes Komplement wird dann erst sekundär durch längeres Stehen so wie natives Komplement inaktiviert. Daraus ergibt sich also die Konsequenz, daß das Erwärmen nur dann als sichere Methode der Komplementzerstörung gelten darf, wenn man es durch entsprechend lange Zeit einwirken läßt.

Dabei werden aber nicht nur die Komplementfunktionen alteriert. Ein solches Serum wirkt auf einen halben Kubikzentimeter stabilen Gansplasmas selbst in Mengen von 0,1—0,2 ccm erst nach 24 Stunden oder längerer Zeit koagulierend, sein Gehalt an Fibrinferment hat abgenommen, es vermag die pathogenen und gerinnungserregenden Eigenschaften wässriger Organextrakte nicht mehr antagonistisch zu beeinflussen; wichtiger noch ist die Tatsache, daß die Eiweißkörper des durch Erhitzen auf $57-58^{\circ}$ inaktivierten Serums Veränderungen erleiden, welche schon in seinem makroskopischen Aussehen und einer deutlich erhöhten Viskosität zum Ausdruck kommen. Es ist daher zu befürchten, daß man durch einen derartigen Eingriff zwar das Komplement eliminiert, gleichzeitig aber andere Stoffe des Normalmeerschweinchenserums vernichtet oder doch tiefgreifend modifiziert; bleibt dann die Giftbildung in vitro aus, so weiß man natürlich nicht, ob gerade das Fehlen des „Komplementes“ die Schuld trug.

Wir schlugen daher einen anderen Weg ein, indem wir durch längeres Stehen inaktivierte Sera, deren Komplementfreiheit durch den hämolytischen Versuch vorher erwiesen war, zur Darstellung akut tödlicher Gifte benutzten. Hierbei kam nicht die Technik von Friedberger zur Anwendung, sondern es wurden einfach unsere älteren Versuche über die Wirkung von Präzipitaten oder auspräzipitierten Serum-Antiserumgemischen fortgesetzt; eine bestimmte Quantität inaktiven heterologen Serums wurde unter Beobachtung aller Sterilitätskautele mit inaktivem Antiserum vom Kaninchen versetzt, 2 Stunden bei 37°C gehalten, wobei Ausflockung eintrat, hierauf weitere 24 Stunden im Eisschrank belassen und dann durch intravenöse Injektion an Meerschweinchen von 180—200 g die Pathogenität bestimmt. Wir injizierten entweder

das Präzipitat und die überstehende Flüssigkeit gesondert oder das gesamte Reaktionsgemisch auf einmal; alle verendeten Meerschweinchen kamen zur Obduktion, welche sich namentlich auf die Lungen, das Herz und seinen Inhalt, den Füllungszustand der Gefäße der Baucheingeweide erstreckte und durch eine histologische Untersuchung des Lungengewebes ergänzt wurde.

Als „Antigene“ und „Antikörper“ verwendeten wir hauptsächlich Pferdeserum und Antipferdeserum vom Kaninchen, um dem Einwand von vornherein zu begegnen, daß die Giftigkeit der injizierten Flüssigkeiten nur von der primären Toxizität der Komponenten (Biedl und Kraus) herrührt oder doch durch die primäre Giftigkeit des Antigens bedingt sei. Da aber Haendel, Friedberger und Ito, Friedberger auch Antipferdesera vom Kaninchen beschreiben, die an sich in größeren Dosen Meerschweinchen bei intravenöser Injektion akut töten, womit unsere eigenen, bisher noch nicht publizierten Erfahrungen übereinstimmen, so haben wir überdies jedesmal Serumantigen und Antiserum zur Sicherheit auf ihre primäre Pathogenität in Quantitäten geprüft, welche die im eigentlichen Experiment gebrauchten zum Teil noch überstiegen.

Versuche.

I.

(Hammelserum — Antihammelserum.)

Das Hammelserum war durch 14-tägiges Stehen inaktiviert.

Das Antiserum stammte von Kaninchen No. 402. Dasselbe erhielt am 9., 12., 15. und 18. VIII., ferner am 6. IX. je 1,0 Hammelserum intravenös. Am 15. IX. Probeaderlaß; Präzipitintiter 1:3200 + + +, 1:12 800 + +.

Giftversuch vom 28. IX. (14 Tage nach dem Aderlaß).

2,0 ccm Serum 402 + 0,2 ccm Hammelserum, 2 Stunden bei 37° C, sodann zentrifugiert und injiziert:

- a) Die überstehende Flüssigkeit (Meerschw. 5 iv.) Das Tier zeigt sofort Krämpfe, heftigste Dyspnoë, fällt um und verendet nach 5 Min. Die Lungen waren maximal gebläht, nicht ödematös, mikroskopisch von anaphylaktischen Lungen nicht zu unterscheiden (ohne Signatur einem Histologen zum Vergleiche vorgelegt). Im rechten Herzen fanden sich Thromben; der Rest des Blutes war und blieb ungeronnen. (2 Stunden im Reagenzglas beobachtet.)
- β) Das Präzipitat bekam Meerschw. 6 intravenös. Es zeigte sofort schwere Symptome, fiel um, lag längere Zeit mit schnappender Atmung agonal da, erholte sich aber nach 15 Min. und überlebte.
- | | | | |
|-------------|--------------|-------------------------|---|
| Kontrollen. | Meerschw. 7, | 2,0 ccm Hammelserum iv. | θ |
| | „ 8, | 1,0 „ | θ |
| | „ 9, | 2,0 „ Serum 402 | θ |
| | „ 10, | 1,0 „ | θ |

II.

(Pferdeserum — Antipferdeserum. Einfluß des gegenseitigen Mengenverhältnisses der beiden Komponenten.)

Das Pferdeserum stand durch 3 Wochen im Institut.

Das Antiserum stammte von Kaninchen No. 346. Dieses wurde am 1., 4. und 7. X. mit je 2,0 Normalpferdeserum iv. immunisiert. Am 14. X. Probeaderlaß: Präzipitintiter 1:400 + + +, 1:1600 Trübung.

Giftversuch vom 27. 10. 10.

A. 3,5 ccm Serum 346 + 0,6 ccm Pferdeserum, 3 Stunden bei 37° C, dann 20 Stunden Eisschrank, zentrifugiert.

- a) Ueberstehende Flüssigkeit Meerschw. 13 iv. Sofort schwerste Symptome, erholt sich jedoch, überlebt.
- β) Präzipitat Meerschw. 12 iv. Sofort schwerste Symptome, verendet in 8 Min. Lungen maximal gebläht, blaß, nicht ödematös, mikroskopisch typisch anaphylaktisch. Blut im Herzen vollständig ungeronnen, koaguliert in vitro erst nach geraumer Zeit.

- B. 3,0 Serum 346 + 0,6 Pferdeserum, sonst wie A.
 a) Ueberstehende Flüssigkeit, Meerschw. 17, iv. \emptyset .
 β) Präzipitat Meerschw. 16, iv., schwerste Krämpfe, fällt um, liegt eine Zeit mit heftigster Dyspnoë da, setzt sich dann wieder auf, geht aber doch nach 20 Min. ein. Obduktion negativ bis auf die herabgesetzte Gerinnbarkeit des Blutes.
- C. 2,0 Serum 346 + 0,4 Pferdeserum, sonst wie A.
 a) Ueberstehende Flüssigkeit, Meerschw. 18, iv. \emptyset .
 β) Präzipitat Meerschw. 19, iv., leichte, protrahierte Symptome, Paresen, Somnolenz, überlebt.
- Kontrollen: Meerschw. 20, 3,5 ccm Serum 346 iv. \emptyset .
 „ 21, 3,0 „ „ 346 „ \emptyset .

III.

(Pferdeserum — Pferdeantiserum).

- Pferdeserum 10 Tage alt.
 Antiserum von Kan. 26. (Am 25., 28. X. und 2. XI. je 2,0, am 30. XI. 1,0 Pferdeserum iv. — Am 6. XII. Probeaderlaß: Präzipitin Titer 1:4000 +++ , 1:8000 +.)
 Giftversuch vom 9. XII.
- A. 2,0 Serum 26 + 0,2 Pferdeserum, 1 Std. bei 37° C, dann 20 Std. bei Zimmertemperatur, zentrifugiert:
 a) Meerschw. 30, überstehende Flüssigkeit, iv., zeigt nicht die geringsten Symptome.
 β) Meerschw. 31, Präzipitat iv., verendet nach 2 Min. Symptome, Lungen- und Blutbefund typisch anaphylaktisch.
- B. 2,0 Serum 26 + 0,1 Pferdeserum, sonst wie A.
 a) Ueberstehende Flüssigkeit — nicht geprüft.
 β) Präzipitat Meerschw. 32, iv., schwere Symptome, fällt um, geht aber erst nach 5 Std. ein.
- Kontrollen: Meerschw. 33, 4,0 ccm Serum 26 iv. \emptyset .
 „ 34, 2,2 „ „ 26 „ \emptyset .

IV.

(Pferdeserum — Antipferdeserum. Vergleich mit der Technik von Friedberger.)

- Antiserum von Kan. 410. (Am 26. VIII. und 1. IX je 2,0 ccm Pferdeserum, am 16. IX. 1,0 ccm iv.) Aderlaß am 22. IX.; Präzipitintiter 1:2000 +++.
 Giftversuch vom 30. IX. 11.
- A. 2,0 Serum 410 + 0,2 Pferdeserum + 1,0 NaCl, 3 Std. bei 37° C, 18 Std. im Eisschrank.
 Das gesamte Gemisch erhält Meerschw. 40 iv., † in 3 Min., typischer Befund an den Lungen, Blut im Herzen ungeronnen.
- B. 1,0 Serum 410 + 0,1 Pferdeserum + 1,0 NaCl, sonst wie A.
 Das gesamte Gemisch erhält Meerschw. 41 iv., verendet in 3 Min., typischer Lungenbefund, Lungen blaß, maximal gebläht, nicht ödematös, Blut im Herzen schwer gerinnbar.
- C. 2,0 Serum 410 + 0,2 Pferdeserum, ganz wie A, nur bleibt das Gemisch 5 Std. bei 37° C, dann 18 Std. im Eisschrank, wird sodann in toto injiziert.
 Meerschw. 42, iv., erst nach 1 Std. leichte Symptome, somnolent, verendet in 3 Std.: Lungen gebläht, weiß, mit zahlreichen subserösen Petechien, Blut im Herzen ungerinnbar.
- D. 2,0 Serum 410 + 0,2 Pferdeserum, 2 Std. bei 37° C, sodann wird zentrifugiert.
 a) Die überstehende Flüssigkeit erhält Meerschw. 43, iv., nach 10 Std. somnolent, geht nach 3 Std. ein.
 β) Das Präzipitat wird mit 4,0 ccm frischem Normalmeerschweinchenserum 3 Std. bei 37° C, dann 18 Std. im Eisschrank digeriert, den Abguß (Anaphylatoxin nach Friedberger) erhält Meerschw. 44, iv., nur wenig somnolent, geht in der folgenden Nacht ein.
 γ) Das nach β) übrig gebliebene Präzipitat erhält Meerschw. 45, iv., nach 10 Min. somnolent, † in 3 Std.
- E. 1,0 ccm Serum 410 + 0,1 Pferdeserum + 1,0 NaCl (vgl. B.), 2 Std. bei 37° C, sodann zentrifugiert.
 a) Die überstehende Flüssigkeit Meerschw. 46, iv. \emptyset .
 β) Das Präzipitat mit 4,0 ccm frischem Normalmeerschweinchenserum 3 Std.

- bei 37° C, 18 Std. Eisschrank, dann zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit (Anaphylatoxin nach Friedberger) erhält
 Meerschw. 47, iv., fast symptomlos, überlebt.
 γ) Das nach β) übrig gebliebene Präzipitat
 Meerschw. 48, iv., verendet innerhalb 24 Std.

V.

(Pferdeserum — Pferdeantiserum, Einfluß der Menge des Antiserums bei konstantem Antigen.)

- Dasselbe Antiserum No. 410 wie sub IV.
 Giftversuch vom 2. X. (10 Tage nach dem Aderlaß.)
 A. 0,1 ccm Pferdeserum + 2,0 Serum 410 + 0,9 NaCl, 2 Std. bei 37° C, dann 16 Std. Zimmertemperatur, das gesamte Gemisch
 Meerschw. 49, iv. † nach 1 Std.
 B. 0,1 ccm Pferdeserum + 1,5 Serum 410 + 1,4 NaCl, sonst wie A, Meerschw. 50, iv. † nach 1 Std.
 C. 0,1 ccm Pferdeserum + 1,0 Serum 410 + 1,9 NaCl, sonst wie A, Meerschw. 51, iv. † nach 1 Min., maximale Lungenblähung; keine Oedeme, Pleura von einzelnen Petechien besetzt.
 D. 0,1 ccm Pferdeserum + 0,8 Serum 410 + 2,1 NaCl, sonst wie A, Meerschw. 52, iv. † innerhalb 24 Std.
 E. 0,1 ccm Pferdeserum + 0,6 Serum 410 + 2,3 NaCl, sonst wie A, Meerschw. 53, iv. † nach 26 Std.
 F. 0,1 ccm Pferdeserum + 0,4 Serum 410 + 2,5 NaCl, sonst wie A, Meerschw. 54, iv. † innerhalb von 24 Std.

VI.

Pferdeserum — Pferdeantiserum.

In dieser Versuchsreihe kam stets dasselbe Pferdeserum, dagegen sechs verschiedene Pferdeantisera von Kan. No. 1 bis 6 zur Verwendung. Diese Antisera waren verschiedene Zeiten im Laboratorium gestanden, und ihre komplementäre Wirkung zum Teil völlig, zum Teil partiell oder fast gar nicht geschwunden. Dies geht aus folgenden Bestimmungen hervor, bei denen der Komplementgehalt des Antigens (Pferdeserum) sowie der Pferdeantisera 1—6 in der Weise bestimmt wurde, daß zur 4-fach lösenden Dosis Hammelambozeptor + 0,1 ccm konzentrierte Hammelerythrocytensuspension fallende Dosen zugesetzt und der lytische Effekt nach 2 Std. Aufenthalt im Thermostaten abgelesen wurde.

Komplementgehalt des Pferdeserum-Antigens.

| | |
|-----|------------------|
| 1,0 | } keine Hämolyse |
| 0,5 | |
| 0,3 | |
| 0,2 | |
| 0,1 | |

Komplementgehalt der Pferdeantisera 1—6.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----|-------|-------|----------|------|-------|------|
| 1,0 | k. H. | — | — | +++ | — | +++ |
| 0,5 | „ | k. H. | part. H. | ++ | k. H. | +++ |
| 0,4 | „ | — | — | — | — | — |
| 0,3 | „ | k. H. | k. H. | + | k. H. | ++ |
| 0,2 | „ | „ | „ | Spur | „ | — |
| 0,1 | „ | „ | „ | „ | „ | Spur |

Das Pferdeserum und die Antisera 1,2 und 5 waren komplementfrei; 3 enthielt geringe, 4 und 6 ansehnliche Komplementmengen. Die wirksamsten Gifte lieferte jedoch das Antiserum 1, die schwächsten 4.

Giftversuch vom 7. X. 11.

- A. α) 2,0 ccm Serum 1 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl, 2 Std. bei 37° C, dann 18 Std. Eisschrank, welche Zeiten auch bei allen folgenden Kombinationen eingehalten wurden; das gesamte Gemisch intravenös injiziert:
 Meerschw. 70. † in 1 Min., maximale Lungenblähung, Lungen blaß, nicht ödematös, Blut im Herzen flüssig, schwer gerinnbar.
 β) 1,5 ccm Serum 1 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
 Meerschw. 71. † in 2 Min., Obduktionsbefund wie bei Meerschw. 70.
 γ) 1,0 ccm Serum 1 + 0,1 Pferdeserum + 1,9 NaCl,
 Meerschw. 72 sofort schwerste Symptome, Krämpfe, verendet nach 1 Std.

- δ) 0,8 ccm Serum 1 + 0,1 Pferdeserum + 2,1 NaCl,
 Meersch. 73, iv. † in 2 Min., Obduktionsbefund wie bei Meersch. 70.
- ε) 0,6 ccm Serum 1 + 0,1 Pferdeserum + 2,3 NaCl,
 Meersch. 74, iv., sofort schwerste Symptome, Krämpfe, fällt um, verendet
 nach 80 Min.
- B. α) 2,0 ccm Serum 2 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl,
 Meersch. 75, iv., verendet in 70 Min., nach 8 Min. somnolent, fällt um.
- β) 1,5 ccm Serum 2 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
 Meersch. 76, iv., verendet in 138 Min.; fällt nach 9 Min. um, bekommt nach
 13 Min. starke Krämpfe, und bleibt mit relativ ruhiger Atmung mit
 gestreckten Beinen bis zum Exitus am Bauche liegen.
- γ) 1,0 ccm Serum 2 + 0,1 Pferdeserum + 1,9 NaCl,
 Meersch. 77, iv. † in 145 Min., nach 9 Min. somnolent, fällt nach 10 Min.
 um, Krämpfe.
- δ) 0,6 ccm Serum 2 + 0,1 Pferdeserum + 2,3 NaCl,
 Meersch. 78, iv. † in 183 Min.
- C. α) 2,0 ccm Serum 3 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl,
 Meersch. 79, iv. † in 162 Min., bietet bloß Erscheinungen von Somnolenz.
- β) 1,5 ccm Serum 3 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
 Meersch. 80, iv. † in 95 Min.; fällt nach 8 Min. um, Krämpfe, setzt sich
 nach 10 Min. wieder auf.
- γ) 0,8 ccm Serum 3 + 0,1 Pferdeserum + 2,1 NaCl,
 Meersch. 81, iv. Fast †, überlebt.
- D. α) 2,0 ccm Serum 4 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl,
 Meersch. 82, iv. † in 3 Std., nach 9 Min. schwere Symptome, Krämpfe, fällt um.
- β) 1,5 ccm Serum 5 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
 Meersch. 83, iv. † in 4 Std., zeigte nach 15 Min. schwere Symptome, fiel um
- E. α) 2,0 ccm Serum 5 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl,
 Meersch. 84, iv. † nach 1 Std., zeigt nach 5 Min. schwerste Symptome,
 Krämpfe, fiel um, intensive Dyspnoe.
- β) 1,5 ccm Serum 5 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
 Meersch. 85, iv. † nach 1 Std., nach 7 Min. schwere Symptome, Krämpfe,
 fällt um.
- γ) 1,0 ccm Serum 5 + 0,1 Pferdeserum + 1,9 NaCl,
 Meersch. 86, iv. † nach 2 Std.
- δ) 0,6 ccm Serum 5 + 0,1 Pferdeserum + 2,3 NaCl,
 Meersch. 87, iv. † nach 3 Std.
- F. α) 2,0 ccm Serum 6 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl,
 Meersch. 88, iv. Somnolent, überlebt.
- β) 1,5 ccm Serum 6 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
 Meersch. 89, iv. Ueberlebt.
- Kontrollen: Je 2,0 ccm der Sera 1—6 hatten bei den Meerschweinchen 90—95
 keinerlei Erscheinungen zur Folge.

VII.

(Pferdeserum—Pferdeantiserum.)

- Antiserum von Kaninchen 91 (am 26. Aug. 2,0 ccm, am 15. Sept. 1,0 ccm, am
 25. Sept. 4,0 ccm Pferdeserum intravenös). Aderlaß am 3. Okt. 1911.
- Giftversuch am 9. Okt. (6 Tage nach dem Aderlaß).
- α) 2,0 ccm Serum 91 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl, 2 Std. bei 37° C,
 18 Std. im Eisschrank, das gesamte Gemisch injiziert:
- Meersch. 97, iv. Sofort schwerste Symptome, Dyspnoe, fällt um, erholt sich aber
 und geht erst in der folgenden Nacht ein.
- β) 1,5 ccm Serum 91 + 0,1 ccm Pferdeserum + 1,4 NaCl, wie α).
- Meersch. 98, iv. † in 3 Min., typisch anaphylaktischer Befund.
- γ) 1,0 ccm Serum 91 + 0,1 Pferdeserum + 1,9 NaCl.
- Meersch. 99, iv. Keinerlei Erscheinungen.

VIII.

(Pferdeserum—Pferdeantiserum.)

- Antiserum von Kaninchen 103 gleich behandelt wie Kaninchen 91, s. Versuch VII.
 Aderlaß am 3. Okt. 1911.
- Giftversuch am 9. Okt.:
- α) 2,0 ccm Serum 103 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl, sonst alles wie bei
 Versuch VII.
- Meersch. 100, iv. † in 3 Min., maximaler Auer-Lewis, Blut im Herzen und
 in den Gefäßen ungerinnbar.

- β) 1,5 ccm Serum 103 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl,
Meerschw. 101, iv. † nach 5 Min., Befund wie bei 100.
γ) 1,0 ccm Serum 103 + 0,1 Pferdeserum + 1,9 NaCl,
Meerschw. 102, iv. Keinerlei Erscheinungen.
Kontrolle: Meerschw. 103 2,0 ccm Serum 103 iv. θ.

IX.

(Pferdeserum—Pferdeantiserum.)

Antiserum von Kaninchen 105 gleich immunisiert wie 91 und 103 in den Versuchen VII und VIII. Aderlaß am 3. Okt. 1911.

Giftversuch am 20. Okt.

a) 2,0 ccm Serum 105 + 0,1 Pferdeserum + 0,9 NaCl, 2 Std. bei 37° C, 18 Std. im Eisschrank:

Meerschw. 104, iv. † in 2 Min., typischer Obduktionsbefund.

β) 1,5 ccm Serum 105 + 0,1 Pferdeserum + 1,4 NaCl, sonst wie a).
Meerschw. 105, iv. Keinerlei Erscheinungen.

X.

(Pferdeserum—Pferdeantiserum.)

Antiserum von Kaninchen 497.

Immunisierungstabelle dieses Kaninchens:

| | | | |
|---------------|-----|-------------|-----|
| 22. Okt. 1911 | 2,0 | Pferdeserum | iv. |
| 25. " " | 2,0 | " " | " " |
| 13. Nov. " " | 1,0 | " " | " " |
| 26. " " | 1,0 | " " | " " |
| 16. Dez. " " | 2,0 | " " | " " |
| 22. " " | | Aderlaß | " " |

(Präzipitintiter 1:4000 ++, 1:8000 ++)

Giftversuch am 30. Dez.

3,0 ccm Serum 497 + 0,1 Pferdeserum (bei 56° C $\frac{1}{2}$ Stunde inaktiviert), 24 Std. bei Zimmertemperatur, zentrifugiert:

a) Ueberstehende Flüssigkeit Meerschw. 106, iv.: θ, überlebt.

β) Präzipitat. Meerschw. 107, iv. † in 2 Min., maximale Lungenblähung, Blut im Herzen ungeronnen, bleibt auch in vitro durch 30 Min. unkoaguliert.

Kontrolle: Meerschw. 108 3,0 ccm Serum 497 iv. θ.

Meerschw. 109 2,4 ccm Serum 497 iv. θ.

XI.

(Pferdeserum—Pferdeantiserum.)

Einfluß von NaOH auf die Giftigkeit der Präzipitate.

Antiserum von Kaninchen 441.

Immunisierungstabelle:

| | | | |
|----------|------|-------------|--------|
| 1. Nov. | 2,0 | Pferdeserum | iv. |
| 6. " " | 2,0 | " " | " " |
| 17. " " | 0,5 | " " | " " |
| 11. Dez. | 50,0 | " " | per os |
| 18. " " | 2,0 | " " | iv. |
| 2. Jan. | 1,0 | " " | " " |
| 23. " " | 2,0 | " " | " " |
| 29. " " | | Aderlaß | " " |

Präzipitintiter: 1:800 + + +, 1:1600 + +, 1:3200 θ.

Giftversuch am 5. Febr. 1912 (7 Tage nach dem Aderlaß).

A. 2,0 ccm Serum 441 + 0,1 Pferdeserum + 3,0 NaCl, 2 Std. bei 37° C, dann 12 Std. im Eisschrank, zentrifugiert:

a) Meerschw. 110. Ueberstehende Flüssigkeit iv. Dyspnoe, somnolent, überlebt.

β) Meerschw. 111. Präzipitat iv. Sofort schwerste Symptome, Krämpfe, agonal, setzt sich aber wieder auf und erholt sich völlig.

B. Dieselbe Versuchsanordnung.

a) Meerschw. 112. Ueberstehende Flüssigkeit nach dem Zufügen von 0,1 Normal-NaOH: Zeigt keinerlei Erscheinungen.

β) Meerschw. 113. Präzipitat in 0,1 Normal-NaOH gelöst und auf 2,5 NaCl aufgefüllt: Keinerlei Erscheinungen.

C. 2,0 ccm Serum 441 + 0,3 Pferdeserum + 2,8 NaCl, zeigte viel schwächere Präzipitation als A, wurde sonst ganz gleich behandelt:

a) Ueberstehende Flüssigkeit dem Meerschw. 114 iv. † in 3 Min., maximale Lungenblähung, kein Lungenödem, völlige Thrombose des rechten Herzens.

β) Meerschw. 115 erhält das Präzipitat: Fast \emptyset , überlebt.

D. Dieselbe Versuchsanordnung.

a) Meerschw. 116. Ueberstehende Flüssigkeit iv.: \emptyset , überlebt.

β) Meerschw. 117. Präzipitat in 2,5 NaCl gelöst mit 0,1 Normalnatronlauge: \emptyset , überlebt.

Kontrollen: Meerschw. 118 3,0 ccm Serum 441 iv. \emptyset .

Meerschw. 119 2,4 ccm Serum 441 iv. \emptyset .

Meerschw. 120 1,0 ccm Serum 441 iv. \emptyset .

Ueberblicken wir die in diesen Experimenten erzielten Resultate, so können wir konstatieren, daß es in 16 Fällen gelang, aus primär ungiftigen Eiweißantigenen und atoxischen Antisera — also den in anaphylaktischen Versuchen wirksamen Faktoren — Substrate herzustellen, welche, intravenös injiziert, Meerschweinchen akut töteten, wobei die Symptome und der Obduktionsbefund der verendeten Tiere völlig den Beobachtungen entsprechen, die man bisher bei wahrer Anaphylaxie beschrieben hat. Der Uebersicht halber seien die akuten Tode aus den vorausgehenden Protokollen zusammengestellt:

| | | |
|---------|--------------|--------------|
| Versuch | I: Meerschw. | 5 |
| " | II: | " 12, 16 |
| " | III: | " 31 |
| " | IV: | " 40, 41 |
| " | V: | " 51 |
| " | VI: | " 70, 71, 73 |
| " | VII: | " 98 |
| " | VIII: | " 100, 101 |
| " | IX: | " 104 |
| " | X: | " 107 |
| " | XI: | " 114 |

Dabei hatte das Komplement nicht interveniert, zum mindesten ließ es sich in den verwendeten Reagentien durch den hämolytischen Versuch nicht nachweisen. Nun ist allerdings bekannt, daß die Hämolyse in vitro bei geringen Komplementmengen ausbleiben kann, wenn das Reaktionsgemisch hemmende Stoffe enthält. Es wäre also immerhin möglich, daß die zur vitro-Darstellung der pathogenen Substrate benutzten Pferdesera oder Antipferdesera vom Kaninchen zwar Komplementspuren enthielten, daß dieselben aber durch eine eventuell vorhandene „Eigenhemmung“ verdeckt wurden; wahrscheinlich ist das bei der teilweise beträchtlichen Konservierungsdauer der Sera nicht. Auch könnte es sich eben nur um verschwindende Komplementmengen gehandelt haben, während Friedberger angibt, daß bei seiner Methode der Anaphylatoxingewinnung die Wirksamkeit der entstehenden Gifte dem in Reaktion gebrachten Quantum Komplement, d. h. dem Volum des frischen Normalmeerschweinchenserums gerade proportional war, und daß es bei einer Reduktion dieses Faktors unter eine bestimmte Grenze (mehrere Kubikzentimeter) überhaupt nicht glückte, akut tötende Abgüsse zu erhalten. Ferner ist aus dem Versuch VI zu entnehmen, daß gerade jene Kombinationen uns intensive Gifte lieferten, in denen das Komplement fehlte (Meerschweinchen 70, 71 und 73), während andere, wo die Mitwirkung von Komplement nicht ausgeschlossen war, geringere Effekte entfalteten (siehe die Meerschweinchen 79, 80, 81—84, 85, 86, 87—88, 89).

Die Mengenverhältnisse von Antigen und Antiserum waren in doppelter Hinsicht von Bedeutung. Einmal beeinflussten sie die Bildung der Gifte in vitro überhaupt (Versuch II, III, V, VI, VII, VIII, IX, XI), indem die letztere sowohl bei konstantem Volum Antiserum nach der

Antigenmenge, als auch bei konstantem Antigenquantum je nach der Dosis Antiserum variierte; andererseits bestimmten sie auch, ob sich in einem speziellen Falle das Präzipitat oder die überstehende Flüssigkeit als toxisch erwies (vgl. die Versuche I, II, und besonders in Versuch XI, A und C).

Wie eingangs hervorgehoben, konnten wir selbst in unseren früheren, übrigens sehr spärlichen Experimenten, ebenso wie Doerr und Moldovan, Biedl und Kraus, Friedberger und Vallardi bei der Nachprüfung unserer Angaben mit Präzipitaten und präzipitierten Gemischen von Eiweißantigen und Antiserum nur schwache, protrahierte Symptome hervorrufen, der Exitus trat erst nach Stunden ein. Damit stehen die hier berichteten Vollwirkungen in Widerspruch; es ist aber zu berücksichtigen, daß wir ursprünglich die Präzipitate oder die Reaktionsgemenge bald nach eingetretener Flockung injizierten, also oft wenige Minuten, nachdem Antigen und Antiserum in Kontakt gebracht waren, während wir bei den vorliegenden Untersuchungen beide Komponenten durch geraume Zeit bei 37° C und dann im Eisschrank, insgesamt etwa 24 Stunden aufeinander einwirken ließen. Ferner wurden auch größere Mengen von Antiserum verwendet (oft 3 ccm); das ist von Wichtigkeit, wenn man bedenkt, daß Friedberger zur Darstellung seiner vitro-Gifte stets erhebliche Quanten von frischem Normalmeerschweinchenserum benötigte. Friedberger legt zwar das Hauptgewicht auf das in denselben vorhandene Komplement; es ist aber nach den Vorstellungen, welchen Ritz und Sachs, Weil, Doerr (Wien. klin. Wochenschr. 1912), Bauer (Berl. klin. Wochenschr. 1912) über die Bildung der Friedbergerschen Gifte entwickelt haben, nicht unwahrscheinlich, daß nicht das Komplement, sondern die größere Menge Serum das Wesentliche war, und unsere Resultate dürften geeignet sein, diese Auffassung zu stützen.

Ritz und Sachs, Weil, Doerr, Bauer erklären die Entstehung der „Anaphylatoxine“ von Friedberger bekanntlich derart, daß das frische Normalmeerschweinchenserum giftig für Meerschweinchen wird, wenn man ihm durch den Kontakt mit sensibilisierten Erythrocyten koaguliertem Eiereiweiß, Bakterien, Präzipitaten, Kaolin, Kieselgur (Doerr und R. Pick) gewisse Stoffe auf dem Wege der Adsorption entzieht. Aus den hier mitgeteilten Ergebnissen würde weiter hervorgehen, daß dies auch dann geschieht, wenn das Serum artfremd und nicht frisch, d. h. nicht mehr komplementhaltig ist. Je nach dem Verhältnis von Antigen und Präzipitin bleibt die Noxe entweder in Lösung oder findet sich im Niederschlag.

Zusammenfassung.

1) Es gelingt, aus den Komponenten anaphylaktischer Versuche, aus Eiweißantigen und Antiserum, in vitro akut tötende Gifte für Meerschweinchen zu gewinnen.

2) Ein Einfluß des Komplementes auf diesen Vorgang war nicht zu konstatieren.

3) Die Giftwirkung adhärte entweder den Präzipitaten oder den überstehenden Flüssigkeiten. Hierauf, sowie auf die Giftbildung überhaupt, übte das Mengenverhältnis von Antigen und Antiserum einen entscheidenden Einfluß.

4) Die Giftwirkung war nicht auf die primäre Toxizität der verwendeten Eiweißantigene oder Antisera zu beziehen.

5) Die Symptome und der Obduktionsbefund waren dieselben wie bei der Anaphylaxie.

6) Die Giftwirkung von Präzipitaten oder überstehenden Flüssigkeiten konnte durch Zusatz minimaler Mengen von Natronlauge aufgehoben werden.

Nachdruck verboten.

Zur Bakteriologie der bacillären Dysenterie.

[Aus dem Bakteriolog. Institut an der Kaiserlichen Universität Tomsk.]

Von Priv.-Doz. Dr. P. Butjagin.

Im Laufe der letzten Jahre hat die Zahl der Dysenteriefälle in Tomsk auffallend zugenommen. Früher wurden im Mittel jährlich gegen 300 Erkrankungen bei einer 100 000 übersteigenden Einwohnerzahl der Stadt beobachtet, im Jahre 1906 erreichte die Zahl der Erkrankungen 1000 und in den Jahren 1908 und 1909 überstieg sie schon die Ziffer 2000. Vom Standpunkt der Aetiologie wurde die Dysenterie in Tomsk bis jetzt nicht systematisch studiert, mit Ausnahme eines in der Literatur erwähnten Dysenteriefalles, der im Jahre 1907 von Werschinin und Lomowizki beobachtet wurde. Bei einem Patienten mit in erster Zeit undeutlicher Erkrankung schieden die Autoren einen Mikroorganismus aus, welcher in seinen Eigenschaften anfangs dem *Bac. dysenteriae* Shiga wenig ähnlich war, aber bei späteren Umimpfungen alle Eigenschaften des genannten Bacillus erwarb, inklusive der Fähigkeit der Agglutination durch ein spezifisches Serum.

Dieser, wie es scheint, einzige in bakteriologischer Hinsicht untersuchte Fall von Dysenterie in Tomsk kann, obgleich er für die Möglichkeit des Vorkommens von *Bacillus Shiga* bei uns spricht, dennoch nicht zur Aufklärung der Aetiologie der epidemischen Dysenterieerkrankungen dienen, welche gewöhnlich in Tomsk im Laufe der Sommermonate beobachtet werden; der Werschinin- und Lomowizkische Fall wurde im November 1907 beobachtet, als die Dysenterieepidemie in der Stadt schon als beendet angesehen werden konnte.

Von dem Wunsche ausgehend, den Dysenterieerreger in Tomsk gerade während der sommerlichen Epidemie genauer zu erforschen und die Ergebnisse zu einer Immunisierung von Pferden zwecks Gewinnung eines Heilserums anzuwenden, stellte ich im Sommer 1908 systematische Untersuchungen der Faeces von Dysenteriekranken an, um den Krankheitserreger auszuschleiden.

Untersuchungen dieser Art schienen mir besonders wichtig und notwendig wegen der um diese Zeit erhaltenen ungünstigen Resultate bei der Behandlung von Patienten mit Antidysenterieserum, das bei der Immunisierung eines Pferdes mit einer von Král in Prag erhaltenen Kultur des *Bac. Shiga* gewonnen wurde.

Wegen dieser ungünstigen Resultate schien es mir, daß die Immunisierung eines Pferdes ein wirksames Heilserum liefern könnte, wenn zu diesem Zweck ein Mikroorganismus verwandt würde, der hiesigen Patienten entnommen, sich den hiesigen Verhältnissen angepaßt und da-

durch vielleicht irgendwelche andere Eigenschaften erworben hat. Meine Erwartungen wurden tatsächlich in einem gewissen Grade bestätigt. Der von mir von hiesigen Patienten erhaltene Mikroorganismus hatte gewisse andere Eigenschaften, als der typische *Bac. dysenteriae* Shiga und, was besonders wichtig, mit diesem Mikroorganismus erhielt ich ein merklich befriedigenderes Heilserum als früher mit der Kultur des *Bac. Shiga* aus Prag.

Die Immunisierung des Pferdes geschah anfänglich mit einer abgetöteten Kultur des *Bac. Shiga* von Král aus Prag, darauf mit Dysenterietoxin und endlich mit einer lebenden Kultur.

Das von dem Pferde erhaltene Serum wurde im Jahre 1908 mehrfach von verschiedenen Aerzten bei der Behandlung von Patienten in verschiedenen Entwicklungsstadien der Krankheit angewandt.

Nach den übereinstimmenden Urteilen sämtlicher Aerzte, welche dieses Serum in Tomsk anwandten, war der Heileffekt bloß in seltenen Fällen gering, in der Mehrzahl der Fälle war er aber gleich Null. Es ist interessant, dabei zu vermerken, daß um dieselbe Zeit Antidysenteriesera anderer Provenienz, in St. Petersburg, Moskau, Charkow bereitet, nicht im geringsten Grade besser, sondern ebenso schlecht wirkten.

Somit mußte eingestanden werden, daß Serumbehandlungen der Dysenterie in Tomsk während der Sommerepidemie des Jahres 1908 bloß negative Resultate ergaben, ungeachtet der Anwendung von Serum aus verschiedenen Laboratorien.

Aus den angeführten Resultaten folgte natürlicherweise die Voraussetzung, daß der von mir zwecks Gewinnung eines Heilserums bei der Immunisierung des Pferdes angewandte Mikroorganismus nicht vollkommen identisch sei mit dem Erreger der bakteriellen Dysenterie in Tomsk. Dieser Mikroorganismus und unser Heilserum waren somit wahrscheinlich nicht homolog. Nur durch diesen Umstand konnte meiner Ansicht nach der vollkommen negative Wirkungseffekt unseres Serums erklärt werden, da die Serumbehandlung der Dysenterie nach den übereinstimmenden Urteilen vieler Autoren, wenn auch nicht immer glänzende, so doch jedenfalls mehr oder weniger positive Resultate geben muß.

Folgendes Faktum scheint mir auch einen indirekten Beweis für die Richtigkeit der geäußerten Behauptung zu liefern, daß das von mir im Jahre 1908 bereitete Serum und der Erreger der Dysenterie in Tomsk nicht homolog sind.

Das Antidysenterieserum meiner Zubereitung, welches bei der Anwendung in Tomsk während der Epidemie des Jahres 1908 keine Heilwirkung äußerte, wurde ganz anders in einem Kirchdorfe (Kolpaschewo — 300 Werst von Tomsk) beurteilt. Hier waren die Resultate der Dysenteriebehandlung mit Tomsker Heilserum sehr befriedigend.

Diesen Umstand sowie die negativen Resultate der Dysenteriebehandlung in Tomsk mit Heilserum während des Sommes 1908 kann ich mir nur dadurch erklären, daß die Erreger der Dysenterie in Kolpaschewo und Tomsk um diese Zeit verschiedene waren. Als derartigen Krankheitserreger in Kolpaschewo muß man offenbar den Mikroorganismus ansehen, mit dessen Hilfe unser Heilserum bereitet wurde, d. h. den *Bac. Shiga*, für Tomsk aber konnte diese Frage nicht als in demselben Sinne gelöst betrachtet werden.

Von derartigen Erwägungen ausgehend, begann ich im Sommer 1908, den Tomsker Dysenterieerreger auszuschneiden, zu welchem Zweck ich das Material von Patienten hauptsächlich des städtischen Hospitals für

ansteckende Krankheiten, sowie aus der Privatpraxis städtischer Aerzte benutzte.

Zur Aussaat der Faeces diente Conradi-Drigalskis Agar; die emporwachsenden, verdächtigen, bläulichen Kolonien wurden nach mikroskopischer Untersuchung der innerhalb dieser gewachsenen Bakterien durch einen tiefen Stich in Zuckeragar geimpft, und der weiteren Untersuchung zwecks Diagnostizierung der ausgeschiedenen Mikroorganismen unterlagen nur diejenigen von ihnen, welche auf Zuckeragar ohne Ausscheidung von Gasblasen wuchsen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung stellte der von mir ausgeschiedene Mikroorganismus ein gerades, kurzes Stäbchen dar, dem Aeußeren nach dem *Bac. coli* ähnlich, mit abgerundeten Enden; die Länge desselben übertrifft die Breite 2—4mal; zuweilen traf ich auch längere Formen an. Der Mikroorganismus läßt sich relativ leicht mit einfachen Anilinfarben tingieren, färbt sich aber nicht nach Gram, bildet keine Sporen und besitzt kein aktives Bewegungsvermögen. Das Stäbchen wächst auf allen gewöhnlichen Nährmedien des Laboratoriums unter Bedingung der Aërobiose; bei Abwesenheit von Sauerstoff wird nur geringes Wachstum beobachtet; das Optimum der Temperatur ist 36° C.

Die Kulturen des ausgeschiedenen Mikroorganismus in Gelatine und auf Agar (Platten- und Stichkulturen) weisen keinerlei beständige charakteristische Eigentümlichkeiten im Vergleich mit analogen Kulturen des *Bac. typhi* oder *Bac. coli comm.* auf. Bei Wachstum in Bouillon beobachtet man gleichmäßige Trübung des Mediums mit Bildung eines geringen, flockigen Niederschlags; auf Kartoffeln ist der Wuchs wenig bemerkbar, obgleich bisweilen hier eine schwache, bräunliche Färbung der Kultur erhalten wurde. Milch koaguliert nicht (nach 14-tägigem Wachstum); frische und alte Kulturen in Bouillon und in Peptonwasser gaben bei Untersuchung auf Indol ein negatives Resultat.

Beim Studium des Verhaltens des ausgeschiedenen Mikroorganismus zu verschiedenen Kohlenhydraten ergaben sich folgende Resultate: In Lösungen von Mannit, Dextrin, Maltose, Saccharose, Laktose, Inulin wurde keine Zersetzung beobachtet, letztere kam aber in Lösungen von Traubenzucker und Galaktose zustande.

Die Pathogenität des Mikroorganismus wurde an Kaninchen untersucht; nach subkutaner Injektion von $\frac{1}{20}$ einer eintägigen Agarkultur verwendete ein Kaninchen mittleren Gewichts nach 60 Stunden.

Die Agglutinationsreaktion wurde an Serum geprüft, welches mit Hilfe des *Bac. Shiga* erhalten war und den Titer 1:800 hatte. Ein positives Resultat der Reaktion wurde nach 24 Stunden bei einer Verdünnung von 1:200 erhalten.

Somit kann auf Grund der angeführten Angaben, welche die Eigenschaften des von mir ausgeschiedenen Mikroorganismus charakterisieren, angenommen werden, daß als Erreger in den untersuchten Dysenteriefällen in Tomsk ein Mikroorganismus mit den Eigenschaften des *Bac. Shiga* erscheint, und zwar ein origineller Typus dieses Bacillus, wenn wir uns an die Klassifikationen von Hiss resp. Shiga selbst halten wollen, welche auf den Zersetzungen von verschiedenen Kohlehydraten beruhen. — Diesen Mikroorganismus beschloß ich zur Immunisierung eines Pferdes zum Zweck der Gewinnung eines Heilserums anzuwenden, welches aus begreiflichen Gründen wirksamer sein müßte, als das von mir früher gewonnene und im Jahre 1908 geprüfte.

Zur Immunisierung mit der neuen Kultur diente dasselbe Pferd, welches früher mit der ersten Kultur des *Bac. dysenteriae* immunisiert worden war.

Die Immunisierung geschah zuerst durch eine lebende Kultur, und darauf durch Toxin. Das erhaltene Serum, welches in der Verdünnung 1:1500 agglutinierte, wurde im Sommer 1909 zur Behandlung der Dysenterie in Umlauf gesetzt.

Nach den übereinstimmenden Urteilen vieler Tomscher Aerzte, welche dieses neue Serum anwandten, waren die Resultate im allgemeinen ziemlich befriedigende, besonders im Vergleiche mit dem früheren Serum vom Jahre 1908.

Wie sind nun die besseren Resultate der Dysenteriebehandlung mit unserem Heilserum im Jahre 1909 im Vergleich mit denen des Serums von 1908 zu erklären? Mir scheint, der Grund ist in dem Bestehen einiger Eigentümlichkeiten des Erregers der Tomscher Dysenterie zu suchen.

Es ist möglich, daß diese hypothetischen Eigentümlichkeiten vom Standpunkte des gewöhnlich üblichen diagnostischen Verfahrens bei Untersuchung der Dysenteriemikroorganismen nicht bestimmt wurden. In letzterer Hinsicht wies der von mir erhaltene Bacillus keinerlei Unterschiede von *Bac. Shiga* auf und wurde von mir für diesen gehalten. Doch konnten immerhin auch andere Eigenschaften des Tomscher Mikroorganismus vorhanden sein, durch welche er sich vom *Bac. Shiga* unterscheidet, welche bei der angewandten Untersuchungsmethode unerkant blieben.

Daß diese meine Voraussetzung einen gewissen Wahrscheinlichkeitsgrad besitzt, ersieht man teilweise aus meinen weiteren Beobachtungen der Eigenschaften des von mir ausgeschiedenen Mikroorganismus.

Seine Kultur bewahrte ich ein Jahr lang auf bei wiederholten Umpfungen auf Agar, ungefähr alle 3—4 Wochen. Im Laufe dieser Zeit impfte ich meinen Mikroorganismus in eine Lösung von Arabinose, da ich mich für die Frage der Zersetzung verschiedener Kohlehydrate durch Bakterien interessierte. Es erwies sich, daß Arabinose zersetzt wurde; es trat eine Rötung des Nährmediums auf (1,0 Pepton, 1,0 Arabinose, 0,5 Chlornatrium, 100,0 Wasser und 3,0—4,0 Lackmuslösung).

Eine Parallelimpfung des *Bac. Shiga* (aus Prag von Král) gab in diesem Medium keine solche Reaktion. Es fällt mir schwer, zu entscheiden, ob mein Mikroorganismus diese Fähigkeit, Arabinose zu zersetzen auch früher, d. h. bald nach Erhalten der Kultur von den Patienten, besaß, oder ob er diese Eigenschaft erst späterhin nach wiederholten Umpfungen erworben hat. Aber wenn man sogar letztere Voraussetzung des späteren Auftretens der erwähnten Eigenschaft bei unserem Mikroorganismus annimmt, so muß man darin immerhin einen gewissen Unterschied vom typischen *Bac. Shiga* erblicken, der in analogen Verhältnissen dieselbe Eigenschaft nicht aufweist.

Bei Untersuchung meiner Kultur noch nach 6 Monaten, also im ganzen etwa nach $1\frac{1}{2}$ Jahren nach Erhalten von dem Patienten, erhielt ich sehr wichtige und unerwartete Resultate. Nach Impfung in gewöhnliche Medien mit Zusatz von Mannit, Dextrin, Maltose, Dulcit, Arabinose erwies es sich, daß alle diese Kohlehydrate zersetzt wurden, während früher, d. h. bald nach Ausscheidung des Mikroorganismus in reiner Kultur aus den Faeces der Patienten, eine Zersetzung der genannten Kohlehydrate nicht erfolgte, und in dieser Hinsicht somit der

Tomscher Bacillus vollständig übereinstimmend mit dem typischen Bac. Flexner wurde. Doch nicht genug, etwas später erwarb die Kultur meines Mikroorganismus noch neue Eigenschaften, sie fing an eine positive Reaktion auf Indol zu geben und, obgleich erst nach zwölf Tagen, Milch zu koagulieren, aber ohne Gasbildung.

Sogar die Agglutinationsreaktion mit spezifischem Serum, welches mit Hilfe des Bacillus des Typus Shiga-Kruse erhalten wurde, gab schon jetzt keine positiven Resultate mit meiner Kultur.

Zieht man nun die erwähnten Eigenschaften meiner Tomscher Kultur in Betracht, so erhielt sie, nachdem sie vor 1½ Jahren mit der Kultur des Bac. Shiga übereingestimmt hatte, jetzt neue Eigenschaften, durch welche sie mehr Ähnlichkeit mit einer Kultur des Bac. Flexner erwarb und sogar mit der Kultur des nichttypischen Dysenteriebacillus, der 1907 von Leiner beschrieben wurde.

Hinsichtlich der Veränderung der Kohlehydrate blieb bei meiner Kultur unter a) ein Kennzeichen, durch welches sie sich von der des Bac. Flexner unterschied, d. i. das Verhalten zu Isodulcit. Dieses Kohlehydrat wurde durch meine Kultur zersetzt, blieb jedoch durch den Bac. Flexner unverändert. (Isodulcit wird auch durch den Bac. Shiga-Kruse nicht zersetzt.) Die angeführten Resultate der Versuche mit meiner Kultur erschienen mir so unerwartet, daß ich zur Kontrolle mehrere Male meine Beobachtungen wiederholte. Das Resultat war immer das nämliche.

Aus diesen meinen Beobachtungen folgt somit klar die Möglichkeit des Ueberganges des Dysenteriebacillus mit den Kennzeichen des Typus Shiga-Kruse, in reiner Kultur vom Patienten gewonnen, in einen Mikroorganismus eines anderen Typus nach wiederholten Umimpfungen im Laufe von 1½ Jahren.

Diese seltene Beobachtung beansprucht zweifellos ein großes Interesse bei der Beurteilung der Frage nach den gegenseitigen Beziehungen der Bacillen Shiga-Kruse und Flexner zueinander.

Meine bakteriologischen Untersuchungen der Tomscher Dysenterie geben mir das Recht, mich der von einigen Autoren (Konrich, Blockkam) geäußerten Ansicht über das Bestehen einer sehr großen Ähnlichkeit zwischen dem Bac. Shiga-Kruse und dem Bac. Flexner anzuschließen; andernfalls wäre es recht schwer, das von mir beobachtete Verlieren seiner spezifischen Eigenschaften beim Bac. Shiga-Kruse und das Erwerben von neuen Kennzeichen seinerseits, die für Bacillen eines anderen Typus (Flexner usw.) charakteristisch sind, zu erklären.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss des Formaldehyds auf Blutserum.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Hofrat Professor R. Paltauf).]

Von Privatdozent Dr. **M. von Eisler** und Dr. **E. Löwenstein**.

Ausgehend von der von Löwenstein gemachten Beobachtung, nach der eine formalinisierte Tetanusbouillon durch das Licht einer Nernstlampe derartig beeinflusst wird, daß das immunisierende Vermögen erhalten bleibt, während die toxische Wirkung praktisch völlig schwindet,

haben wir größere Versuchsreihen über das Verhalten von formalinisierten Tetanustoxinlösungen unter verschiedenen Bedingungen aufgestellt; ferner wurden unsere diesbezüglichen Versuche auch auf eine Reihe anderer bakterieller Toxine ausgedehnt. Eine weitgehende Entgiftung ist uns bisher nur beim Tetanustoxin gelungen; das Diphtheriegift konnte zwar deutlich abgeschwächt werden, aber doch nicht so weit beeinflußt werden, daß genügend große Mengen, wie sie zur Erzielung einer soliden Immunität durch eine einmalige Injektion, die uns gegen das Tetanustoxin auf diese Weise ohne weiteres gelungen ist, den Tieren ohne Schaden eingeführt werden konnten. Die übrigen untersuchten Bakterientoxine wurden durch das Belichten nach Zusatz von Formalin noch weniger oder gar nicht abgeschwächt.

Bei diesen Versuchen stellte sich heraus, daß speziell wieder für das Tetanustoxin die wesentliche Rolle für die beschriebene Entgiftung bei Erhaltenbleiben des immunisierenden Vermögens dem Formalin und nicht dem Lichte zukommt. Es ist uns nämlich gelungen, Tetanusgiftlösungen, die mit 0,1—0,2-proz. Formalin versetzt waren und im Dunkeln bei einer Temperatur von 30° C gehalten wurden, ebenfalls in der erwähnten Weise zu verändern, ja sogar im Eisschrank machte sich bei manchen Giften nach längerer Zeit eine gewisse Veränderung bemerkbar. Wir haben also auf Grund unserer Versuche die Annahme gemacht, daß das Eiweiß-Giftmolekül durch den Eintritt des Formols chemisch und dadurch auch in seiner biologischen Funktion modifiziert wird. Der Vorgang der Aldehydisierung des Eiweißes wird durch höhere Temperaturen natürlich beschleunigt; insofern wirken auch die von der von uns verwendeten Nernstlampe ausgesendeten Wärmestrahlen. Wir möchten dabei aber nicht ausschließen, daß neben den Wärmestrahlen auch noch andere, chemisch wirkende Strahlen unserer Lichtquelle für die Entgiftung des Tetanustoxins in Betracht kommen können, ohne uns dabei in Anbetracht der mannigfachen Wirkungen der Lichtstrahlen für eine bestimmte zu entscheiden. Zu berücksichtigen wäre jedenfalls der von uns ausgeführte Versuch, bei dem das unter Sauerstoffabschluß gehaltene Tetanustoxin im Lichte deutlich schwächer entgiftet wurde, als eine bei Luftzutritt belichtete Giftlösung.

Nachdem wir also in diesen unseren Versuchen speziell für das Tetanustoxin eine so merkwürdige Beeinflussung durch das Formalin festgestellt hatten, wogegen andere bakterielle Toxine viel weniger oder kaum merkbar beeinflußt wurden, gingen wir nun daran, die Wirkung des Formalins auf die Antikörper des Blutserums zu studieren, zumal da über die chemische Veränderung des Eiweißes durch die Aldehydkörper schon eine Reihe von Arbeiten vorliegen.

Schon die Tatsache, daß der Zusatz von Formalin zu Konservierungsflüssigkeiten es ermöglicht, die Gewebe in ihrer natürlichen Färbung zu erhalten, läßt den Schluß zu, daß das Formalin keine Denaturierung des Eiweißes bewirkt.

Blum hat anscheinend zuerst gefunden, daß das Eier- und Serumalbumin durch Zusatz von Formalin seine Koagulierbarkeit in der Hitze verliert. Als weiteres Merkmal der so erhaltenen „Methylenverbindungen der Albumine“ bezeichnete er deren Fällbarkeit durch Säuren, durch konzentrierten Alkohol und durch Aceton bei erhaltener Löslichkeit auf neuerlichen Wasserzusatz. Bach bestätigte diese Angaben und Benedicenti ergänzte sie in mehrfacher Weise. Er ließ Gelatine, Fibrin, Kasein, Blutserum und Eieralbumin längere Zeit mit Eieralbumin in

Berührung und konstatierte titrimetrisch eine Abnahme des Formalin-gehaltes der Lösung. Die „Formaldehydproteine“ waren in wesentlichen Punkten vom Ausgangsmaterial verschieden. So wurde Gelatine gehärtet und unlöslich, Blutserum gallertartig, Fibrin und Kasein verloren ihre Quellbarkeit und wurden ebenso wie das Eiereiweiß unverdaulich. Durch Erhitzen im Dampfstrom wurde Formaldehyd wieder abgespalten und die Produkte gewannen ihre ursprünglichen Eigenschaften wieder.

Schwarz hat diese Frage besonders studiert und den Schwerpunkt seiner Arbeit auf das Verhalten der Formaldehydproteine gegenüber den Verdauungsfermenten gelegt. Schon früher hatte Benedicenti auf Grund seiner Versuche angenommen, daß die Aldehydeiweißkörper weder von Pepsin noch von Trypsin verdaut werden. Weigle und Merkl, Mabery und Goldsmith, Lepierre haben sich nur mit der Pepsinverdauung beschäftigt und übereinstimmend nur eine Verzögerung der Pepsinverdauung gefunden. Schwarz hingegen fand allerdings auch für Pepsin eine gewisse Hemmung seiner Wirkung, jedoch keine Aufhebung. Trypsin hingegen greift bei Anwesenheit von überschüssigem Formaldehyd Eiweiß überhaupt nicht an; aber auch wenn jede Spur vom freien Formaldehyd entfernt ist, ist das methylenisierte Eiweiß in keinem einzigen Versuch von Trypsin angegriffen worden. Schwarz läßt die Frage offen, ob das Pepsin an anderer Stelle im Eiweißmolekül angreift als das Trypsin; er schließt die Möglichkeit nicht aus, daß bei der Pepsinverdauung die Salzsäure die besetzten Stellen durch Aldehydabspaltung wieder frei macht.

Daß aber das Formalin nicht auf das Ferment, sondern sicher auf das Eiweiß wirkt und in der Veränderung des Eiweißes die Ursache des Ausbleibens der Labwirkung zu suchen ist, beweisen die Versuche von E. Löwenstein. Versetzt man Milch mit Formalinverdünnungen von 1:5000, so tritt die Gerinnung in den ersten Stunden prompt auf Labzusatz ein. Läßt man aber die Milch 24 Stunden stehen, so gerinnt die Milch nicht mehr; je länger die Milch unter dem Einfluß des Formalins steht, desto tiefgreifender ist die Veränderung des Milcheiweißes; das Labferment kann jedoch direkt in einer formalinhaltigen Kochsalzlösung gelöst werden, ohne an Wirksamkeit einzubüßen.

Diese Beobachtung zusammengehalten mit den übereinstimmenden Angaben von Benedicenti, Murakocy, daß das Formalin bei längerem Kontakt titrimetrisch verschwindet, macht es wahrscheinlich daß die Aldehydgruppe in das Eiweißmolekül eintritt.

Eigene Versuche.

Wir haben fast ausschließlich mit Pferdeserum gearbeitet, da der größte Teil unserer Immunsera von Pferden stammt. Aus unseren früheren Versuchen wußten wir, daß wir mit dem Formalin Gehalt nicht über 5 Prom. gehen durften, um bei Tierversuchen die Giftwirkung des Formalins auszuschließen. Aber schon bei diesem niedrigen Formalin-gehalt des Serums treten eine Reihe augenfälliger Veränderungen im Serum auf. Das Serum wird in 24 Stunden viel dickflüssiger, nimmt manchmal eine direkt grünliche Färbung an. Verdünnt man es im Verhältnis 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung, so besitzt die Verdünnung des Formolserums eine deutliche Opaleszenz, die häufig noch in einer 100-fachen Verdünnung merkbar ist. Ein Viskositätsversuch mit dem Hessschen Viskosimeter ergab die Viskosität der Kontrolle mit 2, während die Viskosität eines 8 Tage alten Formolserums 7,2 betrug.

Doch sei bereits hier hervorgehoben, daß durchaus nicht jedes Serum, auch wenn es von derselben Tierart stammt, in dieser auffälligen Weise beeinflusst wird; es scheinen hier ähnliche Verhältnisse wie bei der Tetanusbouillon vorzuliegen; auch hier haben einige Tetanusstämme ein Toxin produziert, das durch Formalin wenig beeinflusst wurde. Ebenso fanden wir Blutsera, die die beschriebenen Veränderungen durch Formalin erst nach längerer Einwirkungszeit und auch dann zuweilen nur in geringerem Maße erkennen ließen. Einen Grund für dieses wechselnde Verhalten vermochten wir nicht aufzufinden. Auch das Alter des Serums hat nach unseren Beobachtungen in dieser Hinsicht keine Bedeutung, so daß wir die wechselnde Formalinresistenz der einzelnen Sera auf individuelle Verschiedenheiten zurückführen müssen. Spielt doch die Individualität des Serumspenders auch bei der Antikörperproduktion die größte Rolle.

Zuerst haben wir das Tetanusserum „Drusus“ darauf geprüft, ob durch den Formalinzusatz seine Fällungsgrenzen gegenüber Ammoniumsulfat geändert würden.

| | Normalserum | nach 8 Std. | Formalinserum | nach 8 Std. |
|--|-------------|--------------------|---------------|------------------------------|
| 20 Proz. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25 „ dgl. | Trübung | Niederschlag | 0 | keine Trübung |
| 30 „ | kräftiger | Niederschlag | Ausflockung, | Eiweißgale schwimmt |
| Verdünnt man das Serum 1 : 10, so ergibt sich: | | | | |
| | Normalserum | | Formalinserum | |
| 20 Proz. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | | 0 | | Trübung und Niederschlag |
| 25 „ | | Trübung und später | | Trübung und später kräftiger |
| | | Niederschlag | | Niederschlag |

Es zeigt sich also, daß im konzentrierten Formalinserum die Globuline anscheinend erst bei einer höheren Salzkonzentration ausfallen als im Normalserum; im 10-fach verdünnten Serum hingegen scheint geradezu das umgekehrte Verhältnis vorzuliegen, denn hier war bei derselben Salzkonzentration die Niederschlagsbildung im Formolserum viel stärker.

Wir haben diesen Versuch mit einem anderen Serum wiederholt und dasselbe Resultat erhalten:

| | | |
|----------|-----------------------------|--|
| | Konzentriertes N-Serum | 10-fach verdünntes N-Serum |
| 25 Proz. | Niederschlag | 0 |
| 33 „ | kräftiger Niederschlag | geringer Niederschlag |
| | Konzentriertes Formol | 10-fach verdünntes Formolserum |
| 25 Proz. | dichte Trübung nach 24 Std. | 0 |
| 33 „ | starker Niederschlag | sofort Fällung, nach 24 Std. das Sediment 3mal so hoch als bei 10-fach Normalserum |

Aus diesen Versuchen glauben wir auf eine leichtere Fällbarkeit der formalinisierten Eiweißkörper (Serumglobuline) durch Ammonsulfat schließen zu dürfen. Das Verhalten des konzentrierten, mit Formalin versetzten Serums dürfte kaum gegen diese Annahme sprechen, denn in einem solchen Serum kann das langsamere und schwächere Auftreten von Fällungen ohne weiteres durch dessen hohe Viskosität, die ja ungefähr drei- bis viermal so groß als die des normalen Serums ist, erklärt werden.

Freund und Joachim haben einen dem Euglobulin und dem Pseudoglobulin gemeinsamen wasserunlöslichen Anteil im Serum gefunden. Verdünnt man ein Normal- oder Immunpferdeserum auf das 20-fache mit

destilliertem Wasser, so tritt sofort eine Trübung auf, die sich nach längerem Stehen in einem spärlichen Niederschlag sammelt. Im Formolserum hingegen scheint diese Substanz nicht mehr vorhanden zu sein, denn es bildet sich keine Trübung aus. Durch die Einwirkung des Formalins scheint dieser unlösliche Teil des Globulins wasserlöslich geworden zu sein.

In den Antikörpern des Serums hatten wir einen weiteren Indikator für die Veränderungen, welche sich im Eiweiß unter dem Einfluß des Formalins vollziehen.

a) Antitoxine.

Als das Serum, das mit mathematischer Sicherheit arbeitet, lag uns das Tetanusserum am nächsten. Als erste Frage mußten wir uns vorlegen: Wie wird das Antitoxin vom Formalin beeinflusst?

Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch angesetzt:

Serum „Drusus“ Aderlaß vom 21. 9. 11
 1 ccm Serum + 0,2 konzentriertes Formol } doppelt.
 1 ccm Serum + 0,2 eines 10-fach verdünnten Formol }

Das 20-proz. Serum zeigt sofort nach dem Zusatz eine grüne Verfärbung, das 2-proz. Serum zeigt keinerlei Veränderung.

Je eine Probe des Serums mit 2- und 20-proz. Formalingehalt wird auf 95° C erhitzt, die andere bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Nach 1 Stunde wird der Auswertungsversuch vorgenommen, wobei die Toxinkontrollen ebenfalls mit dem entsprechenden Formalinzusatz versehen werden.

| | | | |
|---------------------------------------|--|-------------------------|--|
| 20 Proz. bei Zimmertemperatur | | Bei 95° | |
| 0,000001 Serum + die 2-fach L + M = 0 | | Tetanus. † nach 72 Std. | |
| 0,00001 „ + dgl. = 0 | | „ † „ 72 „ | |
| 0,0001 „ + „ = 0 | | „ † „ 72 „ | |
| 0,001 „ + „ = 0 | | „ † „ 72 „ | |

2-proz. Drususformalinserum.

| | | | |
|--------------------------------|--|-------------------------|--|
| Zimmertemperatur | | 95° | |
| 0,000001 Serum + 2 (L + M) = 0 | | Tetanus. † nach 72 Std. | |
| 0,00001 „ + 2 (L + M) = 0 | | „ † „ 72 „ | |
| 0,0001 „ + 2 (L + M) = 0 | | „ † „ 72 „ | |
| 0,001 „ + 2 (L + M) = 0 | | „ † „ 72 „ | |

Wie unser Versuch zeigt, schädigt selbst ein 20-proz. Formalingehalt bei Zimmertemperatur die Wirkung des Antitoxins nicht, wenn der Kontakt nicht sehr lange dauert. Dagegen wird das Antitoxin durch höhere Temperaturen, obwohl die Gerinnung verhindert wurde, unwirksam. Um nun zu kontrollieren, in welcher Weise die durch Murakovy, Schwarz, Benedicenti festgestellte langsam vorschreitende Aldehydisierung des Eiweißes im Antitoxingehalt zum Ausdruck kommt, wurden verschiedene Sera — Tetanus- und Diphtheriesera — mit Formalin gemischt und im Brutschrank aufgehoben, um für etwaige gegenseitige Beeinflussung die besten Bedingungen zu haben.

Drususserum, ein Tetanusserum, das 5 Prom. Formalin enthielt und nach verschiedenen Zeiten, zuletzt nach 35 Tagen, ausgewertet wurde, ergab folgende Werte:

| | | | |
|------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--|
| Kontrolle im Eiskasten ohne Zusatz | | Formolserum bei 37° | |
| 0,0000002 Serum + 2 (L + M) | nach 8 Tagen Tetanus. † | Tetanus nach 6 Tagen. † | |
| 0,0000005 „ | „ 8 „ „ † | „ 6 „ „ † | |
| 0,000001 „ | am 10. Tage †. Tetanus | am 10. Tage Tetanus | |
| 0,00001 „ | keine Krankheitserscheinungen | keine Krankheitserscheinungen | |

Bereits aus diesem Versuch geht hervor, daß auch bei längerer Einwirkung des Formalins auf das Serum das Antitoxin kaum geschädigt wird; allerdings verhalten sich die verschiedenen Sera durchaus nicht gleichartig; während sich das Serum Drusus in bezug auf seinen Antitoxingehalt als formalinfest erwies, ging der Antitoxingehalt des zweiten Serums, das von einem noch nicht lange in Behandlung stehenden Pferde stammte, ein wenig herunter. Ebenso war auch im Serum eines dritten Tetanuspferdes eine geringe Antitoxinabnahme durch das Formalin festzustellen, die aber nicht mehr als das 5-fache des ursprünglichen Wertes betrug. Sehr schön läßt sich die verschiedene Resistenz des Antitoxins in einer Versuchsreihe mit 4 von verschiedenen Pferden stammenden Diphtheriesera demonstrieren.

Von 4 Aderlässen, ausgeführt am 9. Okt. 1911, werden je 10 ccm Serum, das nicht karbolisiert ist, mit 0,05 ccm reinen Formalins gemischt. Als Kontrolle werden 5 ccm derselben Sera ohne jeden Zusatz ebenfalls in den Brutschrank gestellt. Schon 20 Minuten nach dem Formolzusatz tritt in den 4 Formolserumröhrchen die beschriebene Grünfärbung auf.

Die Auswertung des Antitoxingehaltes war am 13. und 16. Okt. erfolgt und ergab folgende Werte:

Rhea 400-fach fast glatt, kleines knopfförmiges Infiltrat.
 Robe 500-fach kleines Infiltrat am 2./3. Tage.
 Resi 550-fach fast glatt, kleines knopfförmiges Infiltrat am 2./3. Tage.
 Rhone 800-fach Infiltrat.

Nach 5 Tagen Verweilens im Brutschrank zeigen die Sera Robe und Resi außer der grünlichen Verfärbung keine deutliche Veränderung. Rhone hingegen ist schon sehr viskös, Rhea schon fast Gallerte. Bei der Verdünnung mit Kochsalz sehr starke Opaleszenz.

Versuch vom 24. 10.

| | Kontrollen | Formolserum |
|-------|--------------------------------------|-------------------|
| Rhea | 400-fach Meersch. No. 606 glatt | No. 762 † 25. 10. |
| | 350-fach „ „ 265 glatt | 734 † 26. 10. |
| | am 27. 10. ergänzt. | |
| | 100-fach | 836 † 26. 10. |
| | 10-fach | 977 glatt |
| Robe | 500-fach Meersch. No. 702 glatt | 794 † 25. 10. |
| | 450-fach „ „ 775 glatt | 900 † 25. 10. |
| | 100-fach ergänzt am 27. 10. | 808 † 30. 10. |
| | 10-fach | 935 glatt |
| Resi | 500-fach Meersch. No. 68 glatt | 110 † 25. 10. |
| | 450-fach „ „ 95 glatt | 881 † 25. 10. |
| | 200-fach ergänzt | 891 † 30. 10. |
| | 100-fach | 807 glatt |
| | 10-fach | 1000 glatt |
| Rhone | 750-fach M.-S. 75 kleines Infiltrat | 783 † 25. 10. |
| | 700-fach „ 325 Knöpfchen | 506 † 25. 10. |
| | 200-fach ergänzt | 840 † 30. 10. |
| | 100-fach | 807 glatt |
| | 10-fach | 847 glatt |
| | Ehrlich-Kontrolle No. 801. Infiltrat | † 27. 10. |

Da das Serum nur wenige Tage nach dem Aderlaß verwendet wurde, so haben wir Sera zur Prüfung herangezogen, die schon einige Monate im Eisschrank gestanden hatten; weiter war es nicht ausgeschlossen, daß sich die hochwertigen Sera anders verhalten wie die mit niedrigem Antitoxingehalt, es sei hier nur an die Untersuchungen von Pick und

Schwoner erinnert, die auch eine verschiedene Stabilität des Antitoxins konstatiert haben; insbesondere haben diese Forscher betont, daß Sera mit niederem Diphtherieantitoxin stabiler in ihrem Werte bleiben als die hochwertigen Sera.

Deshalb haben wir für den Versuch vom 11. Nov. 1911 4 Sera gewählt, die seit dem 12. Juli im Eisschrank standen und deren Wert zwischen 100- bis 200-fach schwankte.

Alle 4 Sera zeigen kurze Zeit nach dem Zusatz von 0,4 Proz. keine sichtliche Veränderung, auch nicht in der Farbe.

Nach 3 Tagen wird die Prüfung vorgenommen.

Serum Oberon schon sehr dick, auch in der Verdünnung 1:100 noch stark opaleszierend.

| Kontrollen | | Formolserum | |
|--|----------------|------------------|----------------|
| 200-fach No. 369 | † nach 3 Tagen | 100-fach No. 316 | † nach 2 Tagen |
| 150-fach „ 57 | glatt | 50-fach „ 408 | † „ 2 „ |
| Serum Ottilie ebenfalls dickflüssiger. | | | |
| 300-fach No. 96 | glatt | 200-fach No. 962 | glatt |
| 250-fach „ 126 | glatt | 100-fach „ 330 | glatt |

Ehrlich No. 496 † am 3. Tage.

Serum Odin zeigt nach 5-tägigem Stehen im Brutschrank nur Opaleszenz, nicht stark verdickt, 1:10 stark opaleszierend, 1:100 Spur Opaleszenz.

| Kontrolle | | Formolserum | |
|---|-------------------------|------------------|-----------|
| 150-fach No. 934 | großes hartes Infiltrat | 100-fach No. 966 | † 18. 11. |
| | | 50-fach „ 944 | † 19. 11. |
| Serum Nichte verhält sich wie Serum Odin. | | | |
| 200-fach No. 398 | Infiltrat | 100-fach No. 710 | † 20. 11. |
| | | 50-fach „ 940 | glatt |

Aus diesen Versuchen kann ersehen werden, daß der größte Teil des Tetanusantitoxins und ein sehr großer Teil des Diphtherieantitoxins nach der Formalineinwirkung erhalten war.

Selbst in 20-proz. Formalinlösung behielt das Tetanusantitoxin bei kurzer Einwirkung seinen Antitoxintiter.

Nun dachten wir, daß das Antitoxinmolekül gewissermaßen als Ganzes fixiert wird, und hielten es für möglich, daß das Formalinantitoxin selbst dem Kochen widerstehen konnte. Durch den Formalingehalt wird man in den Stand gesetzt, das Serum lange Zeit bei 95° zu halten, ohne daß eine Gerinnung oder Trübung im Serum entstehen würde. Aber trotzdem das Serum bei 95° völlig klar blieb, konnte in diesem Serum (siehe Protokoll) nicht die Spur eines Antitoxins mehr nachgewiesen werden.

Obwohl sich also äußerlich keine Veränderung des Serums ergab, war das Antitoxin völlig zerstört; auch früher schon haben wir aus unseren Protokollen ersehen, daß zwischen den beschriebenen Veränderungen des Serums und der Abnahme des Antitoxingehaltes kein völliger Parallelismus besteht.

Wir haben nun das Verhalten der anderen Antikörper gegenüber dem Formalin studiert, um auf diesem Wege der Frage näher zu kommen, inwieweit die mannigfachen Funktionen, wie die Entgiftung, die Agglutination, Präzipitation, die Bakterizidie und Lyse usw. an verschiedene Eiweißkörper geknüpft sind. Schon früher hat z. B. E. P. Pick den Nachweis erbringen können, daß im Pferdeserum das Agglutinin mit der Euglobulinfraktion, das Antitoxin mit der Pseudoglobulinfraktion ausfällt. Nach dieser Arbeit, in der zuerst die fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat zur Darstellung der Antikörper zur Anwendung gelangte, sind eine

Reihe weiterer Untersuchungen mit dieser Methode angestellt worden und haben ergeben, daß der Gehalt der verschiedenen Eiweißfraktionen des Blutserums an Antikörpern nicht unbeträchtlichen Schwankungen unterliegt. Hauptsächlich kommen die Globuline für die Antikörperfunktionen in Betracht; die Verteilung auf die einzelnen Globuline wechselt aber, und kommt für diese Verteilung auch die Tierart, von der das Blutserum stammt, in Betracht.

Der Zusammenhang des Präzipitinogens (Eiweißes) im Blutserum mit einer Reihe von Antikörpern wurde durch die Arbeiten von Dehne und Hamburger, Kraus und Přibram, von Eisler und Tsuru und schließlich auch durch Landsteiner und Prasek nachgewiesen, welche letztere auf Grund ihrer Versuche sogar das Präzipitinogen mit dem Antikörper identifizieren. Nach Versuchen von Kraus und Přibram, sowie von Eisler und Tsuru, aus denen hervorgeht, daß in manchen Seris trotz reichlicher Fällung von Präzipitinogen kein Verlust an Antikörpern nachweisbar ist, und daß, wie die letzteren beobachteten, auch kein Zusammenhang zwischen der Niederschlagsmenge und dem Verlust an Antikörpern besteht, mußte man verschiedene Präzipitine im Serum annehmen. Von besonderem Interesse ist das Verhalten verschiedener Antikörper in demselben Serum nach Zusatz von Präzipitin. Nach diesbezüglichen Versuchen von v. Eisler und Tsuru wurde z. B. in einem Serum, das Agglutinin und Antilysin enthielt, durch die Präzipitation ein Verlust an beiden Antikörpern beobachtet. Durch Versetzen eines Immunserums, das mit Bouillonfiltraten des *Vibrio El Tor V* erzeugt war, mit einer dichten Aufschwemmung dieses *Vibrio* wurde außer dem Verschwinden des Agglutinins auch eine beträchtliche Abnahme des Antihämotoxins nachgewiesen. Den gleichen Befund konnte auch Bächer erheben; wenn er jedoch das betreffende Immunserum statt mit *El Tor*-Vibrionen mit typischen *Cholera*vibrionen versetzte, trat Verlust des Agglutinins ein, das Antilysin blieb aber im Serum erhalten.

In Anbetracht der geschilderten Verhältnisse bei der Präzipitation haben v. Eisler und Tsuru einer Reihe der untersuchten Blutsera mit Adsorbentien, wie Kohle, Kaolin, Kieselgur versetzt, und dann die vorbehandelten Sera auf ihren Antikörpergehalt untersucht. Bei dieser Versuchsanordnung waren die beobachteten Antikörperverluste wieder andere als bei der Präzipitation.

Wie schon aus den hier angeführten Befunden hervorgeht, können also die Beziehungen zwischen den Eiweißkörpern im Blutserum und ihren biologischen Funktionen recht mannigfaltige sein. Nachdem wir oben in Kürze auf diese Verhältnisse hingewiesen haben, sollen nun, um dieser Frage wieder auf einem anderen Wege näherzutreten, unsere Versuche folgen, die sich mit dem Einfluß des Formalins auf andere als die antitoxischen Antikörper beschäftigen.

b) Agglutinine.

Wir haben Sera, welche Typhusbacillen oder *Cholera*vibrionen noch in hohen Verdünnungen kräftig agglutinierten, mit Formol versetzt, und zunächst untersucht, wie sich solche Sera nach stärkerer Erwärmung bezüglich ihres Agglutiningehaltes verhalten. Mit Rücksicht auf unsere seinerzeit beim Tetanustoxin gemachten Erfahrungen, nach denen dieses so labile Gift durch Formolzusatz haltbarer wird, und wegen der relativ hohen Thermoresistenz der Agglutinine, wäre es ja nicht unmöglich gewesen, daß diese auch nach stärkerer Erwärmung des formalinisierten

Serums noch nachweisbar gewesen wären, da ja die Gerinnung des Serums durch den Formolzusatz hintangehalten wurde.

Versuch am 20. Oktober 1911.

Ein Pferdeimmunserum, das Choleravibrionen bis zur Verdünnung 1:2000 agglutinierte, wurde mit Formalin versetzt, so daß dessen Gehalt 3 Proz. betrug; bei dieser Konzentration trat auch nach dem Kochen keine Veränderung des Serums ein. Außer zu dem konzentrierten Serum wurde auch zu einer mit Kochsalzlösung hergestellten 10-fachen Verdünnung des betreffenden Serums die entsprechende Menge Formol zugesetzt und schließlich eine dritte Probe des betreffenden Serums mit NaCl 10-fach verdünnt und ohne Zusatz gelassen. Alle 3 Röhren wurden hierauf 3 Minuten lang in kochendes Wasser gestellt und hierauf die Prüfung auf Agglutination vorgenommen. In keinem der 3 Sera konnte in Verdünnungen von 1:100 bis 1:2000 Agglutination beobachtet werden, während das unveränderte Serum, wie erwähnt, bis 1:2000 agglutinierte.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde eine abgemessene Menge desselben Immunserums mit 0,2-proz. Formol versetzt und in gut verschließbare Glasschalen gebracht. Eine Schale mit diesem Serum wurde dem Lichte einer $\frac{1}{4}$ Ampère-Nernstlampe ausgesetzt, eine zweite im Dunkeln bei 30° C, eine dritte im Eisschrank gehalten. Von demselben Serum wurde auch noch ein Teil mit 0,5-proz. Karbol versetzt und ebenfalls in einer Schale belichtet.

Nachdem die Sera in dieser Weise 10 Tage gestanden hatten, wurde die Untersuchung des Agglutiningehaltes vorgenommen und ergab folgendes:

| Art des Serums | Menge | Resultat | Bemerkungen |
|--------------------|---------------------|----------|---|
| Licht-Formol | $\frac{1}{10}$ ccm | ⊕ | Die Ablesung erfolgte, nachdem die Röhren 2 Stunden im Brutschrank und 14 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten |
| | $\frac{1}{100}$ " | ⊕ | |
| | $\frac{1}{300}$ " | ⊕ | |
| | $\frac{1}{1000}$ " | ⊕ | |
| Licht-Karbol | $\frac{1}{100}$ ccm | komplett | |
| | $\frac{1}{300}$ " | " | |
| | $\frac{1}{1000}$ " | stark | |
| Dunkel-Formol | $\frac{1}{10}$ ccm | ⊕ | |
| | $\frac{1}{100}$ " | ⊕ | |
| | $\frac{1}{300}$ " | ⊕ | |
| | $\frac{1}{1000}$ " | ⊕ | |
| Eis-Formol | $\frac{1}{100}$ ccm | Spur. | |
| | $\frac{1}{300}$ " | stark | |
| | $\frac{1}{1000}$ " | partiell | |
| ohne Zusatz im Eis | $\frac{1}{100}$ ccm | komplett | |
| | $\frac{1}{300}$ " | " | |
| | $\frac{1}{1000}$ " | " | |

Es zeigt sich also, daß auch schon geringe Formalinmengen das Agglutinin des Choleraimmunserums sowohl im Lichte als im Dunkeln nach längerer Einwirkung zum Verschwinden gebracht hatten. Ein Unterschied zwischen der belichteten und im Dunkeln gehaltenen Probe läßt sich wenigstens für das vorliegende Serum nicht feststellen, so daß die Wirkung der Belichtung ebenfalls auf Wärmestrahlen zurückgeführt werden muß. Innerhalb der eingehaltenen Versuchszeit von 10 Tagen war der Prozeß der Aldehydisierung des Serums bei höherer Temperatur

so weit vorgeschritten, daß kein Agglutinin mehr nachweisbar war. Bei Eisschranktemperatur war dieser Prozeß viel langsamer verlaufen, so daß nach derselben Zeit noch Reste von Agglutinin übrig waren. Das mit Karbol versetzte Serum hatte trotz der Belichtung keinen nennenswerten Agglutininverlust erlitten. Das Verschwinden des Agglutinins im Formolserum kann nicht durch eine Behinderung der Agglutination infolge des Formolgehaltes des zugesetzten Serums bedingt sein, denn bei gleichzeitigem Zusatz der gleichen und selbst 10-fach größeren Mengen von Formalin, als sie in den verwendeten Quantitäten des vorbehandelten Serums enthalten sind, zum Serum und der Bakterienaufschwemmung, trat keine Behinderung der Agglutination auf, so daß ein Einfluß so minimaler Formolmengen auf den Ausflockungsprozeß ausgeschlossen werden kann.

Außer dem Choleraserum haben wir auch ein Typhusbakterien agglutinierendes Pferdeserum für unsere Untersuchungen herangezogen. Von diesem Serum wurden 10 ccm mit 0,4-proz. Formol versetzt, 10 ccm ohne Zusatz gelassen. Beide Röhrchen wurden im Dunkeln bei 30° C gehalten. Nach 3 Tagen erfolgte die erste Untersuchung des Agglutinin-gehaltes.

| Art des Serums | Menge | Resultat | Bemerkungen |
|----------------|-----------|---------------|---|
| Kontrollserum | 0,001 ccm | komplett | Ablesung nach 2 Stunden Brutofen u. 14 Stunden Zimmeraufenthalt |
| | 0,0005 " | " | |
| | 0,0002 " | " | |
| Formolserum | 0,1 ccm | ∅ | |
| | 0,01 " | ∅ | |
| | 0,001 " | fast komplett | |
| | 0,0005 " | partiell | |

Nach 6 Tagen erfolgte eine zweite Untersuchung.

| Art des Serums | Menge | Resultat | Bemerkungen |
|----------------|----------|---------------|---|
| Kontrollserum | 0,01 ccm | komplett | Ablesung nach 2 Stunden Brutofen u. 14 Stunden Zimmeraufenthalt |
| | 0,001 " | " | |
| | 0,0005 " | " | |
| | 0,0002 " | fast komplett | |
| Formolserum | 0,1 ccm | ∅ | |
| | 0,01 " | ∅ | |
| | 0,03 " | ? | |
| | 0,001 " | partiell | |
| | 0,0005 " | ? | |

Auch bei diesem Versuche haben wir uns durch gleichzeitigen Zusatz entsprechender Formalinmengen zum Serum und den Bakterien überzeugt, daß das Verschwinden des Agglutinins nicht durch eine Hemmung der Ausflockung durch die im Immunserum enthaltenen kleinsten Formalinmengen verursacht sein kann. Aus dem angeführten Versuche ersieht man, daß schon nach 3-tägiger Einwirkung des Formols das Agglutinin beträchtlich abgenommen hat, um nach 6-tägiger Einwirkung bis auf Spuren zu verschwinden. Bei dieser Abnahme fällt es auf, daß zuerst die Agglutination in den höheren Konzentrationen ausbleibt, in mittleren am längsten erhalten bleibt. Das gleiche Phänomen konnten wir bereits beim Choleraserum beobachten. Das mit Formol versetzte und im Eisschrank gehaltene Serum agglutinierte nach 10 Tagen in der Menge von 0,01 ccm nur mehr spurenweise, wogegen 0,003 ccm

noch kräftig agglutinierten; 0,001 ccm dieses Serums flockte wieder schwächer aus als 0,003 ccm. Infolge dieses Ausbleibens der Agglutination in höheren Konzentrationen mußte man wohl auf das Vorhandensein eines hemmenden Körpers schließen.

Unsere weiteren Versuche gingen daher darauf aus, festzustellen, ob das seiner Fällungskraft beraubte Agglutinin noch imstande wäre, mit den Bakterien eine Bindung einzugehen. In der Tat zeigte sich, daß die mit dem Formolserum beladenen und nachher abzentrifugierten Bakterien von unvorbehandeltem Serum nur mehr nach längerer Zeit und auch dann nur spurenweise agglutiniert wurden. Ebenso war bei gleichzeitigem Zusatz von frischem und Formolserum zu den entsprechenden Bakterien eine deutliche Behinderung der Agglutination festzustellen. Diese Hemmung der Ausflockung ist eine spezifische, denn wenn z. B. zu Typhusbakterien mit Formol vorbehandeltes Choleraagglutinin und fallendes Typhusserum zugesetzt wurde, erfolgte die Ausflockung ebenso gut wie in den Kontrollröhrchen, die nur Typhusagglutinin und Typhusbakterien enthielten. Durch die Vorbehandlung mit Formol geht also die fallende Eigenschaft des Agglutinins verloren, die bindende bleibt aber noch erhalten.

Jedenfalls läßt sich auf Grund der angeführten Versuche sagen, daß in den beiden geprüften Seris (Cholera- und Typhusagglutinin) die fallende Funktion schon durch geringe Formalinkonzentrationen so gut wie völlig zum Verschwinden gebracht worden war, im Gegensatz zu den antitoxischen Funktionen der Tetanus- und Diphtheriesera, bei denen unter denselben Versuchsbedingungen kein oder nur geringfügiger Antikörperverlust eintrat. Da wir speziell beim Tetanusantitoxin vom Pferde Drusus gefunden hatten, daß selbst 20-proz. Formalin nach 1-stündiger Wirkung bei Zimmertemperatur das Antitoxin nicht beeinflußt, haben wir, um das verschiedene Verhalten von Agglutinin und Antitoxin gegenüber Formol noch weiter zu prüfen, das Typhusserum $\frac{1}{2}$ Stunde lang mit einem Gehalt von 20 Proz. Formalin stehen lassen und dann auf Agglutination geprüft. In Mengen von 0,5—0,001 ccm war dieses Serum nicht mehr imstande, Typhusbakterien auszuflocken. Das Kontrollserum hatte zu derselben Zeit in der Menge von 0,001 ccm komplette Agglutination bewirkt. Der Unterschied in dem Verhalten des Agglutinins und Antitoxins gegen Formol ist also wohl deutlich ¹⁾.

c) Präzipitation.

Im Anschluß an die Untersuchung der Agglutinine in unserem mit Formalin versetzten Choleraserum wurden auch die Bakterienpräzipitine einer Prüfung unterzogen. Zur Gewinnung eines geeigneten Extraktes wurde die Oberfläche einer 24 Stunden bebrüteten Agarflasche mit 50 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt, diese Aufschwemmung noch 40 Stunden im Brutschrank stehen gelassen und dann durch ein Reichel-Filter geschickt. Zu je 2 ccm des auf diese Weise gewonnenen Extraktes wurden je 0,2 und 0,1 ccm des vorbehandelten und unveränderten Serums zugesetzt; zugleich wurden die notwendigen Kontrollproben mit Serum und Extrakt allein aufgestellt. In den Röhrchen mit unverändertem Serum waren bereits nach $\frac{1}{2}$ Stunde deutliche Trübung, nach 1 Stunde

¹⁾ Wie wir nach Abschluß unserer Versuche gesehen haben, hat auch Pick in seinen Untersuchungen über Immunkörper festgestellt, daß das Serum durch Zusatz von Formalin seine Fähigkeit, Bakterien zu agglutinieren, einbüßt.

bereits Flocken aufgetreten, die Proben mit Formolserum blieben ebenso wie alle Kontrollröhrchen auch nach weiteren 6 Stunden unverändert. Um eine fällungshemmende Wirkung des im Immunserum enthaltenen Formols auszuschließen, wurden auch diesmal Proben aufgestellt, in denen Extrakt, hierauf die entsprechende geringe Formolmenge, die in 0,2 ccm des Serums enthalten ist, und sofort darauf das Serum gemischt wurden. Bei dieser Versuchsanordnung trat die Präzipitation genau wie in den Röhrchen ohne Formolgehalt ein. Der angeführte Versuch beweist also, daß außer dem Agglutinin auch das Präzipitin für Cholera-vibrionen durch das Formol zerstört worden war.

Dasselbe Serum, dessen Präzipitine geschwunden waren, wurde nun andererseits auf seine Fällbarkeit durch Pferdepräzipitin untersucht, und zwar benutzten wir zu diesen Versuchen nicht nur zwei verschiedene von Kaninchen, durch Injektion mit normalem Pferdeserum gewonnene Präzipitine, sondern haben uns auch durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Formolserum Präzipitine erzeugt, um zu sehen, ob dem Formoleiweiß eine Zustandsspezifität zukomme, wie sie von Obermayer und E. P. Pick für das Jodeiweiß gefunden wurde. Bekanntlich haben diese Autoren festgestellt, daß Jodeiweiß nur mit einem Präzipitin reagiert, das mit jodiertem Eiweiß gewonnen ist, daß es aber gleichgültig ist, von welcher Tierart das Jodeiweiß stammt, daß also die Art-spezifität verloren gegangen ist. Die quantitative Auswertung unseres Choleraserums, sowohl des mit Formol vorbehandelten als des unveränderten Serums mit beiden Gruppen von Präzipitinen ließ gar keinen Unterschied erkennen, so daß eine Zustandsspezifität des Formoleiweißes im Sinne von Obermayer und Pick nicht angenommen werden kann. Dagegen muß bemerkt werden, daß das mit Formol vorbehandelte Serum von beiden Arten von Präzipitinen etwas stärker gefällt wurde, als das nicht formalinisierte Serum, insofern im ersteren die Niederschläge etwas reichlicher und früher auftreten als in letzteren. Es sei an dieser Stelle daran erinnert, daß wir auch gegenüber Ammonsulfat eine leichtere Fällbarkeit des Formoleiweißes feststellen konnten. Die Fällbarkeit des Serumeiweißes durch spezifisches Präzipitin hatte, demnach durch die Einwirkung des Formols nicht nur nicht gelitten, sondern eher zugenommen.

Wir haben auch noch untersucht, wie sich das mit Formalin versetzte Pferdeserum nach dem Kochen bezüglich seiner Fällbarkeit durch spezifisches Präzipitin verhält. Zu diesem Zwecke wurde Pferdeserum mit 2-proz. Formalin versetzt und einige Male über freier Flamme aufgekocht. Dieses Serum zeigte eine wesentliche Abnahme seiner Fällbarkeit durch Präzipitin. Während im Kontrollserum deutliche Flocken auftraten, kam es in dem Formolserum nur mehr zur Bildung einer leichten Trübung.

d) Anaphylaxie.

Nachdem wir also festgestellt hatten, daß das Formoleiweiß in seiner Fällbarkeit und in seinen antigenen Eigenschaften ungestört geblieben war, drängte sich die Frage auf, ob es auch seine anaphylaxieerzeugende und sensibilisierende Fähigkeit behalten habe. Wir haben daher ein überempfindliches Diphtheriemeerschweinchen intravenös mit 0,5 ccm des erwähnten Choleraformolserums injiziert. Das Tier zeigte sofort nach der Injektion die gewöhnlichen Erscheinungen der Anaphylaxie und starb in wenigen Minuten. Der Sektionsbefund ergab eine blutarme, geblähte Lunge. Ein etwas kleineres unvorbehandeltes Meerschweinchen vertrug die intravenöse Injektion desselben Serums ohne irgendwelche Symptome.

Drei weitere Meerschweinchen erhielten zur Sensibilisierung je 0,05 ccm desselben Serums subkutan injiziert. 16 Tage später erhält eines der drei vorbehandelten Tiere 0,5 ccm normalen Pferdeserums intravenös. Es stirbt unter typischen Erscheinungen in wenigen Minuten. Das zweite Tier wird mit 0,5 ccm des Formolserums injiziert. Gleich nach der Injektion bietet es schwere anaphylaktische Erscheinungen, erholt sich aber nach einiger Zeit. Das dritte Meerschweinchen bekommt so wie das zweite 0,5 ccm Formolserum. Nach 5 Minuten tritt der Tod unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen ein. Auf Grund dieser Versuche können wir also die oben gestellte Frage bejahend beantworten, daß das Formoleiweiß einerseits seine Fällbarkeit und anaphylaxieerzeugende Fähigkeit, andererseits seine antigene Eigenschaft zur Erzeugung von Präzipitin und seine sensibilisierende behalten hat.

Versuche über die passive Uebertragung der Anaphylaxie mit Formolserum haben kein eindeutiges Resultat ergeben, da auch die mit dem Kontrollserum gespritzten Tiere keine anaphylaktischen Symptome zeigten. Möglicherweise hat schon der achttägige Aufenthalt des Kontrollserums bei 30° C genügt, um den anaphylaktischen Reaktionskörper sehr abzuschwächen.

e) Bakteriolytischer Ambozeptor.

Das zu unseren bisherigen Versuchen benutzte Choleraimmunserum wirkt auch sehr stark bakterizid. Wir wollen nun auch noch über das Schicksal des Ambozeptors im Formolserum berichten. Der Versuch wurde folgendermaßen ausgeführt: Von einer 24-stündigen Agarkultur des Vibrio El Tor V haben wir uns eine Aufschwemmung bereitet, die in 0,5 ccm Bouillon $\frac{1}{10000}$ Oese Kultur enthielt. Zu dieser Bakterienmenge wurden verschiedene Mengen des ambozeptorhaltigen Serums gesetzt, und zwar vom formalinisierten und vom unveränderten, dann kamen zu jedem Röhrchen je 0,05 ccm Meerschweinchenserum als Komplement; ferner wurden die nötigen Kontrollen wie Ambozeptor und Komplement allein und mit Kultur, dann die betreffende Kulturmenge allein angesetzt, der Inhalt der einzelnen Röhrchen nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Aufenthalt bei 36° C zu Agarplatten verarbeitet und diese nach 16-stündiger Bebrütung untersucht. Bevor wir das Resultat dieses Versuches wiedergeben, sei bemerkt, daß die Kontrollen alle in Ordnung waren, namentlich daß auch die größte Menge des verwendeten Formolambozeptors (0,01 ccm) ohne Komplement das Wachstum nicht gestört hatte, da diese Platte unendlich viele Kolonien zeigte. Die enthaltene Formolmenge übte mithin unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen keinen Einfluß auf die Vibrionen aus. Der Kürze halber sollen im folgenden

| Kontrollserum | | Formolserum | |
|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| Ambozeptormenge | Zahl der Kolonien | Ambozeptormenge | Zahl der Kolonien |
| 0,0000001 ccm | mäßig viele | 0,0000001 ccm | ∞ |
| 0,0000003 " | einzelne | 0,0000003 " | ∞ |
| 0,000001 " | 4 Kolonien | 0,000001 " | ∞ |
| 0,000003 " | einzelne | 0,000003 " | ∞ |
| 0,00001 " | ⊕ | 0,00001 " | mäßig viele |
| 0,00003 " | ⊕ | 0,00003 " | wenige |
| | | 0,0001 " | einzelne |
| | | 0,001 " | ⊕ |
| | | 0,01 " | ⊕ |

nur die betreffenden Mengen des Kontrollserums und Formolserums und die Wachstumsergebnisse wiedergegeben werden, da ja die übrigen Zusätze in allen Röhrchen die gleichen waren.

Das Formolserum hatte circa 1000mal schwächer gewirkt als das Kontrollserum, so daß aus dem Versuche trotz der bekannten Schwierigkeit quantitativer Bestimmungen mittels des Plattenversuches wohl auf eine deutliche Abschwächung des bakteriolytischen Ambozeptors durch das Formol geschlossen werden darf. Dieser Befund ist deshalb bemerkenswert, weil der Ambozeptor sich ja durch große Resistenz gegenüber verschiedenen Einwirkungen auszeichnet.

f) Verhalten verschiedener Antikörper in demselben Serum.

In den bisherigen Versuchen wurden verschiedene Antikörper in ihrem Verhalten zum Formol untersucht. In den folgenden Versuchen wurden mehrere Antikörper desselben Serums nach der Einwirkung von Formol studiert. Ein vom Kaninchen durch Injektion von Hammelblut gewonnenes Immunsrum wurde, wie gewöhnlich, mit 4 pro Mille Formalin versetzt und gleichzeitig mit einer Kontrollprobe auf 4 Tage in den Brutschrank gebracht. Nach dieser Zeit konnten im Kontrollserum hämolytische Ambozeptoren und Agglutinine für Hammelblut nachgewiesen werden. Zur Prüfung der Hämolyse wurde je 1 ccm gewaschenes Hammelblut mit verschiedenen Mengen des Serums versetzt und dann je 0,05 ccm frisches Meerschweinchenserum als Komplement hinzugefügt. 0,01 ccm des Serums bewirkte schon nach 15 Minuten vollständige Lösung, bei 0,001 ccm bedurfte es zur Lösung des Hammelblutes 40 Minuten. Die Agglutinationsprüfung ergab mit 0,02 und 0,01 ccm deutliche Agglutination. In dem mit Formalin versetzten Serum waren selbst in Mengen von 0,1 und 0,2 ccm, innerhalb von 2 Stunden weder Hämolyse noch Agglutination nachweisbar. Bei gleichzeitigem Zusatz entsprechender Mengen Formol zum Kontrollserum trat sowohl Lyse wie Agglutination auf. Das Ergebnis dieses Versuches stimmt mit den beim Pferdeserum erhobenen Befunden überein.

Da wir aus allen unseren bisherigen Versuchen die große Resistenz der antitoxischen Körper gegen Formalin im Gegensatz zu den anderen Antikörpern erkannt hatten, war es für uns von besonderem Werte, Sera zu untersuchen, die sowohl Antitoxin wie einen anderen Antikörper enthielten. Zunächst wählten wir zu diesem Zwecke das bereits mehrfach erwähnte Choleraserum, das sowohl Agglutinine für Cholera-vibrionen als auch ein Antihämotoxin gegen das Blutkörperchengift der El Tor-Vibrionen enthält. Nach der Vorbehandlung mit Formol war das Agglutinin sowie in den früheren Versuchen nicht mehr nachweisbar. Die Abnahme des Antihämotoxins war nur eine geringfügige, denn das Formolserum wirkte nur dreimal schwächer als das Kontrollserum. Der Nachweis wurde auf doppelte Weise geführt, indem sowohl Toxin, Serum und Blut gleichzeitig gemischt, als auch Toxin mit Serum eine halbe Stunde vor Zusatz des Blutes digeriert wurden. Bei letzterer Versuchsanordnung genügten z. B. noch 0,001 ccm des Formolserums, um die Lyse zu verhindern, gegenüber 0,0003 ccm des Kontrollserums, so daß wohl noch beträchtliche Mengen Antihämotoxin vorhanden waren. Ein hemmender Einfluß der hier in Betracht kommenden Formolmengen auf die Lyse konnte vollkommen ausgeschlossen werden.

Endlich haben wir ein Dysenterieserum, das Agglutinin und Antitoxin enthält, mit 4 Prom. Formalin versetzt und 5 Tage bei 30° C gehalten. Nach dieser Vorbehandlung hatte das Serum sein Agglutinin vollständig verloren, während das Kontrollserum in der Verdünnung 1:400 vollständige Ausflockung bewirkte. Der antitoxische Wert unseres Serums betrug 0,5 ccm für 0,4 ccm Toxin bei Mischung in vitro. Die Auswertung erfolgte an ca. 800 g schweren Kaninchen.

Versuch am 23. 11. 11.

| | | |
|-------------------------------|--------|-----------|
| 0,4 ccm Toxin + | | + 24. 11. |
| 0,4 " " + 0,002 ccm Formalin | | + 24. 11. |
| 0,4 " " + 0,008 " " | | + 25. 11. |
| 0,4 " " + 0,5 " Kontrollserum | gesund | |
| 0,4 " " + 0,5 " Formolserum | " | |
| 0,4 " " + 1,0 " " | " | |
| 0,4 " " + 2,0 " " | " | |

Obwohl also das Agglutinin durch die Formolwirkung im Serum verschwunden war, hatte das Antitoxin überhaupt nicht abgenommen.

Diese beiden zuletzt angeführten Versuche mit Cholera- und Dysenterieserum lassen in einwandfreier Weise das verschiedene Verhalten von Agglutinin und Antitoxin gegenüber Formalin erkennen.

g) Niederschlagsmenge und Antitoxingehalt.

Wie wir bei Besprechung der physikalischen Veränderungen des Formolserums erwähnt haben, ist dieses durch Ammonsulfatlösung leichter fällbar als das normale Serum. Wir wollten nun sehen, ob die durch die gleiche Sättigung mit Ammonsulfat entstandene größere Niederschlagsmenge im Formolserum auch mehr Antitoxin enthält als die betreffende des unvorbehandelten Serums. Zu dieser Untersuchung wählten wir wieder das Tetanusantitoxin. Nach der üblichen Vorbehandlung mit Formol betrug der antitoxische des Serums 0,00001 ccm, der des Kontrollserums 0,000003 ccm. Da nach den oben erwähnten Untersuchungen von E. P. Pick das Tetanusantitoxin des Pferdeserums mit der Pseudoglobulinfraktion ausfällt, haben wir folgende Fällungen vorgenommen: Je 5 ccm des 10-fach mit Kochsalzlösung verdünnten Formol- und Kontrollserums wurden mit 3,5, 4,5 und 5 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, welche Mengen 41, 47 und 50-proz. Sättigung entsprechen, zentrifugiert und bis zur vollständigen Klärung der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit stehen gelassen. Es muß bemerkt werden, daß das Absetzen des Niederschlages im Formolserum immer etwas längere Zeit erforderte, als im nicht vorbehandelten Serum. Die Niederschlagsmenge war im formolinisierten Serum ungefähr doppelt so groß wie im Normalserum. Die klaren Abgüsse wurden nun in der üblichen Weise auf ihren Antitoxingehalt ausgewertet.

Versuch am 7. 11. 11.

Normalserum 41-proz. Sättigung.

0,000003 ccm 9. 11. ♂, leichter Tetanus 14. 11., ebenso 20. 11. ♂

0,00001 " bleibt gesund

0,00003 " " "

Normalserum 47-proz. Sättigung.

0,00001 ccm 11. 11. ? 13. 11. leichter Tetanus, wird wieder gesund

0,00003 " bleibt gesund.

0,0001 " " "

0,0003 " " "

0,001 " " "

Normalserum 50-proz. Sättigung.

| | | |
|--------------|-----------------|-----------|
| 0,000003 ccm | 9. 11. Tetanus. | † 10. 11. |
| 0,00001 | „ 9. 11. „ | † 10. 11. |
| 0,00,003 | „ 9. 11. „ | † 11. 11. |
| 0,0001 | „ bleibt gesund | |
| 0,0003 | „ „ „ | |
| 0,001 | „ „ „ | |

Formolserum 41-proz. Sättigung.

| | | | |
|-------------|-----------------------|---------------------------|------------|
| 0,00001 ccm | 11. 11. Spur Tetanus. | 17. 11. schwerer Tetanus. | 17. 11. †. |
| 0,00001 | „ 11. 11. ? | 13. 11. Spur Tetanus, | überlebt. |
| 0,0001 | „ bleibt gesund. | | |

Formolserum 47-proz. Sättigung.

| | | |
|-------------|-----------------|------------|
| 0,00003 ccm | 9. 11. Tetanus. | 10. 11. †. |
| 0,0001 | „ 9. 11. „ | 10. 11. †. |
| 0,0003 | „ 9. 11. „ | 16. 11. †. |
| | bleibt gesund. | |

Formolserum 50-proz. Sättigung.

| | | |
|------------|----------------------------|------------------|
| 0,0003 ccm | 10. 11. Tetanus. | 11. 11. †. |
| 0,001 | „ 10. 11. „ | 17. 11. Tetanus. |
| 0,005 | „ stirbt an Formolwirkung. | |

Kontrolle. 9. 11. Tetanus. 10. 11. †.

Wie sich zeigt, war die in den Abgüssen des Formolserums enthaltene Antitoxinmenge bei gleicher Sättigung mit Ammonsulfat wesentlich geringer als in denen des Normalserums, d. h. also mit anderen Worten, daß der Niederschlag des Formolserums nach gleicher Sättigung mit Ammonsulfat mehr Antitoxin enthält. Der größeren Niederschlagsmenge entspricht also auch ein größerer Antitoxingehalt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Was lehren uns die im Vorherigen angeführten Versuche? Dieser Frage wollen wir uns nun zuwenden, nachdem wir die wesentlichen Ergebnisse unserer Untersuchungen wiedergegeben haben.

Die Einwirkung des Formalins auf das Blutserum hat unter den beschriebenen Versuchsbedingungen zu Veränderungen desselben geführt, die sich schon äußerlich kundgeben und vor allem als physikalische bezeichnet werden dürfen. Es sei hier nur erwähnt die eigentümliche Verfärbung, die Opaleszenz, die Aenderung der Konsistenz, die auch mit einer bedeutenden Steigerung der Viskosität einhergeht. Auf die gestörte Koagulierbarkeit durch Hitze und die geänderten Fällungsverhältnisse wurde ebenfalls schon hingewiesen.

Ueber die chemischen Veränderungen des Eiweißes durch Formalin sind unsere Kenntnisse mehr oder weniger hypothetisch. Sicher ist, daß Formalin von den Eiweißkörpern nach einiger Zeit gebunden wird, wie die Analysenergebnisse der Arbeit von Schwarz zeigen und weil auch kein freies Formaldehyd mehr nachweisbar bleibt. Dagegen sind wir über die Art der Aldehydanlagerung an das Eiweiß noch wenig orientiert. Blum hat die Vermutung ausgesprochen, daß das Formaldehyd, sei es mit Hydroxylgruppen, sei es mit Aminogruppen, unter Wasseraustritt in Reaktion tritt.

Wie Schwarz mit Recht hervorhebt, ist aber damit die Zahl der gegebenen Möglichkeiten keineswegs erschöpft, da der Stickstoff im Eiweißmolekül nur zum Teil in Aminoforn, zum größeren Teil aber in anderer Form vorhanden ist, und da überdies die Anlagerung des Aldehyds auch an ein dem N benachbartes C-Atom der CH_2 -Gruppe erfolgen kann. Auch ist die Zahl der Aldehydgruppen, die sich an eine einzige NH_2 -Gruppe anlagern können, unbestimmt. Auch die SH-Gruppe des Ei-

weißes könnte eine Rolle spielen. Unter den verschiedenen diskutierten Möglichkeiten darf die Anlagerung des Formaldehyds an die Aminogruppen als sicher gelten. Obermayer und Wilhelm haben nämlich in einer nach Abschluß unserer Untersuchungen erschienenen Mitteilung festgestellt, daß bloß die Anlagerung an freie Aminogruppen und die damit verbundene Bildung von Methylenverbindungen eine wesentliche Zunahme der Azidität des Formalineiweißes, welche bereits von Schiff gefunden und von ihnen mittels einwandfreier Methodik nachgewiesen wurde, hervorruft. Denn nach Entfernung der endständigen SH₂-Gruppen bewirkte das Formalin im Gegensatz zu seinem Verhalten gegenüber nativem Eiweiß keine praktisch in Betracht kommende Aziditätszunahme. Neben dieser Anlagerung des Formaldehyds an die Aminogruppen bleiben natürlich noch die anderen erwähnten Möglichkeiten bestehen.

Zur Beurteilung dieser Möglichkeiten hat Schwarz Elementaranalysen der Formol-Eiweißkörper ausgeführt. Ob und wieviel Aldehydgruppen in das Eiweißmolekül eingetreten sind, mußte das Verhältnis zwischen Stickstoff und Kohlenstoff ergeben. Es zeigte sich nun, daß die Zahl der eintretenden Aldehydgruppen mit der Dauer der Einwirkung steigt. Mit diesem chemischen Befund ist die von uns gemachte Beobachtung in Einklang zu bringen, daß bis zum völligen Verschwinden der fällenden Antikörper aus dem Serum eine gewisse Einwirkungszeit des Formalins erforderlich ist. Nach Schwarz dürfte die Anlagerung von Aldehyd mit Abspaltung einer gleichen Anzahl von Wassermolekülen verknüpft sein. Die Analysen zeigen auch, daß außer dem Wasserverlust eine anderweitige Veränderung im Eiweißmolekül nicht stattgefunden hat. Vielleicht kann dieser Wasserverlust in Beziehung gebracht werden mit dem von uns beobachteten Verhalten des Formolserums, das nach Verdünnung mit destilliertem Wasser keinen Eiweißkörper mehr ausfallen läßt.

Hand in Hand mit diesen physikalischen und chemischen Veränderungen des Bluteiweißes gehen wichtige biologische vor sich. Als das wesentlichste Ergebnis unserer Untersuchungen müssen wir nochmals das verschiedene Verhalten der Antikörper hervorheben. Die fällenden und lösenden Antikörper wurden durch das Formalin in ihrer Wirksamkeit so gut wie vollkommen aufgehoben; die antitoxischen wurden dagegen nur wenig oder gar nicht beeinflußt.

Nun könnte man den Einwand erheben, daß gerade unsere antitoxischen Sera, obwohl sie unter denselben Bedingungen wie die anderen gehalten wurden, durch das Formalin noch nicht so stark beeinflußt waren, daß ihre Antikörper unwirksam geworden wären. Darauf können wir erwidern, daß viele unserer antitoxischen Sera schon sehr deutliche Veränderungen, wie Verfärbung, Opaleszenz, Konsistenzänderung zeigten und doch noch Entgiftung in hohen Verdünnungen herbeiführten. Ferner aber können wir gegen diesen Einwand unsere Versuche anführen, bei denen wir in demselben Serum Verlust des Agglutinins bei Wirksamkeit des Antitoxins feststellen konnten. Wir dürfen also zu mindestens behaupten, daß eine solche, durch Formalin erzeugte Veränderung des Serumeiweißes, die genügt, die Funktion, anderer Antikörper aufzuheben, auf das Antitoxin noch keinen wesentlichen Einfluß ausübt. Uebrigens konnten wir bei einem antitoxischen Tetanusserum auch nach mehr als dreimal so langer Zeit, wie sie zur Aufhebung der agglutinierenden Wirkung nötig ist, noch keine merkliche Antitoxinabnahme beobachten. Es sei hier aber nochmals darauf hingewiesen, daß auch nicht alle anti-

toxischen Sera ganz gleich resistent gegenüber dem Formalin waren. Neben solchen, die gar keine Abnahme ihrer Wirksamkeit erkennen ließen, fanden sich auch Sera, deren Antitoxingehalt nach der Formalineinwirkung etwas vermindert war, die Abschwächung war aber im Vergleiche zu den anderen Antikörpern doch nur eine sehr geringe; sie betrug in den von uns untersuchten Fällen nicht mehr als das 5-fache des ursprünglichen Wertes. Andererseits haben wir ein Typhusserum untersucht, das nach 5-tägiger Vorbehandlung mit Formalin in gewissen Konzentrationen noch teilweise Fällung erzeugte. Solche Differenzen in der Resistenz gegen Formalin können nicht wundernehmen und ohne weiteres auf die in der Immunitätslehre hinreichend bekannten individuellen Verschiedenheiten der Sera zurückgeführt werden. Haben wir doch in unserer früheren Arbeit über bakterielle Toxine solche individuelle Differenzen bei verschiedenen Tetanustoxinen gefunden. Gewöhnlich werden diese nach 8—14-tägiger Einwirkung des Formalins völlig entgiftet, wogegen ein anderes Tetanugift selbst nach 31-tägiger Vorbehandlung noch in größeren Mengen toxisch wirkte.

Abgesehen von diesen individuellen Verschiedenheiten einzelner Gifte derselben Art haben unsere früheren Untersuchungen das verschiedene Verhalten bakterieller Toxine gegen Formalin erwiesen. Tetanustoxin wurde völlig, Diphtherietoxin in beträchtlichem Maße, die übrigen untersuchten Toxine wenig oder gar nicht abgeschwächt. Diese Verhältnisse erlauben einen Vergleich mit der bei den Antikörpern beobachteten verschiedenen Formalinresistenz. Aus dem differenten Verhalten der bakteriellen Toxine gegenüber der Formalinwirkung sind wir zu der auch durch andere Beobachtungen gestützten Annahme einer verschiedenen chemischen Beschaffenheit dieser Gifte gelangt. Welche Schlüsse dürfen wir nun aus unseren bei den Antikörpern gemachten Erfahrungen bezüglich deren Natur ziehen?

Nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse müssen wir die Antikörper als Eiweißkörper auffassen. Die gegen die Eiweißnatur der Antikörper vorgebrachten Einwände haben sich als nicht stichhaltig erwiesen und konnten daher auch keine allgemeinere Anerkennung gewinnen. Dagegen sind die für die Eiweißnatur der Antikörper sprechenden Erfahrungen genügend beweiskräftig, und erst in letzter Zeit haben Landsteiner und Prasek durch eingehende Untersuchungen neues Beweismaterial für diese Anschauung erbracht. Nach diesen Autoren sind die Antikörper identisch mit dem Präzipitinogen des Blutsersums. Allerdings machen sie nur einen geringen Teil desselben aus. Auf Grund der Versuche von Kraus und Příbram sowie von v. Eisler und Tsuru müssen wir verschiedene Präzipitinogene im Serum annehmen, da ein bestimmtes Präzipitin trotz Fällung von Eiweiß keinen Antikörperverlust zu erzeugen braucht. Die Verschiedenheit der Präzipitinogene ist für unsere Beobachtungen von größter Wichtigkeit. Wenn man annehmen sollte, daß derselbe Eiweißkomplex verschiedene biologische Funktionen ausübt, so müßte man nach unseren Versuchsergebnissen die Anschauung gewinnen, daß durch die Aldehydisierung des Eiweißmoleküls eine (die antitoxische) Funktion erhalten bleibt, andere (fällende und lösende) verloren gehen. Viel mehr Berechtigung hat aber die Vorstellung für sich, daß die einzelnen Antikörperfunktionen wenigstens zum Teil an verschiedene Eiweißkörper geknüpft sind. In diesem Sinne können z. B. nicht nur die Resistenzverhältnisse der Antikörper gegen physikalische und chemische Einflüsse, sondern auch die Ergebnisse der Adsorptions-

versuche verwertet werden, in denen häufig eine gewisse Trennung verschiedener Antikörper desselben Serums gelungen ist. Auch die schon erwähnten Untersuchungen von E. P. Pick, die sich mit der Reindarstellung der Immunkörper mittels fraktionierter Ammonsulfatfällung beschäftigen, sprechen in dem gleichen Sinne. Wenn wir also für die Ausübung einzelner Antikörperfunktionen verschiedene Eiweißteilchen im Blutserum verantwortlich machen, so müssen wir diesen auch feinste Unterschiede in ihrem komplizierten Aufbau zuschreiben, vermöge derer sie eben befähigt sind, die differenten Fähigkeiten auszuüben. Auf diese Unterschiede läßt sich derzeit nicht mit chemischen Hilfsmitteln, sondern nur mit dem feinsten Reagens, das wir bisher kennen gelernt haben, der Beobachtung der Antikörperfunktionen schließen. Daß es sich dabei um andere Unterschiede handeln muß, als wie sie sich z. B. durch die verschiedene Fällbarkeit mit Ammonsulfat nachweisen lassen, zeigen wieder die Versuche von Pick, nach denen verschiedene Eiweißfunktionen, wenn sie von einer anderen Tierart stammen, dieselbe biologische Funktion ausüben können. Wenngleich diese Fällungsunterschiede demnach nicht für die Antikörperfunktion in Betracht kommen, so wäre es doch sehr gut möglich, daß sie für den Prozeß der Aldehydanlagerung eine Rolle spielen. Hat doch E. Schwarz auf Grund chemischer Analysen gefunden, daß die einzelnen Eiweißkörper bezüglich ihres Aufnahmevermögens für Aldehyde merkliche quantitative Unterschiede zeigen. Eiweißteilchen, die infolge einer bestimmten Anordnung von Atomgruppen gleiche Antikörperfunktionen ausüben, könnten sich mithin infolge des erwähnten Umstandes in ihrem Verhalten gegenüber Formalin bis zu einem gewissen Grade unterscheiden. Berücksichtigt muß noch werden, daß auch nicht bei derselben Tierart immer eine strenge Verteilung der Antikörper auf die einzelnen Eiweißfunktionen stattfindet. So haben von Eisler und Přibram in bisher nicht veröffentlichten Versuchen gefunden, daß im Pferdeserum das Diphtherieantitoxin zuweilen in nicht ganz unbeträchtlicher Menge auch mit dem Euglobulin gefällt wird. Vielleicht lassen sich auf dieses Verhalten zum Teil die von uns beobachteten individuellen Resistenzverhältnisse einzelner Sera gegen Formalin zurückführen.

Nach den Analysen von Schwarz darf man den Schluß ziehen, daß die Eiweißkörper durch den Eintritt des Formalins außer dem Wasserverlust keine weitere chemische Veränderung erleiden, und doch treten, wie wir gesehen haben, so beträchtliche Störungen der biologischen Funktionen als Folge der Aldehydanlagerung auf. Es kann auch keine Schwierigkeiten bieten, sich vorzustellen, daß schon geringe Verschiebungen in der Konstitution des komplizierten Eiweißmoleküls Funktionsstörungen zur Folge haben. Außer den chemischen Befunden sprechen auch biologische Tatsachen dafür, daß das Formoleiweiß nicht weitgehend verändert ist, so das Erhaltensein der Fällbarkeit durch spezifisches Präzipitin und andererseits die Fähigkeit, bei Tieren Präzipitine zu erzeugen, die ebensowohl auf das zur Immunisierung verwendete Formoleiweiß als auch auf normales Serumeiweiß reagieren. Ferner die Tatsache, daß es uns gelungen ist, Tiere mit dem Formoleiweiß für dieses und normales Eiweiß überempfindlich zu machen, und mit normalem Serum präparierte Tiere auch für Formolserum überempfindlich waren. Wir konnten demnach keine solchen Veränderungen des Serums beobachten, wie sie nach der Jodierung auftreten. Denn nach den bekannten Versuchen von Obermayer und Pick hat das jodierte Eiweiß seine Fähigkeit mit

spezifischem Präzipitin, erzeugt mit normalem Serum der entsprechenden Tierart, zu reagieren, verloren, es hat seine Artspezifität eingebüßt und dafür eine Zustandsspezifität erworben. Auch bezüglich der Anaphylaxie verhalten sich die Jodeiweißkörper anders als das Formolserum.

Pick und Yamanoichi geben an, daß der Jodierungsprozeß nicht imstande war, die an dem Phänomen der Anaphylaxie beteiligten Substanzen völlig zu zerstören, jedenfalls aber wurde der Eintritt der Ueberempfindlichkeit erschwert. Auch v. Dungern und Hirschfeld konnten mit jodiertem Serum Meerschweinchen nur unregelmäßig sensibilisieren, wogegen wir mit Formolserum ganz prompte Reaktion erzielen konnten. Aber auch die Antikörper zeigen nach der Jodierung des Serums ein anderes Verhalten als nach der Formalinwirkung. Wenn wir das wesentliche Ergebnis der diesbezüglichen Versuche von v. Dungern und Hirschfeld berücksichtigen, so läßt sich sagen, daß die fällenden Antikörper im jodierten Serum erhalten sind, die lösenden durch Komplement nicht mehr aktiviert werden. Gerade die fällende Eigenschaft der Antikörper verschwindet aber sehr rasch durch die Formolwirkung. Jod und Formol rufen also verschiedene chemische Veränderungen des Eiweißmoleküls hervor, die wieder mit verschiedenen Wirkungen auf die Antikörper verknüpft sind.

Unsere Versuche bieten jedenfalls einen weiteren Anhaltspunkt für die Eiweißnatur der Antikörper und werfen zugleich ein Licht auf die noch dunkeln Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und physikalischem Zustand der Eiweißkörper (mit Rücksicht auf ihre kolloidale Beschaffenheit) einerseits und ihren biologischen Eigenschaften andererseits.

Zusammenfassung der experimentellen Resultate.

Nach dem Zusatz von Formaldehyd zu Blutserum tritt eine Bindung desselben an die Eiweißkörper ein. Dieser Bindungsprozeß verläuft bei höherer Temperatur rascher und dokumentiert sich schon durch äußerliche Veränderungen des Serums. Dieses nimmt häufig eine grünliche Färbung an, wird opaleszierend und dickflüssig. Bezüglich der Stärke dieser Merkmale wurden individuelle Verschiedenheiten der einzelnen Sera beobachtet.

Außer diesen schon äußerlich merkbaren Veränderungen wird das Formolserum leichter fällbar durch Ammonsulfat und auch durch spezifisches Präzipitin, wogegen die Fällung nach Verdünnung mit Aqua destillata nicht mehr auftritt.

Alle beschriebenen Veränderungen treten schon nach einem Zusatz von 2—4 Prom. Formalin auf.

Die Antikörper des Blutserums wurden durch das Formalin in folgender Weise beeinflusst:

Die Antitoxine (Tetanus-, Diphtherie-, Dysenterie-, Antihämotoxin gegen El Tor-Gift) blieben erhalten oder wiesen eine nur geringe Abschwächung auf. Die lytischen Antikörper (bakteriolytischer und hämolytischer Ambozeptor) hatten stark abgenommen oder waren ganz verschwunden, ebenso war die fällende Funktion der Agglutinine und Präzipitine nicht mehr nachweisbar.

Das Eiweiß des Formolserums wird durch spezifisches Präzipitin gefällt und besitzt auch die Fähigkeit, Präzipitin im Tierkörper zu erzeugen. Dieses Präzipitin wirkt ebensogut auf normales wie auf Formolserum, so daß eine Zustandsspezifität, wie sie für das jodierte Serum nachgewiesen wurde, nicht besteht. Ferner ist das Formoleiweiß auch in stärke, Meerschweinchen für nachträgliche Injektionen von normalem oder Formolserum überempfindlich zu machen, andererseits bei mit normalem Serum präparierten Tieren Anaphylaxie auszulösen.

Trotzdem das Serum durch Formalin in der Hitze ungerinnbar wird, wurde schon durch kurzes Kochen das Antitoxin zerstört.

Der im Formolserum bei gleicher Sättigung mit Ammonsulfat im Vergleiche zum Normalserum auftretenden größeren Niederschlagsmenge entspricht auch ein vermehrter Antitoxingehalt.

Literatur.

- Benechicenti, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 31.
 Blum, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 22.
 Dehne u. Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1904.
 v. Dungern u. Hirschfeld, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1911.
 v. Eisler u. Löwenstein, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911.
 v. Eisler u. Tsuru, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6. 1910.
 Freund u. Joachim, Zeitschr. f. phys. Chem. 1902.
 Kraus u. Pfibram, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905.
 Landsteiner u. Prasek, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1911.
 Löwenstein, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 48 u. 62.
 Obermayer u. Pick, Wien. klin. Wochenschr. 1904.
 Obermayer u. Wilhelm, Biochem. Zeitschr. Bd. 38. 1912.
 Pick, E. P., Hofmeisters Beitr. Bd. 1.
 Pick u. Yamanouchi, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 1. 1908.
 Schwarz, Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 31. 1901.

Nachdruck verboten.

Studien über die Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel

Ein Beitrag zu den Beziehungen zwischen chemischer Konstitution
und physiologischer Wirkung.

[Aus dem Königl. Hygienischen Institut der Universität Breslau.]

Von Dr. phil. Hans Regenstein.

Makro- und Mikroorganismen haben das Gemeinsame, daß sie sich schädlich wirkenden Stoffen bis zu einem gewissen Grade anzupassen vermögen. Schon seit alter Zeit ist es bekannt, daß Menschen, die dauernd kleine Mengen von Giften, wie z. B. Opium oder Arsen, zu sich nehmen, schließlich Dosen hiervon vertragen können, die beim normalen Menschen die schwersten Schädigungen, ja den Tod hervorrufen. Auch bei Tieren und Pflanzen hat man eine Anpassung an schädliche Momente festgestellt. Am augenfälligsten zeigt sich diese Erscheinung bei Bakterien, die sich, wie von vielen Forschern beobachtet wurde, bis zu einem gewissen Grade sogar an Desinfizientien gewöhnen lassen.

Die erste Mitteilung hierüber dürfte von Kossiakoff herrühren. Mikroorganismen, die lange Zeit hindurch in einer Fleischbrühe unter Zusatz geringer Mengen eines Antiseptikums gezüchtet waren, wurden erst durch höhere Dosen desselben Mittels getötet als normalerweise. Diese Untersuchungen veranlaßten Trambusti, bei einigen Bakterienarten (Milzbrand, Schweinerotlauf, Hühnercholera, dem Friedländerschen Pneumobacillus und *Staphylococcus pyogenes aureus*) in systematischer Weise eine Gewöhnung an Sublimat zu versuchen. Dabei stellte sich ein großer Unterschied zwischen den verschiedenen Arten heraus. Der Friedländersche Bacillus konnte an die 7,5-fache Menge Sublimat gewöhnt werden. Bei Hühnercholera dagegen schlugen alle Anpassungsversuche fehl. Die übrigen Bakterien zeigten intermediäre Verhältnisse.

Danysz, Ruppel und Marks konnten eine Gewöhnung an Arsen, Altmann und Rauth u. a. an Phenol beobachten.

Ferner gelang Masson eine Anpassung an Sublimat, Kupfersulfat, Resorcin und Salicylsäure. Auffallend ist die von ihm gemachte Beobachtung, daß die so erworbene Resistenz ohne erkennbare Ursache nach einiger Zeit zurückging und sogar in einzelnen Fällen einer gewissen Ueberempfindlichkeit Platz machte.

Von ganz besonderem Interesse sind die bahnbrechenden chemotherapeutischen Untersuchungen P. Ehrlichs über die Gewöhnung von Trypanosomen an Chemikalien. Ehrlich behandelte ein mit Trypanosomen infiziertes Tier mit Atoxyl und erzielte dadurch ein vorübergehendes Verschwinden der Parasiten aus dem Blut, nach einiger Zeit aber kehrten sie wieder. Wurde der Versuch mehrmals wiederholt, so zeigte sich die gleiche Erscheinung, jedoch mit dem Unterschied, daß die Intervalle zwischen dem Erscheinen der Parasiten immer kürzer wurden. Schließlich verschwanden die Trypanosomen überhaupt nicht mehr. Sie waren arsenfest geworden, und das Tier ging zugrunde. Das Bemerkenswerte war nun, daß dieser Trypanosomenstamm auch bei zahlreichen Tierpassagen die Arsenfestigkeit behielt und vor allem, daß er sich auch gegenüber den meisten anderen arsenhaltigen Präparaten als resistent erwies. In entsprechender Weise konnte auch ein gegen Fuchsin und verwandte Präparate spezifisch fester Stamm, ferner ein solcher gegen Trypanrot und dessen Verwandte erzielt werden. Bei diesen Versuchen wurde zuweilen ein plötzliches Nachlassen der Giftfestigkeit der Trypanosomen, ja sogar gelegentlich eine ausgesprochene Ueberempfindlichkeit beobachtet. Eine analoge Erscheinung wurde, wie bereits erwähnt, von Masson auch bei Bakterien beobachtet. Aus den Ehrlichschen Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß bei Trypanosomen eine tiefgreifende Beziehung zwischen der Wirkung und der chemischen Struktur bestimmter Desinfizientien besteht.

Auch bei den Bakterien sind bereits einzelne analoge Erfahrungen gemacht worden. Marks berichtet, daß es ihm im Laufe von 3 Jahren gelungen sei, einen Paratyphusstamm an die 8-fache Dosis arseniger Säure zu gewöhnen, und daß dieser arsenfeste Stamm auch gegenüber Antimon eine erhöhte Resistenz aufgewiesen habe, die merkwürdigerweise sogar das 40-fache im Vergleich zum Ausgangsstamm betragen habe.

Sehr interessant ist auch die Beobachtung von Altmann und Rauth, daß ein Colistamm, der an Phenol angepaßt war, nicht mehr durch ein Immunserum beeinflußt wurde, welches auf den Ausgangsstamm spezifisch wirkte.

Es scheint daher, als ob auch die Bakterien durch Gewöhnung an bestimmte Desinfektionsmittel in der chemischen Struktur ihres Protoplasmas eingreifend modifiziert würden. Dieser theoretisch sehr interessanten und auch praktisch wohl nicht ganz bedeutungslosen Frage bin ich auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. R. Scheller näher getreten.

Die Aufgabe bestand also zunächst darin, Bakterienstämme zu züchten, die einem bestimmten Desinfektionsmittel gegenüber eine größere Resistenz als der Ausgangsstamm aufwiesen. Von den Desinfektionsmitteln wählte ich Sublimat und Phenol. Von den Bakterien *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus coli* und *Bacillus typhi*.

Bei der Wahl des Nährbodens mußte in erster Linie darauf Rücksicht genommen werden, daß das Wachstum so üppig wie möglich war, da ja die Lebensbedingungen für die Bakterien durch Zusatz des Desinfektionsmittels ungünstiger wurden. Ferner war es wünschenswert, daß Sublimat und Phenol durch den Nährboden keine chemischen Veränderungen erlitten. Leider ließ sich nicht beides vereinigen. Das relativ beste Resultat gab Bouillon, in der die Bakterien außerordentlich üppig gediehen und die mit Sublimat und Phenol, wenigstens bei den in Betracht kommenden Verdünnungen, keine Trübung zeigte. Allerdings wäre es falsch, daraus zu folgern, daß das Sublimat und Phenol tatsächlich unverändert geblieben wäre. Aus dem Sublimat dürften sich zweifellos wegen des in der Bouillon vorhandenen Kochsalzes Alkalidoppelsalze gebildet haben.

Wie Krönig und Paul nachwiesen, vermindert nun Kochsalz die Wirkung des Sublimats recht erheblich, wenn es sich um relativ starke Sublimatlösungen handelt, während es andererseits das Phenol in seiner Wirkung verstärkt. Dagegen ist, wie später von Paul gezeigt wurde, schon in der gebräuchlichen Sublimatlösung 1:1000 eine derartige Wirkung kaum noch nachweisbar. Da es sich bei meinen Versuchen stets um weit schwächere Sublimatlösungen handelte, brauchte ich auf den Kochsalzgehalt keine Rücksicht zu nehmen.

Weit bedenklicher war der Umstand, daß Sublimat durch die reduzierende Wirkung der Bouillon, worauf ich noch zurückkommen werde, allmählich in Calomel verwandelt wurde. Diese Fehlerquelle konnte nur dadurch auf ein Minimum reduziert werden, daß stets unter möglichst gleichen Bedingungen gearbeitet wurde.

Bei meinen Versuchen benutzte ich zur Bereitung der Bouillon nicht Pferdefleisch, sondern Rindfleisch, einerseits wegen des geringeren Gehaltes an Glykogen, dann, weil es wegen des stärkeren Konsums eine größere Garantie für gleiches Alter und insofern für gleichmäßige Beschaffenheit zu bieten schien. Das von Fett und Sehnen befreite Fleisch wurde in einer Hackmaschine zerkleinert, gewogen und in einem geräumigen emaillierten Topf mit der doppelten Gewichtsmenge destillierten Wassers angerührt. Das Ganze wurde dann mit einem Deckel bedeckt und für 24 Stunden in den Eisschrank gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das Gemisch durch ein angefeuchtetes Tuch koliert und so stark aufgepreßt, daß etwa 2—3 Proz. mehr Flüssigkeit erhalten wurde, als Wasser zugegeben war. Der Ueberschuß ist durch den Fleischsaft bedingt. Das so erhaltene Fleischwasser wurde mit 1 Proz. Pepton. sicc. Witte und 0,5 Proz. Kochsalz versetzt und $\frac{5}{4}$ Stunden in strömenden Dampf gestellt. Sodann wurde die siedend heiße Flüssigkeit durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert, und zwar in der Weise, daß das ausgeschiedene Eiweißgerinnsel erst zuletzt auf das Filter

gebracht wurde. Das Filtrat, das infolge der vorhandenen Säure (Aethylidenmilchsäure, Spuren von Ameisensäure, Essigsäure u. a.) sauer reagierte, wurde zunächst mit je 20 ccm $\frac{1}{1}$ Normalnatronlauge pro Liter, einer empirisch gefundenen Menge, versetzt und noch einmal aufgeköcht. Der dabei entstehende Niederschlag, der im wesentlichen aus Calciumphosphaten bestand, wurde abfiltriert und im Filtrat die Acidität gegenüber Phenolphthalein bestimmt. Zu diesem Zweck wurde eine kleine Menge der Bouillon in kaltem Wasser auf 15°, d. i. auf die Eichungstemperatur der gebräuchlichen Meßapparate abgekühlt. Von der abgekühlten Bouillon wurden 10 ccm mit 50 ccm frisch ausgekochtem, noch heißem destillierten Wasser versetzt, zum Sieden erhitzt und genau 3 Minuten gekocht, um vorhandene Kohlensäure zu entfernen. Alsdann wurde der Kolben in Eiswasser möglichst stark abgekühlt und nach Zusatz von 3—4 Tropfen einer 1-proz. Phenolphthaleinlösung gegen $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge titriert. Die Bouillon zeigte dann meist einen Säuregehalt von etwa 2—3 ccm Normalsäure pro Liter. Durch Zusatz von $\frac{1}{1}$ Normalsalzsäure wurde eine Acidität von 5 ccm Normalsäure pro Liter hergestellt, da diese, wie weiter unten ausgeführt werden wird, am zweckmäßigsten erschien. Die saure Reaktion gegenüber Phenolphthalein ist bedingt durch sekundäre Phosphate, wie aus dem Verhalten gegen Lackmuspapier hervorgeht, das nicht rot, sondern blau gefärbt wird.

Die Herstellung der Desinfektionslösungen erfolgte nach dem Vorschlage von Krönig und Paul in der Weise, daß denselben das Molekulargewicht zugrunde gelegt wurde. Die Konzentration gibt danach diejenige Menge Flüssigkeit an, welche ein Grammolekül der betreffenden Substanz enthält. Als Stammlösung benutzte ich bei Phenol eine Lösung von 2 Litern; d. h. in 2 Litern Flüssigkeit ist 1 Grammolekül Phenol, also 94 g bzw. in 1 Liter 47 g (= 51,7 g Acid. carbol. liq.) gelöst. Bei Sublimat benutzte ich eine Stammlösung von 100 Litern (Sublimat 2,71 Aq. dest. ad 1000 ccm). Von diesen beiden Stammlösungen wurden dann die beiden Verdünnungen angelegt. Zur Aufbewahrung dienten 75-g-Flaschen mit Glasstöpsel. Diese wurden mit Pergamentpapier fest überbunden, um ein Hineingelangen von Staub zu vermeiden und um einen Flüssigkeitsverlust infolge der Sterilisation zu verhindern. Die Phenollösungen wurden nur einmal unmittelbar nach ihrer Darstellung sterilisiert, da sie den Bouillonröhrchen vor der Sterilisation zugesetzt werden konnten. Dagegen wurden die Sublimatlösungen vor jedesmaligem Gebrauch sterilisiert, da ihr Zusatz erst nach der Sterilisation der Bouillonröhrchen erfolgen konnte (vgl. Tab. III u. IV). Um eine Zersetzung der Lösungen nach Möglichkeit zu verhindern, wurden alle Flaschen im Dunkeln aufbewahrt.

Bevor mit der Anpassung der Bakterien an Sublimat und Phenol begonnen wurde, schien es mir von Wichtigkeit, das Optimum der Acidität zu ermitteln. Es wurde deshalb Bouillon auf verschiedenen Säure-, bzw. Alkaligehalt eingestellt, in Reagensgläser gefüllt und dann bei steigendem Sublimat- und Phenolgehalt die Wachstumsgrenze ermittelt, d. h. jene Konzentration, bei der noch gerade Wachstum eintrat. Um eine Aenderung der Acidität während der Versuche nach Möglichkeit zu verhindern, wurden nur Gläser aus Jenaer Glas benutzt, da es sich herausstellte, daß alle übrigen Gläser beim Kochen mit Wasser erhebliche Mengen Alkali abgaben. Auch durch mehrtägiges Liegen in konzentrierter Salzsäure ließ sich dasselbe nicht entfernen. Die Gläser

wurden sorgfältig gereinigt, mit Watte gestopft und in trockenem Zustande sterilisiert, nicht so sehr um die Gläser zu sterilisieren, denn dazu würde ja auch die nach der Abfüllung mit Bouillon an drei aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommene $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung in strömendem Wasserdampf genügt haben, als vielmehr deshalb, weil durch die Erhitzung der trockenen Gläser der Wattebausch fester wird, was das darauf folgende Abfüllen außerordentlich erleichtert. Der Zusatz des Desinfektionsmittels zur Bouillon erfolgte derart, daß je 9 ccm Bouillon mit 1 ccm Sublimat- bzw. Phenollösung versetzt wurden, so daß letztere also um das Zehnfache verdünnt wurde. Als Kriterium des Wachstums diente das Trübwerden der Bouillon durch Bakterien. In Phenolbouillon findet sich das beste Wachstum bei einer Acidität von 6 ccm $\frac{1}{1}$ Normal-säure pro Liter (Tab. I, s. p. 290), bei Sublimat dagegen beim Phenolphthalein-Neutralpunkt, d. h. bei der Acidität 0 (Tab. II, s. p. 290). Auffallend ist, daß das Wachstum in Sublimatbouillon bei der Acidität 0 und in alkalischer Lösung schon nach 24 Stunden sichtbar ist, während es bei höherer Acidität erst nach 48 Stunden beobachtet werden kann. Die Ursache dürfte darin zu erblicken sein, daß das Sublimat beim Phenolphthalein-Neutralpunkt infolge vorhandener OH-Ionen teilweise in unlösliche und daher unwirksame basische Verbindungen übergeführt ist. Wengleich nun das Optimum nicht einheitlich war, so glaubte ich doch bei meinen Versuchen keine allzu große Rücksicht darauf nehmen zu brauchen, handelte es sich doch immer nur darum, die Bakterien an ein Vielfaches von Sublimat und Phenol zu gewöhnen. Ich wählte für alle Versuche, wie bereits bei der Herstellung der Bouillon erwähnt, die Acidität 5. Ausschlaggebend waren für mich die Verhältnisse in Phenolbouillon, und zwar wählte ich die Acidität etwas unterhalb des Optimums, weil durch Absorption von Kohlensäure aus der Luft eine kleine Steigerung zu erwarten war. Das Optimum der Acidität in Sublimatbouillon zu wählen oder auch nur bis in die Nähe desselben zu gehen, schien mir bedenklich, da jeder unnötige Zusatz von Alkali die Bildung unlöslicher Quecksilberverbindungen begünstigen mußte.

Zur Technik der Herstellung von Phenolbouillon sei noch erwähnt, daß es ziemlich gleichgültig ist, ob der Phenolzusatz vor oder nach der Sterilisierung der Bouillonröhrchen im strömenden Dampf erfolgt (vgl. Tab. III, s. p. 291). Ich konnte deshalb stets eine größere Zahl der in Betracht kommenden Konzentrationen von Phenolbouillon vorrätig halten. Ganz anders verhielt sich Sublimatbouillon. Hier zeigte sich eine deutliche Schwächung in der Wirkung des Sublimats, wenn dasselbe zusammen mit der Bouillon sterilisiert worden war (vgl. Tab. IV, s. p. 291). Offenbar war durch das Erhitzen das Sublimat mehr oder weniger verändert worden. Aus diesem Grunde mußte von einem Vorrätighalten von Sublimatbouillon abgesehen werden.

Nach diesen obigen orientierenden Versuchen wurde mit der Anpassung an Sublimat und Phenol begonnen. Da die Verhältnisse bei der Gewöhnung an Phenol weit einfacher liegen als bei Sublimat, will ich erst auf jene eingehen. Von dem Gedanken ausgehend, daß es zweckmäßig sein würde, die Bakterien zunächst bei einer schwächeren Konzentration, als der Wachstumsgrenze entspricht, wachsen zu lassen, brachte ich jede der drei Arten (*Staphylococcus*, *Coli* und *Typhus*) in eine 70-literige Phenolbouillon und ließ sie mehrere Tage bei je 24-stündiger Ueberimpfung bei dieser Konzentration wachsen.

Erst dann impfte ich die Bakterien in allmählich immer stärker werdende Konzentrationen. Die Ueberimpfung erfolgte mit einer oo-förmigen Platindoppelöse von 4 mm Durchmesser und 0,5 mm Drahtdicke anfangs alle 24, später alle 48 Stunden. Es wurde diejenige Kultur, die jeweilig am meisten Phenol enthielt, erstens auf eine gleich starke und zweitens auf eine etwas stärkere Konzentration überimpft. Die Steigerung der Konzentration erfolgte anfänglich um je 2,5, später um je 1,25 Liter. Außerdem wurden 2 Kulturen von schwächerer Konzentration auf gleich starke Phenolbouillon weiter geimpft, die als Reserve dienten für den Fall, daß das Wachstum bei der höheren Konzentration aus irgendwelchem Grunde einmal aussetzen sollte.

Der Verlauf der Gewöhnung bietet nichts Abnormes. Es sei nur noch erwähnt, daß die Bouillon stets erst einige Tage nach ihrer Herstellung beimpft wurde, da sich herausstellte, daß die Wachstumsgrenze in den ersten Tagen inkonstant ist. Auch Altmann und Rauth beobachteten diese Erscheinung, die übrigens wohl nicht nur mit dem Alter der Bouillon, sondern auch des verwendeten Fleisches in Verbindung steht. Etwa alle 4 Tage wurde die Staphylococcus-Kultur auf gewöhnlichem und auf Blutagar, die Coli- und Typhuskultur auf Endo-Agar ausgestrichen, um ihre Reinheit festzustellen. Dabei ergab sich, daß die Farbstoffbildung von Staphylococcus pyogenes aureus durch das Wachstum in Phenolbouillon stetig abnimmt.

Die größte Anpassungsfähigkeit zeigte Staphylococcus pyogenes aureus, der nach ca. 2½ Monaten die 1,7-fache Dosis der ursprünglichen Phenolmenge vertragen konnte. Coli hatte sich nur an die 1,3-fache und Typhus an die 1,2-fache Menge gewöhnt. Uebrigens zeigten die letzten beiden nur in den ersten 6 Wochen eine Zunahme der Anpassung, während dieselbe bei Staphylococcus beständig wuchs.

Der an Phenol gewöhnte Staphylokokkenstamm wurde nun bezüglich seiner Resistenz gegenüber anderen Desinfektionsmitteln mit dem Normalstamm verglichen. Dabei stellte sich heraus, daß derselbe auch gegen Verbindungen, die dem Phenol chemisch sehr nahe stehen, wie: Kresol (Tab. VI), Kresolseifenlösung (Tab. VII), Zinc. sulfocarboicum (Tab. VIII), eine entsprechend größere Resistenz erworben hatte. Gegenüber den zweiwertigen Phenolen Resorzin und Hydrochinon (Tab. IX u. X), ferner gegenüber salicylsaurem Natrium, Formaldehyd, Methyl- und Aethylalkohol (Tab. XI—XIV) war keine oder doch nur eine sehr geringe Differenz gegenüber den Originalstämmen vorhanden.

Bei den Versuchen mit flüchtigen Desinfektionsmitteln wurden die Reagensgläser luftdicht verschlossen. Zu diesem Zwecke wurden die Wattebüsche abgebrannt, in das Glas hineingeschoben und auf den erwärmten Rand des Röhrchens ein Stückchen Guttapercha fest aufgedrückt.

In denjenigen Fällen, wo die Bouillon schon an sich durch Zusatz des Desinfektionsmittels getrübt wurde, wie bei Kresolseifenlösung und Zinc. sulfocarboicum, wurde das Wachstum nach der von R. Kobert empfohlenen Methode nachgewiesen¹⁾. Zu diesem Zwecke war vor der

1) Das Auftreten von Schwefelwasserstoff bei der Zersetzung von Milch wurde bekanntlich von Heffter und Hausmann auf Bakterien zurückgeführt. Die Anwendung dieser Beobachtung als Kriterium für Bakterienwachstum geschah im R. Kobertschen Institut durch Brüning und K. Kobert.

Sterilisation der Bouillon eine Spur Schwefel zugefügt worden, und nach Zusatz des Desinfektionsmittels und erfolgter Beimischung ein mit Bleiacetat getränkter Streifen Filtrierpapier zwischen den Wattebausch eingeklemmt worden. Tritt Wachstum ein, so bilden die Bakterien aus dem Schwefel Schwefelwasserstoff, der das Bleiacetatpapier schwärzt.

Der an Phenol gewöhnte Staphylokokkenstamm wurde auch auf Vererbung seiner neu erworbenen Eigenschaft geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß die Resistenz gegen Phenol erhalten blieb, wenn der Stamm im Brutschrank 14 Tage lang auf reinem Agar bei 2-tägiger Ueberimpfung fortgezüchtet wurde, und selbst dann noch, wenn er weitere 8 Tage auf Agar bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde.

Ganz anders als in Phenolbouillon verhielten sich die Bakterien gegenüber Sublimatbouillon. Es zeigte sich, daß das Wachstum hier im Laufe der Zeit anstatt vorwärts rückwärts ging. Da ich die Ursache für diese Erscheinung zunächst in der Absorption von Kohlensäure aus der Luft vermutete, untersuchte ich den Einfluß derselben auf das Bakterienwachstum in Sublimatbouillon. Es zeigte sich in der Tat, daß das Wachstum in diesem Falle bedeutend schlechter war, denn während in der kohlenstofffreien Bouillon noch bei etwa 1:30000 Wachstum war, lag die Grenze in der kohlenstoffhaltigen bei etwa 1:70000. Der Versuch wurde in der Weise angestellt, daß etwa 300 ccm Bouillon mit Kohlensäure gesättigt, in Röhrchen gefüllt und 3mal in der üblichen Weise sterilisiert wurden. Nach jeder Sterilisation wurden die Gläser unter einer Glasglocke, die unten mit Plastilin auf einer Glasscheibe verkittet war, und in die von oben durch eine Oeffnung Kohlensäure geleitet wurde, abgekühlt. Nach Zusatz der Sublimatlösung wurden die Gläser abermals 2 Stunden in Kohlensäure gebracht. Die Kontrollröhrchen wurden nach jeder Sterilisation ebenfalls unter eine Glasglocke gebracht, unter der sich, um vorhandene Kohlensäure zu absorbieren, ein Gefäß mit konzentrierter Natronlauge befand. Wengleich der Einfluß der Kohlensäure auf das Wachstum in Sublimatbouillon recht erheblich ist, so scheinen doch auch noch andere Faktoren bei dem Rückgang der Wachstumsgrenze mitzuwirken. Wäre die Absorption von gasförmiger Kohlensäure die alleinige Ursache für das allmählich schlechter werdende Wachstum, so müßte die Wachstumsgrenze auch dann konstant bleiben, wenn der Zutritt von Kohlensäure nach dem Sterilisieren der Bouillonröhrchen in der oben beschriebenen Weise verhindert wird, da infolge der Sterilisation etwa vorhandene Kohlensäure entweicht. Dies war jedoch nur dann der Fall, wenn die Vorratsbouillon luftdicht, d. h. mit einer Gummikappe verschlossen aufbewahrt wurde. Im anderen Falle ging das Wachstum ebenfalls zurück.

Damit war erwiesen, daß die Kohlensäure nicht die alleinige Veranlassung für das Rückwärtsgehen der Wachstumsgrenze sein konnte. Die Ursache dürfte in erster Linie in einer chemischen Veränderung der Bouillon, und zwar in einer Verminderung der reduzierend wirkenden Stoffe zu suchen sein. Diese Veränderung wird offenbar durch Luftzufuhr beschleunigt, durch Luftabschluß dagegen gehemmt oder wenigstens verzögert. Daß Bouillon schwach reduzierende Eigenschaften hat, ergibt sich aus einer Prüfung mit Nylanders Reagens. Mischt man dasselbe mit gleichen Teilen Bouillon und erhitzt einige Stunden im strömenden Dampf, so wird der ursprünglich weiße Niederschlag (Calciumphosphate) durch Beimischung von Reduktionsprodukten des Wismut-

salzes fast schwarz. Die reduzierende Wirkung dürfte hauptsächlich durch d-Glykose bedingt sein, die bekanntlich nach dem Tode der Tiere aus dem stets vorhandenen Glykogen entsteht. Es ist wohl anzunehmen, daß durch das lange Erhitzen der sauer reagierenden Bouillon diese Umwandlung quantitativ geworden ist.

Bei der Gewöhnung an Sublimat fiel ferner auf, daß das Wachstum ganz erheblich besser war, wenn die mit Sublimatlösung gemischte Bouillon vor der Impfung bereits einige Zeit im Brutschrank bei 37° C gestanden hatte. Während bei einem diesbezüglichen Versuch in der unmittelbar vor der Beimpfung mit Sublimatlösung versetzten Bouillon das Wachstum schon bei einer Verdünnung von etwa 1:110000 aufhörte, zeigte sich in der Bouillon, die nach ihrer Mischung mit Sublimatlösung bereits 2 Tage im Brutschrank gestanden hatte, noch bei einer Konzentration von etwa 1:10000 Wachstum. Die gleiche Erscheinung wurde, wie bereits erwähnt, beobachtet, wenn die Bouillon erst nach Zusatz der Sublimatlösung sterilisiert wurde (Tab. IV).

Alle diese Erscheinungen, auch der Umstand, daß die Wachstumsgrenze des Normalstammes in reiner Bouillon sehr erheblich schwankte, dürften auf reduzierend wirkende Substanzen zurückzuführen sein. Ihre allmähliche Oxydation an der Luft erklärt die Abnahme der Wachstumsgrenze, denn je weiter die Oxydation fortschreitet, um so weniger kann das Sublimat reduziert werden, um so stärker ist also seine Wirkung. Ferner wird sofort klar, warum das Wachstum so außerordentlich viel üppiger ist, bzw. die Wirkung des „Sublimats“ so viel schwächer, wenn die Beimpfung erst erfolgt, nachdem die Bouillon längere Zeit auf das Sublimat hatte einwirken können. Die gleichen Stoffe sind also das eine Mal die Ursache für schlechteres, das andere Mal für besseres Wachstum.

Auf Vorschlag des Herrn Prof. Dr. Scheller untersuchte ich auch das Wachstum in Bouillon, die aus angefaultem Fleisch bereitet war, war doch zu erwarten, daß durch die Fäulnis die reduzierend wirkenden Substanzen unschädlich gemacht würden. In der Tat zeigte sich, daß die Wirkung des Sublimats erheblich stärker wurde, und vor allem, daß der Unterschied des Wachstums in Sublimatbouillon, die einerseits sofort nach dem Sublimatzusatz und andererseits erst nach 48-stündiger Aufbewahrung bei 37° C beimpft wurde, weit geringer war als in Bouillon, zu deren Herstellung frisches Fleisch verwendet war.

Von großem Einfluß auf das Wachstum erwies sich auch die Menge der überimpften Bakterien. Wie Tabelle XV zeigt, steigt die Wachstumsgrenze mit der Menge der Einsaat, doch werden die Differenzen um so kleiner, je größer die Einsaatmenge ist, um schließlich ganz zu verschwinden. Ueberschreitet die Einsaatmenge eine gewisse Größe — ein Minimum — so ist kein Unterschied mehr vorhanden. Dieses Minimum betrug bei einem diesbezüglichen Versuch 120 Millionen. Da jedoch die Wachstumsgrenze stets vom Alter der Bakterienkultur, der Bouillon und auch des verwendeten Fleisches abhängt, so ist obige Zahl nur eine relative. Daß die Zahl der Bakterien bei der Wirkung von Desinfizientien eine gewisse Rolle spielt, ist übrigens schon von Abbott, Almqvist u. a. betont worden. Diese Erscheinung dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die Bakterien das Desinfektionsmittel chemisch verändern. Es handelt sich also bei der Einwirkung des Desinfektionsmittels um eine wechselseitige Wirkung. Bei einem Desinficiens, das

sich leicht zersetzt, wie Sublimat, spielt die Zahl demzufolge eine relativ große Rolle, bei anderen beständigeren Mitteln, wie Phenol, ist ihr Einfluß von nur geringerer Bedeutung, doch läßt sich naturgemäß durch größere Einsaat ein schnelleres Wachstum erzielen. Hierdurch erklärt es sich auch, daß, wenn in Sublimatbouillon überhaupt Wachstum eintritt, dies im Gegensatz zu Phenolbouillon in kurzer Zeit außerordentlich üppig ist. Offenbar verbessern die Bakterien ihre Lebensverhältnisse, indem sie das Sublimat in Kalomel verwandeln. Daß in der Tat alle 3 Arten reduzierend wirken, wurde dadurch erwiesen, daß zugefügter Schwefel zu Schwefelwasserstoff reduziert wurde.

Es sind bei der Gewöhnung an Sublimat also drei Faktoren zu berücksichtigen, die bei der Gewöhnung an Phenol nur eine untergeordnete Rolle spielen. Erstens muß die fertige Bouillon vor der Einwirkung von Luft und Kohlensäure geschützt werden. Die Vorratsbouillon kann mit einer einfachen Gummikappe verschlossen werden. Die abgefüllten Bouillonröhrchen werden zweckmäßig in der oben beschriebenen Weise aufbewahrt. Zweitens darf das Sublimat erst unmittelbar vor der Beimpfung der Bouillon zugesetzt werden und drittens muß die Einsaatmenge so groß wie möglich gewählt werden. Die Ueberimpfung erfolgte deshalb mit einem Platindraht, der vier hintereinander befindliche Oesen oooo— von je 4 mm Durchmesser besaß. Hierdurch ward es möglich, aus einer Bouillon mit gutem Wachstum weit über 120 Millionen Keime auf einmal zu entnehmen.

Die Weiterimpfung wurde jeden dritten Tag vorgenommen, und zwar in der Weise, daß diejenige Kultur, bei der noch gerade Wachstum eingetreten war, erstens auf eine Sublimatbouillon von gleicher Stärke, zweitens auf zwei schwächere und drittens auf eine stärkere Konzentration überimpft wurde. Die Konzentration wurde bis zu 10000 Liter (etwa 1:40000) um je 1250 Liter, sodann nur noch um je 500 Liter gesteigert (also 12500, 11250, 10000, 9500, 9000 usw.).

Die Größe der Anpassung ist aus der Tabelle XVI ersichtlich. Das Verhältnis der Resistenz des Sublimatstammes zum Normalstamm beträgt bei *Staphylococcus pyog. aur.* 1,3, bei *Coli* 1,6 und bei Typhus 1,5. Allem Anschein nach läßt sich die Gewöhnung noch weit fortsetzen, wenigstens spricht der Umstand dafür, daß die Wachstumsgrenze bei Innehaltung der oben erwähnten Kautelen in durchaus gleichmäßiger Weise anstieg.

Der an Sublimat gewöhnte Staphylokokkenstamm wurde nun auch auf seine Resistenz gegenüber Quecksilberbromid und Quecksilbercyanid geprüft. Wie in Analogie zu dem phenolfesten Stamm zu erwarten war, stellte es sich heraus, daß er auch diesen Stoffen gegenüber entsprechend resistenter war als der Normalstamm (Tab. XVII u. XVIII).

Bezüglich sämtlicher Einzelheiten meiner Versuche muß auf die am Schluß folgenden Tabellen verwiesen werden, insbesondere auf Tabelle XIX. Kurz zusammenfassend möchte ich hervorheben, daß sich der an ein bestimmtes Desinfektionsmittel gewöhnte Stamm gegenüber den nächsten Verwandten dieses Präparates ebenfalls resistent erwies, während sich bei ferner stehenden Präparaten keine oder doch nur geringe Unterschiede zeigten.

| Konzentration (Mol. Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in cem) | Verdünnung ungefähr | Alkalinität | | | | | | | | | | | | Acidität gegen Phenolphthalein in Kubikzentimeter pro Liter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------------------------------|------------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|----|--|--|--|
| | | | 2 | | | | 0 | | | | 2 | | | | 4 | | | | 2 | | | | 4 | | | | 6 | | | | 8 | | | | 10 | | | | 12 | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | | | |
| 80,00 | 0,1175 | 1 : 800 | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | | | | |
| 75,00 | 0,1253 | 1 : 750 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 70,00 | 0,1343 | 1 : 700 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 67,50 | 0,1393 | 1 : 675 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 65,00 | 0,1446 | 1 : 650 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 62,50 | 0,1504 | 1 : 625 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 60,00 | 0,1567 | 1 : 600 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 57,50 | 0,1635 | 1 : 575 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |
| 55,00 | 0,1709 | 1 : 550 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | |

Einfluß der Acidität auf das Wachstum in Sublimatbouillon (Bac. typhi).
Tabelle II.

| Konzentration (Mol. Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in cem) | Verdünnung ungefähr | Alkalinität | | | | | | | | | | | | Acidität gegen Phenolphthalein in Kubikzentimeter pro Liter | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------------------------------|------------------------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|
| | | | 4 | | | | 2 | | | | 0 | | | | 2 | | | | 4 | | | | 6 | | | | 8 | | | | 10 | | | | 12 | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | | |
| 25 000 | 0,0011 | 1 : 100 000 | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — |
| 22 500 | 0,0012 | 1 : 90 000 | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — |
| 20 000 | 0,0014 | 1 : 80 000 | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — | W | — | — | — |
| 17 500 | 0,0016 | 1 : 70 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 15 000 | 0,0018 | 1 : 60 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 12 500 | 0,0022 | 1 : 50 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 10 000 | 0,0027 | 1 : 40 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 7 500 | 0,0036 | 1 : 30 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 000 | 0,0054 | 1 : 20 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Anmerkung: W = Wachstum, (W) = schwaches Wachstum, — = kein Wachstum.

Tabelle III.
Einfluß der Sterilisation auf Phenolbouillon (*Bac. typhi*).

| Konzentration (Mol. Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolzusatz vor der Sterilisation | | | Phenolzusatz nach der Sterilisation | | |
|--|----------------------------------|------------------------|---------------------------------------|---|---|--|---|---|
| | | | Wachstum nach Tagen | | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| 80,00 | 0,1175 | 1 : 800 | W | | | W | | |
| 75,00 | 0,1253 | 1 : 750 | W | | | W | | |
| 70,00 | 0,1343 | 1 : 700 | W | | | W | | |
| 67,50 | 0,1393 | 1 : 675 | W | | | W | | |
| 65,00 | 0,1446 | 1 : 650 | W | | | W | | |
| 62,50 | 0,1504 | 1 : 625 | W | | | W | | |
| 60,00 | 0,1567 | 1 : 600 | — | W | | — | — | — |
| 57,50 | 0,1635 | 1 : 575 | — | — | — | — | — | — |
| 55,00 | 0,1709 | 1 : 550 | — | — | — | — | — | — |

Tabelle IV.
Einfluß der Sterilisation auf Sublimatbouillon (*Bac. typhi*).

| Konzentration (Mol. Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Sublimatzusatz vor der Sterilisation | | | Sublimatzusatz nach der Sterilisation | | |
|--|----------------------------------|------------------------|---|---|---|--|---|---|
| | | | Wachstum nach Tagen | | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| 25 000 | 0,0011 | 1 : 100 000 | W | | | — | W | |
| 22 500 | 0,0012 | 1 : 90 000 | W | | | — | W | |
| 20 000 | 0,0014 | 1 : 80 000 | W | | | — | W | |
| 17 500 | 0,0016 | 1 : 70 000 | W | | | — | W | |
| 15 000 | 0,0018 | 1 : 60 000 | W | | | — | W | |
| 12 500 | 0,0022 | 1 : 50 000 | W | | | — | W | |
| 10 000 | 0,0027 | 1 : 40 000 | W | | | — | — | — |
| 7 500 | 0,0036 | 1 : 30 000 | W | | | — | — | — |
| 5 000 | 0,0054 | 1 : 20 000 | W | | | — | — | — |
| 2 500 | 0,0108 | 1 : 10 000 | W | | | — | — | — |
| 1 250 | 0,0217 | 1 : 5 000 | — | — | — | — | — | — |

Schlußsätze:

1) Das Wachstumsoptimum in phenolhaltiger Bouillon liegt bei der Acidität 6, d. h. die Bouillon muß zur Neutralisierung gegenüber Phenolphthalein 6 ccm $\frac{1}{1}$ Normallauge pro Liter verbrauchen; in sublimat-haltiger Bouillon liegt das Optimum bei der Acidität 0, d. h. beim Phenolphthalein-Neutralpunkt. Die in meinen Versuchen allgemein verwendete Acidität von 5 ccm pro Liter erwies sich jedoch aus äußeren Gründen am zweckmäßigsten.

2) Die Menge der Einsaat hat auf das Wachstum in Phenolbouillon nur einen geringen, in Sublimatbouillon dagegen einen sehr erheblichen Einfluß, der jedoch um so geringer wird, je größer die Einsaatmenge ist.

3) Bei der Gewöhnung an Sublimat sind außerdem folgende Punkte zu berücksichtigen:

a) Der Einfluß von Luft und besonders von Kohlensäure auf die Bouillon ist nach Möglichkeit auszuschalten.

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Staph. pyog. aur. | | | Bac. coli | | | Bac. typhi | | |
|--|----------------------------------|------------------------|---------------------|---|-------------|-------------|---|-------------|-------------|---|-------------|
| | | | Phenolstamm | | Normalstamm | Phenolstamm | | Normalstamm | Phenolstamm | | Normalstamm |
| | | | Wachstum nach Tagen | | | | | | | | |
| 70,0 | 0,1343 | 1:700 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| 67,5 | 0,1393 | 1:675 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 65,0 | 0,1446 | 1:650 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 62,5 | 0,1504 | 1:625 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 60,0 | 0,1567 | 1:600 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 57,5 | 0,1635 | 1:575 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 55,0 | 0,1709 | 1:550 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 52,5 | 0,1790 | 1:525 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 50,0 | 0,1880 | 1:500 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 47,5 | 0,1982 | 1:475 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 45,0 | 0,2089 | 1:450 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 42,5 | 0,2212 | 1:425 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 40,0 | 0,2350 | 1:400 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 37,5 | 0,2507 | 1:375 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 35,0 | 0,2686 | 1:350 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 32,5 | 0,2831 | 1:325 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 30,0 | 0,3133 | 1:300 | W | W | W | W | W | W | W | W | W |

Tabelle VI. Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Kresol.
Mol.-Gewicht von $C_6H_4<OH>_2 = 108$. (Staph. pyog. aur.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | o-Kresol | | m-Kresol | | p-Kresol | |
|--|----------------------------------|------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | Phenolstamm | Normalstamm | Phenolstamm | Normalstamm | Phenolstamm | Normalstamm |
| | | | 130 | 0,0831 | 1:1300 | W | W | W |
| 120 | 0,0900 | 1:1200 | W | W | W | W | W | W |
| 110 | 0,0982 | 1:1100 | W | W | W | W | W | W |
| 100 | 0,1080 | 1:1000 | W | W | W | W | W | W |
| 90 | 0,1200 | 1:900 | W | W | W | W | W | W |
| 80 | 0,1350 | 1:800 | W | W | W | W | W | W |
| 70 | 0,1543 | 1:700 | W | W | W | W | W | W |
| 60 | 0,1800 | 1:600 | W | W | W | W | W | W |
| 50 | 0,2160 | 1:500 | W | W | W | W | W | W |

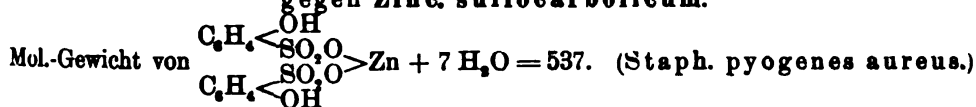
Tabelle VII.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Kresolseifenlösung. (Staph. pyog. aur.)

| Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|-----------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| 0,08 | 1 : 1250 | W | W |
| 0,10 | 1 : 1000 | W | W |
| 0,12 | 1 : 833 | W | — |
| 0,14 | 1 : 714 | W | — |
| 0,16 | 1 : 625 | W | — |
| 0,18 | 1 : 555 | W | — |
| 0,20 | 1 : 500 | — | — |

Tabelle VIII.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Zink sulfocarbolicum.



| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|---|-----------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| 300 | 0,1790 | 1 : 600 | W | W |
| 275 | 0,1953 | 1 : 550 | W | W |
| 250 | 0,2143 | 1 : 500 | W | W |
| 225 | 0,2387 | 1 : 450 | W | — |
| 200 | 0,2685 | 1 : 400 | W | — |
| 175 | 0,3069 | 1 : 350 | W | — |
| 150 | 0,3580 | 1 : 300 | W | — |
| 125 | 0,4296 | 1 : 250 | — | — |
| 100 | 0,5370 | 1 : 200 | — | — |

Tabelle IX.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Resorcin.

Mol.-Gewicht von $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2 = 110.$ (Staph. pyogenes aureus.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|---|-----------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| 30 | 0,3667 | 1 : 300 | W | W |
| 25 | 0,4400 | 1 : 250 | W | W |
| 20 | 0,5500 | 1 : 200 | — | — |
| 15 | 0,7333 | 1 : 150 | — | — |

Tabelle X.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Hydrochinon.

Mol.-Gewicht von $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2 = 110.$ (Staph. pyogenes aureus.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|---|-----------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| 240 | 0,046 | 1 : 2400 | W | W |
| 200 | 0,055 | 1 : 2000 | W | W |
| 160 | 0,069 | 1 : 1600 | — | — |
| 120 | 0,092 | 1 : 1200 | — | — |

Tabelle XI.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen salicylsaures Natrium.

Mol.-Gewicht von $C_6H_5< \begin{matrix} OH \\ COONa \end{matrix} = 160$. (Staph. pyogenes aureus.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|--|--------------------------|---------------------|-------------|-------------|
| 24 | 0,66 | 1:150 | W | W |
| 20 | 0,80 | 1:125 | W | W |
| 16 | 1,00 | 1:100 | — | — |
| 12 | 1,33 | 1:75 | — | — |

Tabelle XII.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Formaldehyd.

Mol.-Gewicht von $H-C< \begin{matrix} O \\ H \end{matrix} = 30$. (Staph. pyogenes aureus.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|--|--------------------------|---------------------|-------------|-------------|
| 600 | 0,0050 | 1:20 000 | W | W |
| 550 | 0,0055 | 1:18 000 | W | W |
| 500 | 0,0060 | 1:17 000 | — | — |
| 450 | 0,0066 | 1:15 000 | — | — |

Tabelle XIII.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Methylalkohol.

Mol.-Gewicht von $CH_3OH = 32$. (Staph. pyogenes aureus.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|--|--------------------------|---------------------|-------------|-------------|
| 0,7 | 4,57 | 1:22 | W | W |
| 0,6 | 5,33 | 1:19 | W | W |
| 0,5 | 6,40 | 1:16 | W | — |
| 0,4 | 8,00 | 1:13 | — | — |

Tabelle XIV.

Vergleich der Resistenz des Phenol- und des Normalstammes gegen Aethylalkohol.

Mol.-Gewicht von $C_2H_5OH = 46$. (Staph. pyogenes aureus.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Phenolstamm | Normalstamm |
|--|--------------------------|---------------------|-------------|-------------|
| 0,9 | 5,11 | 1:20 | W | W |
| 0,8 | 5,75 | 1:17 | W | W |
| 0,7 | 6,57 | 1:15 | W | — |
| 0,6 | 7,66 | 1:13 | — | — |

b) Der Zusatz von Sublimatlösung darf erst unmittelbar vor der Beimpfung erfolgen.

4) Im Laufe von etwa $2\frac{1}{2}$ Monaten gelang es, Staph. pyog. aur. an die 1,7-fache, Bac. coli an die 1,3-fache und Bac. typhi an die 1,2-fache Menge Phenol zu gewöhnen.

Tabelle XV.
Einfluß der Einsaatmenge auf das Wachstum in Sublimatbouillon (Bac. typhi).

| Konzentration (Mol.-Gew. in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Menge der eingesäten Keime | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-----------------------------|------------------------|----------------------------|---|---|---------------|---|---|-------------|---|---|------------|---|---|-----------|---|---|---------|---|---|--------|---|---|
| | | | 12 000 000 000 | | | 1 200 000 000 | | | 120 000 000 | | | 12 000 000 | | | 1 200 000 | | | 120 000 | | | 12 000 | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | | |
| 25 000 | 0,0011 | 1:100 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 22 500 | 0,0012 | 1:90 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 20 000 | 0,0014 | 1:80 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 17 500 | 0,0016 | 1:70 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 15 000 | 0,0018 | 1:60 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 12 500 | 0,0022 | 1:50 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 11 250 | 0,0024 | 1:45 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 10 000 | 0,0027 | 1:40 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 8 750 | 0,0031 | 1:35 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 7 500 | 0,0036 | 1:30 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 6 250 | 0,0043 | 1:25 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 5 000 | 0,0054 | 1:20 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |

Tabelle XVI.
Vergleich der Resistenz der Sublimat- und der Normalstämme gegen Sublimat.
Mol.-Gewicht von HgCl₂ = 271. (Staph. pyog. aur., Bac. coli, Bac. typhi.)

| Konzentration (Mol.-Gew. in Litern) | Prozentgehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Staph. pyog. aur. | | | | | | Bac. coli | | | | | | Bac. typhi | | | | | | | | |
|--|-----------------------------|------------------------|-------------------|---|-------------|---|---------------|---|-------------|---|---------------|---|-------------|---|---------------|---|-------------|---|---|---|---|---|---|
| | | | Sublimatstamm | | Normalstamm | | Sublimatstamm | | Normalstamm | | Sublimatstamm | | Normalstamm | | Sublimatstamm | | Normalstamm | | | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | | | |
| 12 500 | 0,0022 | 1:50 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 11 250 | 0,0024 | 1:45 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 10 000 | 0,0027 | 1:40 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 8 750 | 0,0031 | 1:35 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 7 500 | 0,0036 | 1:30 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 6 250 | 0,0043 | 1:25 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 5 000 | 0,0054 | 1:20 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |
| 3 750 | 0,0072 | 1:15 000 | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W | W |

Tabelle XVII.

Vergleich der Resistenz des Sublimat- und des Normalstammes
gegen Quecksilberbromid.

Mol.-Gewicht von $\text{HgBr}_2 = 360$. (Staph. pyog. aur.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Sublimatstamm | Normalstamm |
|--|----------------------------------|------------------------|---------------|-------------|
| 10 000 | 0,0036 | 1 : 30 000 | W | W |
| 8 750 | 0,0041 | 1 : 27 000 | W | W |
| 7 500 | 0,0048 | 1 : 23 000 | W | W |
| 6 250 | 0,0058 | 1 : 19 000 | W | W |
| 5 000 | 0,0072 | 1 : 15 000 | W | — |
| 3 750 | 0,0096 | 1 : 11 000 | — | — |
| 2 500 | 0,0144 | 1 : 7 000 | — | — |

Tabelle XVIII.

Vergleich der Resistenz des Sublimat- und des Normalstammes
gegen Quecksilbercyanid.

Mol.-Gewicht von $\text{Hg(CN)}_2 = 252$. (Staph. pyog. aur.)

| Konzentration (Mol.-Gewicht in Litern) | Prozent- gehalt (g in ccm) | Verdünnung ungefähr | Sublimatstamm | Normalstamm |
|--|----------------------------------|------------------------|---------------|-------------|
| 25 000 | 0,0011 | 1 : 100 000 | W | W |
| 22 500 | 0,0012 | 1 : 90 000 | W | W |
| 20 000 | 0,0014 | 1 : 80 000 | W | W |
| 17 500 | 0,0016 | 1 : 70 000 | W | W |
| 15 000 | 0,0018 | 1 : 60 000 | W | — |
| 12 500 | 0,0022 | 1 : 50 000 | — | — |
| 10 000 | 0,0027 | 1 : 40 000 | — | — |
| 7 500 | 0,0036 | 1 : 30 000 | — | — |

5) Der an Phenol gewöhnte Staphylokokkenstamm erwies sich entsprechend resistenter als der Normalstamm nur gegenüber den aller-nächsten Verwandten des Phenols, nämlich: Kresol, Kresolseifenlösung und Zinc. sulfocarbolicum. Dagegen war seine Resistenz gegenüber der des Normalstammes, bei den zweiwertigen Phenolen Resorzin und Hydrochinon, ferner bei salicylsaurem Natrium, Formaldehyd, Methyl- und Aethylalkohol nicht oder doch nur unwesentlich erhöht.

6) Der an Phenol gewöhnte Staphylokokkenstamm zeigte noch die gleiche Resistenz gegenüber Phenol, nachdem er im Brutschrank 14 Tage lang bei zweitägiger Ueberimpfung auf reinem Agar weitergezüchtet war, und selbst dann noch, als er weitere 8 Tage auf Agar bei Zimmer-temperatur aufbewahrt worden war.

7) Auch an Sublimat ließen sich die Bakterien gewöhnen, und zwar vertrug der an Sublimat gewöhnte Staphylokokkenstamm gegenüber dem Normalstamm die 1,3-fache, Coli die 1,6-fache und Typhus die 1,5-fache Menge.

8) Der an Sublimat gewöhnte Staphylokokkenstamm wurde auch auf seine Resistenz gegenüber Quecksilberbromid und Quecksilbercyanid geprüft und erwies sich auch ihnen gegenüber entsprechend resistenter.

Tabelle XIX.

Gesamtübersicht über die Resistenz der Phenol-, Sublimat- und Normalstämme gegenüber den untersuchten Desinfektionsmitteln. Grenzkonzentration, in der noch Wachstum auftritt.

| Desinfektionsmittel | Zahl der Liter, in denen das d. Formel entsprechende Mol.-Gewicht in Gramm gelöst ist | | Prozentgehalt (g in ccm) | | Verdünnung annähernd | | Verhältnis der Resistenz des Phenol- zum Normalstamm ¹⁾ |
|-----------------------------|---|-------------|--------------------------|-------------|----------------------|-------------|--|
| | Phenolstamm | Normalstamm | Phenolstamm | Normalstamm | Phenolstamm | Normalstamm | |
| Phenol (Staph. pyog. aur.) | 32,5 Liter | 55,0 Liter | 0,28 | 0,17 | 1 : 325 | 1 : 550 | 1,7 : 1 |
| " (Coli) | 42,5 " | 55,0 " | 0,22 | 0,17 | 1 : 425 | 1 : 550 | 1,3 : 1 |
| " (Typhus) | 52,5 " | 62,5 " | 0,18 | 0,15 | 1 : 525 | 1 : 625 | 1,2 : 1 |
| o-Kresol (Staph.) | 80 " | 120 " | 0,14 | 0,09 | 1 : 800 | 1 : 1200 | 1,5 : 1 |
| m- " " | 70 " | 120 " | 0,15 | 0,09 | 1 : 700 | 1 : 1200 | 1,7 : 1 |
| p- " " | 70 " | 120 " | 0,15 | 0,09 | 1 : 700 | 1 : 1200 | 1,7 : 1 |
| Kresolseifenlg. (Staph.) | — | — | 0,18 | 0,10 | 1 : 555 | 1 : 1000 | 1,8 : 1 |
| Zinc. sulfocarb. (Staph.) | 150 " | 250 " | 0,36 | 0,21 | 1 : 300 | 1 : 500 | 1,7 : 1 |
| Resorcin (Staph.) | 25 " | 25 " | 0,44 | 0,44 | 1 : 250 | 1 : 250 | 1 : 1 |
| Hydrochinon (Staph.) | 200 " | 200 " | 0,06 | 0,06 | 1 : 2400 | 1 : 2400 | 1 : 1 |
| Salicyls. Natrium (Staph.) | 20 " | 20 " | 0,80 | 0,80 | 1 : 125 | 1 : 125 | 1 : 1 |
| Formaldehyd (Staph.) | 550 " | 550 " | 0,006 | 0,006 | 1 : 18 000 | 1 : 18 000 | 1 : 1 |
| Methylalkohol (Staph.) | 0,5 " | 0,6 " | 6,40 | 5,33 | 1 : 16 | 1 : 19 | 1,2 : 1 |
| Aethylalkohol (Staph.) | 0,7 " | 0,8 " | 6,57 | 5,75 | 1 : 15 | 1 : 17 | 1,1 : 1 |
| | Sublimatstamm | Normalstamm | Sublimatstamm | Normalstamm | Sublimatstamm | Normalstamm | Verhältnis der Resistenz des Sublimat- zum Normalstamm |
| Quecksilberchlorid (Staph.) | 5 000 Ltr. | 6 250 Ltr. | 0,0054 | 0,0043 | 1 : 20 000 | 1 : 25 000 | 1,3 : 1 |
| " (Coli) | 5 000 " | 7 500 " | 0,0054 | 0,0036 | 1 : 20 000 | 1 : 30 000 | 1,6 : 1 |
| " (Typh.) | 6 250 " | 8 750 " | 0,0043 | 0,0031 | 1 : 25 000 | 1 : 35 000 | 1,5 : 1 |
| Quecksilberbromid (Staph.) | 5 000 " | 6 250 " | 0,0072 | 0,0058 | 1 : 15 000 | 1 : 19 000 | 1,3 : 1 |
| Quecksilbercyanid (Staph.) | 15 000 " | 17 500 " | 0,0018 | 0,0016 | 1 : 60 000 | 1 : 70 000 | 1,2 : 1 |

Vorstehende Arbeit wurde im Hygienischen Institut der Universität Breslau ausgeführt. Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer, für die Erlaubnis zur Anfertigung dieser Arbeit und vor allem für das wohlwollende Interesse, das er mir während deren Ausführung bewiesen hat, bestens zu danken. Die Anregung zu dieser Arbeit verdanke ich Herrn Prof. Dr. R. Scheller, dem ich für seine liebenswürdige Unterstützung sowie für seine zahlreichen Ratschläge gleichfalls zu großem Danke verpflichtet bin. Außerdem danke ich Herrn Prof. Dr. Gadammer für mannigfache wertvolle Ratschläge.

Literatur.

Abbott, A. C., Johns Hopkins Hospital Bull. Vol. 2. No. 12 p. 50. Ref. Baumgartens Jahresber. Bd. 7. 1891. p. 24.
 Almquist, E. u. Troili-Peterson, Gerda, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 477.
 Altmann, K. u. Rauth, A., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 7. 1910. p. 629.
 Brüning, H., Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. 3. 1906. p. 157.
 —, Centralbl. f. inn. Med. Bd. 27. 1906. No. 14.

1) Mittelwerte.

- Danysz, J., Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 14. 1900. p. 641.
 Ehrlich, P., Berl. klin. Wochenschr. Bd. 44. 1907. p. 233.
 —, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 42. 1909. Heft 1.
 Hausmann, A. u. Heffter, A., Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 5. 1904. Heft 5.
 Kossiakoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 1. 1887.
 Krönig, B. u. Paul, Th., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. p. 1.
 Marks, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 6. 1910. p. 293.
 Masson, Louis, Compt. rend. Acad. scienc. T. 150. 1910. p. 189.
 Paul, Th., Zeitschr. f. angew. Chem. 1901. Heft 14 u. 15.
 Ruppel, Patentschrift No. 221266 Klasse 30h, Gruppe 6 der Farbwerke vorm. Meister, Lucius & Brüning in Höchst a. M.
 Trambusti, A., Lo Sperimentale. 1892. Fasc. 1. p. 29; Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. p. 673.

Nachdruck verboten.

Culture aérobie des microbes dits anaérobies.

1^{er} Mémoire.

Par F. Marino, Paris, Institut Pasteur.

L'étude des anaérobies a pris aujourd'hui un très grand développement; mais en dépit de travaux nombreux et de recherches multipliées, la technique d'isolement et de culture de ces germes est demeurée fort imparfaite.

Dans le but de provoquer une forte action réductrice et d'obtenir un développement très actif des anaérobies, on a pris l'habitude d'ajouter de grandes quantités de glucose (2 %) aux milieux nutritifs. C'est une erreur. En effet, le glucose à 2 % altère ou tue au bout de quelques jours, un grand nombre d'anaérobies et atténue l'action des toxines. Cette assertion sera aisément vérifiée par ceux là mêmes qui se contenteront de recherches superficielles sur les caractères d'une culture de tétanos en bouillon glucose.

D'ailleurs, l'action nuisible du glucose ne s'exerce pas seulement sur les anaérobies, elle s'étend encore à tous les microbes aérobie. Le bacille diphtérique et sa toxine en fournissent la preuve.

Pour ces raisons, il faut donc écarter le sucre ou tout au moins ne l'utiliser qu'avec discrétion dans l'isolement des anaérobies et en observant les normes que nous avons déjà indiquées (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1907).

* * *

Au cours de nos recherches, nous avons noté que les anaérobies se développent très bien dans le bouillon frais de 5—6 heures et que ce développement n'a point lieu lorsque le bouillon date de quelques jours, parce qu'alors il a perdu ses qualités primitives. Il est facile de régénérer un vieux bouillon et de le rendre apte au développement aérobie des microbes dits anaérobies. Pour cela, voici la méthode que nous conseillons: Dans des tubes à essai, on mélange 5 c. c. de sérum à 15 c. c. de bouillon, et on chauffe pendant 20 minutes à 100° environ. Cela suffit pour obtenir le meilleur milieu pour la culture aérobie des microbes dits anaérobies: La température sensiblement inférieure ou supérieure à 100° retarde et empêche souvent le développement des anaérobies.

On peut, sans inconvénient, augmenter la quantité de sérum et de bouillon pourvu que les proportions 1 et 3 soient observées.

Ce bouillon-sérum perd assez vite les qualités nécessaires au développement des anaérobies, aussi devra-t-on l'utiliser le plus rapidement possible après le chauffage à 100°.

En procédant comme il vient d'être dit, on obtient en général des cultures très abondantes après 24—48 heures d'étuve. Certaines spores tétaniques, vieilles de 4—5 ans se développent après 5—6 jours. Pour les spores très vieilles, il est préférable d'ensemencer largement les milieux ($\frac{1}{40}$ de centimètre cube par tube); autrement une ou 2 anses de platine sont suffisantes.

Il importe peu de déposer les spores à la surface du bouillon-sérum ou de les faire pénétrer profondément pour les mettre à l'abri de l'air.

Les bacilles provenant de ces spores ensemencées dans le bouillon-sérum, donnent des cultures abondantes après 24—48 heures.

Les spores tétaniques vieilles de 5—6 mois, un an, se développent abondamment après 24—48 heures.

* * *

La méthode aérobie au bouillon-sérum est préférable, en raison de sa simplicité et de l'activité des toxines, aux méthodes nécessitant l'emploi de tissus animaux et végétaux¹⁾.

Dans notre procédé, que le sérum soit plus ou moins vieux, cela n'a pas d'importance. Nous nous servons en ce moment d'un sérum de cheval et ce sérum est de 1907; distribué dans des tubes à essai stériles, il a été exposé au bain-marie à 55° pendant 30 minutes.

On peut utiliser aussi des sérums spécifiques, antidiphthériques, anti-tétaniques ou autres.

Si on veut remplacer le bouillon par de l'eau physiologique, par de l'eau ordinaire ou distillée, on n'obtient jamais de cultures.

Nachdruck verboten.

Culture aérobie des microbes dits anaérobies.

2^{ème} Mémoire.

Par F. Marino, Paris, Institut Pasteur.

Roux et Dubrand, en se servant du Subtilis, ont été les premiers à obtenir des cultures aérobie des microbes dits anaérobies.

Tarozzi, plus tard, les a obtenues avec des tissus animaux, et nous-mêmes, avec du bouillon-sérum, chauffé à environ 100°.

La technique en était là lorsque nous avons constaté que certains anaérobies se développent dans l'eau de condensation de la gélose, s'ils se trouvent en symbiose avec des amibes.

1) Nous faisons ici allusion aux procédés qui utilisent le foie et la pomme de terre. Le foie, en raison des hydrates de carbone qu'il renferme, finit à la longue par affaiblir les microbes et leurs toxines; les pommes de terre, au deuxième passage d'une culture de tétanos, produisent une toxine 40 fois plus faible que la toxine obtenue dans le bouillon-sérum.

Cette observation nous a conduit à faire une série de recherches dans le but de généraliser les phénomènes de symbiose des anaérobies avec d'autres cellules vivantes et cultivables.

Nous nous sommes occupés d'abord de l'*Amylomyces Rouxii*, de l'*Aspergillus oryzae*, des levures et des torulas.

* * *

Symbiose des Anaérobies avec l'*Amylomyces Rouxii*.

La culture mère d'*Amylomyces* que nous avons utilisée datait de 1905 et n'avait jamais été repiquée. Les spores de cette culture ancienne, re-ensemencées après cinq ans sur gélose glucosée, ont donné des cultures très abondantes à la température du laboratoire.

Cette moisissure présente donc, entre autres avantages, celui de ne pas donner de soucis pour le repiquage.

Avec dix cultures mères d'*Amylomyces* sur gélose glucosée inclinée, on peut ensemercer facilement 100 tubes de bouillon tous les dix jours, et pendant très longtemps. Lorsque les mycéliums des cultures sur gélose sont épuisés, il suffit d'ajouter quelques gouttes de bouillon glucosé à 2% pour les voir renaître au bout de 24 heures.

Pour avoir des milieux toujours prêts, nous recommandons d'ensemencer avec l'*Amylomyces*, une série de tubes de bouillon ordinaire¹⁾ qu'on garde à la température du laboratoire et qu'on utilise au fur et à mesure des besoins, dès le second jour, quand le voile de la moisissure s'est formé à la surface des liquides.

Les anaérobies ensemencés dans ces milieux et exposés à la température de 37°, se développent au bout de 10—15 heures et même avant, si l'ensemencement a été abondant ($\frac{1}{40}$ de c. c.).

Ce procédé, très simple, est le plus pratique et le plus rapide pour le développement des anaérobies et pour la formation de leurs toxines (tétanos).

Il est préférable d'ensemencer en 2 fois: L'*Amylomyces* d'abord et les anaérobies ensuite.

On peut cependant les ensemercer en même temps, mais alors les cultures qui en dérivent ne sont jamais très riches. Nous avons observé ce fait plusieurs fois avec l'*Amylomyces* et le tétanos.

Cela est dû probablement à la toxine tétanique empoisonnant l'*Amylomyces* pendant sa végétation, et en arrêtant le développement. Cela est dû aussi à cette autre raison: Le milieu de culture contenant peu d'*Amylomyces*, ne permet pas une culture abondante de tétanos.

La toxine qu'on obtient avec ce procédé est assez active: $\frac{1}{200}$ de c. c. tue un cobaye de 300 gr. en 4—5 jours.

L'*Amylomyces* permet le développement des anaérobies à 37° et à la température du laboratoire, soit quand il vit à la surface des liquides soit quand il vit en profondeur.

Le vide, pratiqué dans des tubes de bouillon contenant des anaérobies et de l'*Amylomyces* en surface ou en profondeur, ne moidifie pas la marche du développement des anaérobies.

* * *

1) Pour ensemercer l'*Amylomyces* on doit se servir de la spatule et non de l'anse de platine à laquelle il reste souvent attaché.

Voyons maintenant ce qui se passe dans le bouillon contenant l'*Amylomyces* seul et dans le bouillon où se sont développés l'*Amylomyces* et le tétanos.

Le bouillon où l'*Amylomyces* a été seul permet un deuxième développement de cette moisissure quand on enlève le voile de la surface.

Au contraire, le bouillon renfermant l'*Amylomyces* et le tétanos, ne permet pas la deuxième culture d'*Amylomyces*. Ce fait démontre que la toxine tétanique est un poison pour la moisissure. L'*Amylomyces* ne se développe point non plus dans un mélange constitué par la toxine tétanique (5 c.c.) et le bouillon ordinaire (10 c.c.).

Le voile d'*Amylomyces* pris à la surface d'un tube de bouillon contenant du tétanos, et déposé à la surface d'un autre tube de bouillon neuf y développe une culture de tétanos très abondante après 10—15 heures. On peut passer ce voile du deuxième tube à un troisième, et ainsi de suite et avoir des cultures de tétanos nouvelles tous les jours.

Nous nous sommes arrêtés au 20^{ème} passage et il est à supposer qu'on pourrait aller à l'infini.

L'*Amylomyces* vient-il à s'affaiblir, il suffit de faire de temps à autre un passage sur le bouillon glucosé ou sur la gélose glucosée. Le bouillon glucosé contenant l'*Amylomyces* vivant en surface ou en profondeur, développe les anaérobies moins vite que le bouillon ordinaire.

* * *

Symbiose des anaérobies avec l'*Aspergillus oryzae*.

La technique et les résultats de nos études sur l'*A. oryzae* sont superposables à ceux obtenus avec l'*Amylomyces*. A noter toutefois que le tétanos se développe moins vite avec l'*Aspergillus*, et que sa toxine en revanche est plus active: $\frac{1}{200}$ de c.c. de toxine tétanique prélevé au sixième jour de symbiose avec l'*Aspergillus*, tue un cobaye de 300 gr. en 36—48 heures.

* * *

Symbiose des anaérobies avec les levures et les *Torulas*.

La technique est très simple. On ensemence la levure et l'anaérobie en même temps, dans le bouillon glucosé à 2 %, et on voit après 2—3 jours le développement de la levure, et après 8—10 jours, celui de l'anaérobie. Ce dernier ne se développe pas plus vite parce que la levure, pour préparer le milieu aux anaérobies, doit commencer par se développer elle-même.

Pour opérer rapidement, on ensemence la levure sur la gélose glucosée; on la râcle après 2—3 jours et on la dépose au fond de tubes à essai qui contiennent du bouillon ordinaire. Dans ces tubes, très riches en levure, les anaérobies se développent au bout de 24—48 heures.

On peut aussi provoquer le développement des anaérobies en 24—48 heures quand on les ensemence dans le bouillon glucosé où on a ensemencé les levures 8 à 10 jours d'avance.

Le bouillon glucosé contenant des levures développe les anaérobies même après 10—12 mois, tandis que le bouillon ordinaire ou glucosé, contenant des tissus animaux ou végétaux, et le bouillon-sérum chauffé à 100° ne jouissent pas des mêmes propriétés.

La technique qui nous a servi dans la symbiose des levures est applicable aux *torulas*.

*Nachdruck verboten.***Culture aérobie des microbes dits anaérobies.**3^e Mémoire.Par **F. Marino**, Paris, Institut Pasteur.

Les résultats obtenus dans l'étude de l'*Amylomyces* et de l'*A. oryzae* nous ont engagés à étendre nos recherches de symbiose des anaérobies à différentes espèces de *Mucor* et d'*Aspergillus*, aux microbes pathogènes et saprophytes, ainsi qu'au microbe de la péri-pneumonie.

* * *

Symbiose des anaérobies avec les *Mucor*.

Au nombre des *Mucor* qui, après l'*Amylomyces*, nous ont donné d'excellents résultats, tant au point de vue de la qualité de la toxine que de la rapidité de développement du tétanos, il faut signaler: 1^o le *Rhizomucor parasiticus*; 2^o le *Mucor corymbifer*; 3^o le *Mucor rhizopodiformis*; 4^o le *Mucor racemosus*. Ce dernier, à la différence des 3 autres, cultivé en symbiose avec le tétanos, a développé des bacilles tétaniques en très grande partie asporogènes. Dans chaque champ du microscope on notait seulement 1—2 bacilles ayant des spores, le reste était constitué par des éléments asporogènes. Dans les symbioses des 3 autres *Mucor*, le contraire était observé.

Nous attirons l'attention sur les faits d'abondance ou de rareté des spores, car cela se rencontre quelquefois, non seulement dans les cultures de tétanos en symbiose avec les *Mucor*, les *Aspergillus* et les microbes, mais encore dans les cultures de tétanos faites dans un bouillon contenant de morceaux de tissus animaux ou végétaux (cultures sporogènes) et dans les cultures faites en bouillon-sérum (presque asporogènes). La présence ou l'absence de spores a très peu de retentissement sur l'activité de la toxine.

* * *

Symbiose des anaérobies avec les *Aspergillus*.

Parmi les *Aspergillus* il en est qui développent les anaérobies d'une façon abondante et avec un grand nombre de spores, tels l'*A. oryzae*, le *fumigatus*. D'autres les développent fort peu et presque sans spores, tels l'*A. niger*, l'*A. glaucus*, l'*A. nidulus* et l'*A. flavus*.

* * *

Symbiose des anaérobies avec les microbes aérobie pathogènes et saprophytes.

Rien de particulier dans la technique: On ensemece simultanément, ou de préférence successivement, les deux microbes et on obtient presque toujours des cultures très abondantes.

A part quelques rares exceptions, on peut affirmer que tous les microbes pathogènes et saprophytes provoquent le développement des anaérobies.

Les microbes récemment isolés de l'organisme (choléra, typhoïde) sont très aptes à la symbiose des anaérobies. Cette propriété décroît à mesure qu'ils vieillissent dans les milieux de culture.

Nous avons constaté aussi qu'un grand nombre de champignons et de microbes soumis à une température élevée (120°) ne développent pas les anaérobies.

On obtiendra constamment des cultures riches de tétanos en présence du *Discomyces bovis* et du *Sporotrichum bombycinum*, soit vivants, soit tués à 120°.

On ignore les raisons qui font que tous les microbes après chauffage à 120° ne développent plus les anaérobies, alors que le *Discomyces bovis* et le *Sporotrichum bombycinum* ainsi que la rate et les pommes de terre les développent toujours.

Il nous a été donné de constater un autre phénomène fort intéressant: Certains anaérobies bien développés (*perfringens*) permettent le développement du tétanos alors que d'autres anaérobies (*V. septique*) ne jouissent point de cette propriété.

* * *

Symbiose des anaérobies avec le microbe de la péripneumonie.

Le tétanos se développe très abondamment ensemencé dans un tube de bouillon-sérum glucosé contenant le microbe de la péripneumonie, alors qu'il ne se développe point dans un tube témoin.

Le tétanos peut être ensemencé en même temps ou quelques jours après la péripneumonie. Dans le premier cas, il se développe après 3—4 jours, et au bout de 24—48 heures dans le second cas.

En utilisant cette technique ainsi que la méthode du bleu azur¹⁾ et la méthode de réduction de l'oxyhémoglobine²⁾, nous avons entrepris une série de recherches sur plusieurs microbes filtrants.

Berichtigung.

In Heft 1, Artikel: Galli-Valerio, Observations sur les corpuscules de la vaccine, p. 57, Zeile 33—35 von oben sind leider durch ein Versehen diese Zeilen irrtümlicherweise verstellt worden, was wir zu entschuldigen bitten. Der vollständige Satz muß wie folgt lauten:

Pour v. Prowazek, les corpuscules qu'il a décrit, sont fort probablement les agents spécifiques des affections vaccino-varioleuses, tandis que les corps de Guarnieri seraient le résultat de la métamorphose régressive de la substance du noyau des cellules épithéliales sous l'influence de l'agent spécifique. A leur tour, Paschen, Casagrandi, Volpino, considèrent les corpuscules qu'ils ont décrit, comme les agents spécifiques des affections vaccino-varioleuses. L'accord serait donc complet entre tous les observateurs au point de vue de la nature des corpuscules qu'ils ont décrit, mais le désaccord commence, quand il s'agit de savoir si les formes décrites par les uns et par les autres, sont ou non identi-

1) Ann. de l'Institut. Pasteur. 1904.

2) Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. 152. p. 1332. Séance du 15 mai 1911. Travail cité par Wolff.

ques. Ainsi Casagrandi, considère ses corpuscules comme différents des autres; Volpino, sépare les siens de tous les autres, surtout à cause de leurs dimensions. Au contraire, Paschen, considère ses corpuscules identiques à ceux de v. Prowazek, et ce dernier dans un travail fait avec Yamamoto, conclut qu'il n'y a pas de distinction valable entre les différents «Initialkörper» qu'on a décrit. A pareille conclusion, arrive aussi Hartmann dans un travail d'ensemble.

In Heft 1, Artikel: Mandelbaum, Ueber das Bacterium metatyphi, p. 48, Zeile 13 u. 14 von oben sind die Worte „rot“ statt „dunkel“ und „gelb“ statt „hell“ zu lesen; „vgl. Fig. 1“ ist zu streichen.

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.

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>v. Alten, Hans, Ueber die Entwicklung und systematische Stellung des Erregers der Vogelmalaria, Plasmodium (Protozoa) praecox, p. 228.</p> <p>Aumann, Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit bakterieller und chemischer Rattenvertilgungsmittel, p. 212.</p> <p>Butjagin, P., Zur Bakteriologie der bacillären Dysenterie, p. 257.</p> <p>Doerr, R. u. Buss, V. K., Darstellung von Anaphylaxiegiften in vitro ohne Komplement, p. 243.</p> <p>v. Eisler, M. u. Löwenstein, E., Ueber den Einfluß des Formaldehyds auf Blutserum, p. 261.</p> <p>Galli-Valerio, B. u. Rochas de Jongh, J., Beobachtungen über Culiciden und Mitteilung über das Vorkommen von Phlebotomus papatasi Scop. im Kanton Waadt (Schweiz), p. 222.</p> <p>Gminder, Adolf, Untersuchungen über Mastitisstreptokokken und ihre Differenzierung von saprophytischen Streptokokken, p. 152.</p> <p>Kodama, H., Berichtigung zu der Arbeit: Ueber Kapselbildung der Milzbrandbacillen bei der Züchtung auf Schrägagar, p. 134.</p> <p>Marino, F., Culture aérobie des microbes dits anaérobies. I., p. 298.</p> | <p>Marino, F., Culture aérobie des microbes dits anaérobies. II., p. 299.</p> <p>— —, Culture aérobie des microbes dits anaérobies. III., p. 302.</p> <p>Pergola, M., Weiteres über einen aus Wurstwaren isolierten tierpathogenen Keim, p. 193.</p> <p>Pittaluga, Gustavo, Ein neuer Blutparasit der afrikanischen Schildkröte, Clemmys africana, „Haemoproteus Cajali“ n. sp., p. 241.</p> <p>Porrini, G., Weiteres über die Biologie des Fränkelschen Pneumococcus (ödematöse Varietät von Foà), p. 129.</p> <p>Regenstein, Hans, Studien über die Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel, p. 281.</p> <p>Reukauf, E., Ein eigenartiger Schmarotzer an Canthocamptus staphylinus (Canthocamptophilus Ludwigii Reukauf), p. 210.</p> <p>Toyoda, Hideo, Bakteriologische Untersuchungen bei der Lungenpestepidemie in der Mandchurei 1910/11, p. 134.</p> <p>— — u. Tokuro, Yasuda, Ueber die Verbreitung der pestbacillenhaltigen Tröpfchen beim Husten der Pestpneumoniker und einige Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Pestbacillen in dem Sputum, p. 149.</p> |
|---|---|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 63. Heft 4/6.

Ausgegeben am 25. Mai 1912.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien¹⁾.

I. Mitteilung.

Ueber sporogene und asporogene Rassen des Milzbrandbacillus.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität in Krakau (Vorstand: Prof. O. Bujwid).]

Von Dr. Philipp Eisenberg.

I.

Allgemeine Vorbemerkungen.

Die Lehre von der Variabilität der Bakterien, die in der bakteriologischen Literatur durch eine schier unübersehbare Reihe von Arbeiten und Erörterungen repräsentiert erscheint (s. darüber die gediegenen Uebersichten von Kruse, Gotschlich, sowie die ausführliche kritische Monographie von Pringsheim), tritt in den letzten Jahren in ein neues, vielversprechendes Entwicklungsstadium ein. Eine Reihe höchst interessanter Beobachtungen ist es einerseits, die vieles Althergebrachte, als Dogma verkündigte und geglaubte, wenn nicht umzustürzen, so doch bedeutsam zu modifizieren sich anschickt. Andererseits sind es die stetig sich mehrenden wichtigen Errungenschaften der exakten Erblichkeits- und Variabilitätslehre — es seien nur die Namen von de Vries, Johannsen, Tschermak genannt — die uns Bakteriologen dazu auffordern, eine Revision des vorhandenen Materials in dieser Frage vorzunehmen, um auf Grund exakter Begriffsbestimmung eine rationelle Variabilitätslehre der Bakterien aufzubauen. Während auf dem verwandten Gebiet der Saccharomycetenforschung die bahnbrechenden Arbeiten eines Hansen und Beijerinck schon längst diese wichtige Arbeit vollbracht haben, ist bei uns kaum erst der Anfang — wenn auch ein vielversprechender — damit gemacht worden in den Arbeiten von Neisser-Massini, R. Müller, Burri, Sobernheim und Seligmann, Altmann und Rauth, Marks, Wolff, Baerthlein²⁾. Das rege Interesse, das diese Fragen in letzter Zeit erwecken, und die intensivere Bearbeitung, die sie erfahren, machen es wahrscheinlich, daß wir in absehbarer Zeit dazu gelangen werden, aus dem Stadium grob empirischer Beobachtung in dasjenige einer rationellen und exakten Variabilitäts- und Erblichkeitslehre auch in der Bakteriologie zu treten. Folgende Mitteilungen sollen versuchen, zur Ausfüllung dieser Lücken nach Möglichkeit beizutragen.

Bevor ich aber dazu übergehe, meine eigenen Versuche eingehend zu schildern, möchte ich einige allgemeine Gesichtspunkte vorausschicken, die als Ausgangspunkt dafür gedient haben, und zwar sind es die Grund-

1) Nach einem Vortrag, gehalten in der Krakauer Gesellschaft der Aerzte am 17. Januar 1912.

2) Die mir zur Zeit der Niederschrift unbekannt gebliebene grundlegende Arbeit von Preisz (diese Zeitschr. Bd. 58. p. 510), mit der meine Resultate viel Gemeinsames aufweisen, soll in der 2. Mitteilung eingehend gewürdigt werden. (Anmerkung während der Korrektur.)

begriffe der heutigen Variabilitätslehre. (Wer sich des Näheren dafür interessiert, sei auf die Werke von de Vries, Johannsen, sowie auf die gute und gedrungene Uebersicht von v. Gruber und Rüdin verwiesen.) Untersucht man eine Ansammlung von Individuen gleicher Art (eine Population nach Johannsen) auf irgendein Merkmal hin, so wird man eine Reihe von mehr oder minder großen Abweichungen von einem (hypothetischen) Mittelwert finden, die um ihn herum mehr oder minder regelmäßig verteilt sind. In vielen Fällen wird die Kurve dieser Variationen sich als identisch mit der sogenannten Binomial- oder Fehlerkurve von Gauss erweisen. Der Grund dieser Abweichungen kann nun einerseits darin liegen, daß nach ihrer erblichen Konstitution des Keimplasmas („genotypisch“ nach Johannsen) identische Individuen unter dem Einfluß variierender äußerer Existenzbedingung ihre Merkmale in verschiedener Richtung und Intensität ausbilden, daß also ihr angeborener „Genotypus“ in verschiedener Weise modifiziert in Erscheinung tritt als sogenannter „Phaenotypus“ — auf diese Weise kommt die sogenannte „fluktuierende Variabilität“ zustande. Andererseits aber kann es auch vorkommen, daß diese Population kein keimplasmatisch resp. genotypisch einheitliches Gebilde darstellt, sondern ein Gemenge eines oder mehrerer Genotypen darstellt, die hinsichtlich der untersuchten Merkmale mehr oder weniger differieren.

Gerade dieser letztere Fall kann nun bei der Anstellung und Beurteilung von Artumwandlungsversuchen verhängnisvoll werden. Ist nämlich in einer derartigen Population irgendein Typus schwach vertreten und lassen wir nun auf die Population einen bestimmten Faktor durch eine Reihe Generationen einwirken, so kann es vorkommen, daß dieser Faktor die Entwicklung gerade dieses Typus begünstigt und ihm dazu verhilft, über die anderen in der Population mitenthaltene Typen Oberhand zu gewinnen, sie quasi zu erdrücken. Der Experimentator nun, der die Zusammensetzung seines Versuchsobjektes (der betreffenden Ausgangspopulation) nicht kennt, wird glauben, durch Einwirkung des betreffenden Faktors den Arttypus umgewandelt, eine neue Abart oder Art geschaffen zu haben, während er in Wirklichkeit nur Selektion eines präexistierenden Typus mittels äußerer Einwirkung durchgeführt hat. Es ergibt sich aus dieser Ueberlegung die strikte Forderung, zu solchen Versuchen nur genotypisch einheitliches Material zu verwenden, seinen Ausgang von sogenannten „reinen Linien“ (Johannsen) zu nehmen. Die Nichtbeachtung dieser Kautelen bringt es mit sich, daß so manche früheren biologischen Untersuchungen revisionsbedürftig erscheinen, und auch in der bakteriologischen Variabilitätslehre wird es wohl nicht besser darum bestellt sein. Hier haben wir in sukzessiven Plattenisolierungen sowie in dem sinnreichen Tuscheverfahren nach Burri (soweit anwendbar) bequeme Methoden, um uns darüber zu vergewissern, daß wir die Nachkommenschaft eines einzigen Keimes in den Händen haben.

Hat man nun auf diese Weise an einer „reinen Linie“ einen Umwandlungsversuch durchgeführt, so erübrigt es sich noch, die Stabilität der erlangten Umwandlung festzustellen — und damit betreten wir das Gebiet der so viel umstrittenen Frage nach der Erbllichkeit erworbener Eigenschaften. Für das Bakterienreich ist es nun wohl zweifellos, daß hier eine derartige Erbllichkeit vorliegt, wenn auch dies nicht immer eintreten muß. Man wird also nach Möglichkeit den umgewandelten Stamm wieder in „normale“ (so gut wir das eben verstehen) resp. für die untersuchte Funktion optimale Lebensbedingungen zurückversetzen, um zu

entscheiden, ob die Umwandlung nun einer größeren Reihe von Passagen Stand hält oder nicht. Im ersten Fall handelt es sich also um eine wirkliche Transformation des Genotypus, im zweiten Fall kann der neu-erworbene Typus entweder eine Reihe von Generationen noch zutage treten, um dann dem normalen zu weichen — wir sprechen dann von partieller Stabilität — oder aber der neue Typus verschwindet sofort nach der Rückkehr unter normale Lebensbedingungen, er war dann eben nur Ausdruck einer vorübergehenden „phaenotypischen“ Modifikation. Auch in bezug auf diese Anforderungen lassen zumal die älteren Variabilitätsarbeiten in der Bakteriologie oft viel zu wünschen übrig.

II.

Ueber die Koexistenz von sporogenen und asporogenen Rassen in Milzbrandkulturen.

Untersuchungen über die Sporogenie der Milzbrandbacillen, sowie über ihre Variabilität sind bekanntlich in großer Anzahl bereits vorhanden und ihre Resultate gehören mit zu den interessantesten Kapiteln der Bakteriologie. Wenn ich dennoch eine Neubearbeitung dieser Frage unternahm, so geschah es deshalb, weil die soeben erwähnten Arbeiten zum größten Teil noch in den früheren Stadien der Bakteriologie entstanden sind und daher eine Berücksichtigung der früher erörterten Gesichtspunkte noch vermessen lassen.

Den Ausgangspunkt meiner Untersuchungen bildeten Beobachtungen, die ich gelegentlich meiner Studien über den Mechanismus der Sporulation an einer großen Reihe (56) von verschiedenen Milzbrandstämmen machen konnte. Sät man verschiedene Stämme auf Schrägagar oder auf Agarplatten so aus, daß gut isolierte, genügend weit voneinander entfernte Kolonien entstehen, so hat man bei vielen Stämmen nach 2 bis 3-tägigem Wachstum bei ca. 35° C (Optimaltemperatur für die Sporenbildung) ein eigenartiges Bild vor sich. Während nach 12—16 Stunden das Aussehen der verschiedenen Kolonien keine auffälligen Unterschiede dem Auge darbietet, indem alle mattgrau, erhaben, grob oder fein gestrichelt erscheinen, ändert sich das Bild nach 2—3 Tagen. Ein Teil der Kolonien ist weiß (bis kreideweiß) geworden, von glänzender wie lackierter Oberfläche, etwas abgeflacht mit dünnen zerfließenden Rändern, der andere bewahrt seine erhabene Struktur und matte Oberfläche und bekommt einen Stich ins Gelbliche. Bewahrt man die Kulturen noch länger auf, so bleibt das Aussehen des ersten Typus unverändert, während die Kolonien des zweiten Typus allmählich durchscheinend werden, als ob sie einer Selbstverdauung anheimfielen. Die mikroskopische Untersuchung beider Arten von Kolonien gibt näheren Aufschluß über die Ursachen des verschiedenen Aussehens. Der erste Typus zeigt nämlich Stäbchen oder Stäbchenkette, von denen eine mehr oder minder große Mehrzahl sporuliert haben, im weiteren Verlauf aber die bekannte Degeneration der Sporangien, so daß nur noch die nicht zur Sporulation gelangten Stäbchen eine Zeitlang neben den freiwerdenden Sporen erhalten bleiben; hier ist es also wohl die Undurchsichtigkeit der kompakten Sporenschicht resp. der sie umschließenden Membran, die das Weißwerden der Kolonie bedingt, während die Degeneration der Bacillenreste wahrscheinlich für die Abflachung des Belags verantwortlich gemacht werden muß. Der zweite Typus zeigt im mikroskopischen Bild eine sporenlose Vegetation oder (seltener) eine, die nur eine sehr geringe Anzahl von Sporangien hervorgebracht hat. Die Stäbchen bleiben

eine Zeitlang gut erhalten und häufen in ihrem Leib eine mehr oder minder große Anzahl von Fettkugeln an (die bei der sporogenen Rasse zur Sporenbildung mitverbraucht wird), um im weiteren Verlauf autolytischen Prozessen anheimzufallen. Auch hier also eine gute Ueber-einstimmung zwischen makro- und mikroskopischem Verhalten der Kultur.

Nachdem ich dies eigentümliche Bild an einer großen Reihe von Stämmen festgestellt hatte, hielt ich in der Literatur Umschau nach diesbezüglichen Erfahrungen. Tatsächlich fand sich in der großen Arbeit von Preisz — einer wahren Fundgrube von Beobachtungen über den Milzbrandbacillus — folgenden Passus, den ich wegen der Wichtigkeit der Frage hier wörtlich wiedergebe:

„So reichlich auch irgend ein Stamm Sporen bildet, immer gibt es eine Anzahl von Zellen, die es nicht bis zur Sporulation bringen, sondern degenerieren und schließlich zerfallen; ich habe in alten Kulturen nie dergleichen Zellen vermißt. Woran es aber liegt, daß von zwei nebeneinander, unter scheinbar ganz ähnlichen Verhältnissen sich befindlichen Zellen, die eine eine Spore bildet, die andere aber nicht, das ist und bleibt auch wohl ein Rätsel, das wir in den Begriff der Individualität hüllen.“

„Noch überraschender ist die Erscheinung, wonach die auf einer Kulturfläche aus verschiedenen Keimen entstandenen Kolonien so weit verschieden sein können, daß die einen reichlich Sporen bilden, die anderen aber gänzlich sporenlos bleiben oder erst nach langer Zeit und nur höchst spärlich Sporen tragen, was sich nicht nur durch die mikroskopische Untersuchung, sondern auch durch das makroskopische Aussehen der Kolonien zu erkennen gibt. Ich habe ein solches Verhalten an 2 Stämmen (I und III) beobachtet.“

„Daß also im letzteren Falle die aus gleicher Quelle stammenden Keime sich so verschieden verhielten, daß die Kolonien einzelner Keime ihr Ideal die Sporenbildung nicht erreichen konnten, läßt wohl auf eine diesen Keimen innewohnende Schwäche schließen, die zum Untergange der betreffenden Generationen führt.“

So weit Preisz. Nun führte mich aber folgende Ueberlegung einen Schritt weiter: Die einzelnen Kolonien entstammen je einem Keime und sind aus ihm zumeist durch eine Reihe von 20—30 Generationen entstanden — wird nun die Kolonie trotz günstiger Bedingungen für die Sporulation — die nebenstehende sporogene Kolonie beweist dies ja am besten — doch ihr biologisches Endziel nicht erreicht, so muß diese Eigentümlichkeit in gewissen Grenzen stabil sein und sich von einer Generation auf die andere vererben. War dieser Gedankengang richtig, so müßte die Ueberimpfung der sporogenen Kolonien wieder zu sporogenen Tochterkolonien, diejenige von asporogenen wieder zu ebensolchen führen. Das Experiment bestätigt diese Vermutung. Sät man eine gut sporulierende Kolonie wieder so aus, daß man auf der Platte eine Reihe isolierter Einzelkolonien bekommt, so werden sie nach 2—3-tägigem Wachstum bei 35° C auf Agarplatten sich alle wieder als sporogen erweisen, ebenso behält die asporogene Kolonie ihren Typus in all ihren Tochterkolonien. Auch wenn man das Verhalten in einer Reihe von sukzessiven Plattenaussaten prüft, wird man meist die einzelnen Rassen konstant finden — Konstanz der Züchtungsbedingungen natürlich vorausgesetzt ebenso, wie optimale Sporulationsbedingungen. So habe ich von isolierten Kolonien beider Rassen Passagen über 10 Schrägagarröhrchen (Ueberimpfung jede 48 Stunden bei 35° C) angestellt, ohne eine Aenderung des Typus eintreten zu sehen. Ebenso habe ich

ausgehend von der Beobachtung mancher Autoren, daß asporogene Stämme zuweilen durch Tierpassagen ihre Sporogenität wieder erlangen können, zwei asporogene Rassen (A Pr V asp., sowie A Pr VI asp.) über eine Reihe von Meerschweinchen geschickt, um eventuelle Regeneration der Sporogenität zu bewirken. Es wurde 1 Oese Kulturmaterial intraperitoneal eingespritzt und nach dem Tode des Meerschweinchens aus Oedemflüssigkeit, Herzblut, Lungen-, Leber-, Milz- und Nierensaft Kulturen auf Schrägagar ausgestrichen, die nach 3-tägigem Wachstum bei 35° C auf ihre Sporogenität untersucht wurden. Sodann wurde die Herzblutkur wieder zur Infektion des folgenden Passagetieres benutzt. Auf diese Weise passierte Stamm A Pr VI asp. 8 Meerschweinchen, Stamm A Pr V asp., deren 11 ohne Abweichung vom Typus zu zeigen. Die Kulturen zeigten dabei eine gewisse Virulenzzunahme, indem in späteren Passagen mit geringerer Infektionsdosis der Tod der Versuchstiere früher eintrat, als im Anfang. Mit vielen asporogenen Kulturen sind solche Versuche nicht durchzuführen infolge ihrer mangelhaften Virulenz.

Doch ist die Konstanz nicht immer eine absolute. So fand ich bei einer Passage einer scheinbar asporogenen Kolonie über Schrägagar, daß aus einem Passageröhrchen das 16 Tage lang mit Korkverschluß bei 35° C aufbewahrt wurde, bei Aussaat auf ein frisches Agarröhrchen eine Generation aufwuchs, die doch noch allerdings in seltenen Exemplaren es zur Sporenbildung brachte. Ob hier Regeneration des Sporenbildungsvermögens oder eine sogenannte „Rückmutation“ vorliegt, läßt sich ohne besonders eingehende Analyse wohl nicht entscheiden.

Wir stehen also vor der jedenfalls bedeutsamen Tatsache, daß man in unseren Laboratoriumsstämmen des Milzbrandbacillus zwei Rassen von verschiedener biologischer Dignität oft nebeneinander vorfindet, die ihre Eigenschaften in aufeinanderfolgenden Generationen konstant erhalten. Eine Analyse der 56 Stämme, über die unsere Sammlung verfügt, zeigte, daß es Stämme gibt, die ausschließlich sporogene Kolonien führen, diese sind sehr selten — daneben ausschließlich asporogene Stämme — das sind manche alte Kulturen, sowie manche Vaccins — die Mehrzahl besteht aus einer Mischung beider Rassen in wechselndem Verhältnis. Die oben besprochenen makroskopischen Unterscheidungsmerkmale der Kolonien beider Abarten sind nicht immer gleich gut ausgeprägt — am besten traten sie auf mehrfach autoklaviertem, etwas gedunkeltem Agar auf, wo die gelben (mit einem Stich ins Grünliche) erhabenen matten asporogenen Kolonien von den flachen kreideweißen, glänzenden flachen sporogenen sehr gut abstachen. Auf einem derartigen günstigen Nährboden fällt es nach geringer Uebung ziemlich leicht makroskopisch die Art des Typus sicher zu unterscheiden.

Ich habe außerdem noch versucht auch auf andere Weise den Unterschied beider Rassen sinnfällig deutlich zu machen. Sata hat seinerzeit gezeigt, daß man durch alkoholische Sudanlösung an manchen Bakterienkulturen eine makroskopische Fettreaktion bekommt, indem der Kulturbelag sich lachsfarben bis rötlich anfärbt. Die Technik der Reaktion ist einfach — auf die Agarkultur wird Alkohol gegossen und 10 Minuten lang darauf belassen, sodann wirkt alkoholische Lösung von Sudan III ebenfalls 10 Minuten lang ein, endlich wird kurz mit Spiritus nachgespült. Mit Hilfe dieser Reaktion ist es Preisz gelungen, die sekundären Oberflächenkolonien beim Milzbrandbacillus vom Kulturbelag färberisch zu differenzieren, indem die darin reichlich enthaltene säure-

feste Substanz (Fettstoff nach A. Meyer, sowie Eisenberg) eine orangerötliche Färbung derselben bedingt. Stellt man nun solch einen Färbungsversuch an einer Schrägagar- oder Plattenaussaat eines Milzbrandstammes an, die nebeneinander gut isolierte Kolonien beider Rassen (am besten ältere Kulturen) aufweisen, so färben sich die sporogenen Kolonien kaum merklich rosa, die asporogenen viel intensiver lachsrosa bis dunkelrosa. Eine noch schönere Färbung ergab bei gleicher Behandlungsweise der schöne Fettfarbstoff Indophenolblau (ebenfalls in alkoholischer Lösung), bläulichgraue sporogene Kolonien neben deutlich blauen asporogenen. Auch hier ist der färberische Unterschied dadurch bedingt, daß die Bacillen der asporogenen Rasse in ihren Zellen Fett in Form von Kugeln aufspeichern, während die sporogene dasselbe bei der Sporenbildung verbraucht.

Auf die Herkunft und biologische Bedeutung der asporogenen Rassen soll noch weiter unten näher eingegangen werden.

III.

Ueber die Auslese von sporogenen resp. asporogenen Rassen.

Wir haben oben gesehen, daß es durch Aussaat auf Einzelkolonien gelingt, die beiden Rassen reinzuzüchten. Außer dieser mechanischen Isolierungsmethode (hierher wäre auch die Methode von Barber zu rechnen, der mit Hilfe von Glaskapillaren eine einzelne asporogene Zelle von *Bac. megatherium* isolierte und weiterzüchtete) habe ich noch versucht, auf biologischem Wege zu demselben Ziel zu gelangen. Für die Isolierung der sporogenen Rasse war natürlich der naheliegendste Weg durch die biologische Eigenart der Sporen angezeigt, nämlich ihre erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen diverse Schädlichkeiten. Ich habe es mit dem Erhitzen versucht und tatsächlich ergab die Aussaat von auf 70° resp. 80° resp. 90° 10 Minuten lang erhitztem Material aus einer Mischkultur eine ausschließlich aus gut sporogenen Kolonien bestehende Nachkommenschaft. Es ist zweifellos, daß es auch durch (einmalige, kurzdauernde!) Einwirkung anderer Schädlichkeiten von nicht also großer Intensität, also von Antiseptics, diversen Strahlenarten, Kälte, hohem Druck u. dgl. gelingen müßte, eine Mischkultur von den asporogenen Anteilen zu befreien. Natürlich muß man dabei allzu große Schädlichkeiten vermeiden, denn es könnte dann vorkommen, daß zwar die asporogenen Zellen abgetötet, zugleich aber die sporogenen nicht abgetötet, aber in ihrer Vitalität derart geschädigt würden, daß sie wenigstens zum Teil eine vorübergehend oder konstant asporogene Nachkommenschaft liefern würden. Eine derartige Möglichkeit ist nach den vorliegenden sowie noch mitzuteilenden Versuchen über „künstliche“ Umwandlung sporogener Rassen in asporogene als ziemlich naheliegend zu bezeichnen.

Ein anderer Weg erwies sich als zweckmäßig, um eine Auslese in umgekehrter Richtung zu bewirken, d. h. um aus einer Mischkultur eine reine asporogene Rasse zu erhalten. Den Weg dazu wies ein unbeabsichtigtes Experiment, das als Kontrolle zu später noch zu besprechenden Umwandlungsversuchen dienen sollte. Parallel mit einer Passage über Glycerinagar wurde eine Mischkultur tagtäglich en bloc von einem Schrägagarröhrchen (gewöhnlicher Agar) aufs andere überimpft. Man sollte nun meinen, daß auf diese Weise allerbeste Bedingungen für das Fortkommen der Kultur gesichert waren und wenigstens verlangen, daß die von Haus aus ziemlich gut sporulierende Kultur diese Eigenschaft

auch fernerhin beibehalte. Zu meinem Erstaunen ergab die Untersuchung der 10. Passage nach längerem Aufenthalt im Brutschrank eine ganz sporenfreie Kultur. Wie war dieses paradoxe Verhalten zu deuten? Wurde nun der Versuch mit einer reingezüchteten sporogenen Rasse wiederholt, so blieb der Typus ständig erhalten, es konnte sich also im ersten Falle wohl nur um eine Auslese der im Ausgangsmaterial in Minderzahl anwesenden asporogenen Rasse handeln. Das Zustandekommen dieser Auslese dürfte wohl am besten folgendermaßen aufzufassen sein: Impft man von einer alten Mischkultur auf einen frischen Nährboden ab, so sind die darin enthaltenen Sporen — Abkömmlinge der sporogenen Rasse — unbeschädigt oder nur unwesentlich geschädigt, die darin ursprünglich vorhanden gewesenen Stäbchen der asporogenen Rasse zum Teil abgestorben, zum Teil aber in ihrer Vitalität abgeschwächt. Kommt nun dieses Gemenge auf einen frischen Nährboden, so werden die Sporen nach einer Reihe von 2—20 Stunden je nach ihrem biologischen Zustand aus ihrem Schlummerdasein erwachen und durch Keimung und nachfolgende Teilungsvermehrung eine neue sporogene Generation zur Welt bringen. Die geschädigten Stäbchen der asporogenen Rasse werden auch wohl einer gewissen Erholungszeit bedürfen, um sich wieder vermehren zu können und wird das Vermehrungstempo dieser geschädigten Generation wenigstens anfangs ein verlangsamtes sein. Auf diese Weise sind wir beim Abimpfen von alten Mischkulturen gegen das Ueberwuchern der asporogenen Keime gesichert; sofern natürlich die Sporengeneration eine gesunde war. Anders steht es, wenn wir aus einer relativ jungen Mischkultur überimpfen: Nehmen wir an, beide Rassen wären in ihr gleich vertreten und wir hätten also nach etwa 24—30-stündigem Wachstum 100 Sporen auf 100 asporogene Stäbchen. Wir überimpfen nun auf ein frisches Agarröhrchen; die 100 Sporen brauchen 2—12 Stunden Zeit, bis sie keimen und während dieser Zeit bleibt ihre Zahl unverändert; die asporogenen Stäbchen dagegen, nach ihrer kurzen Lebensdauer von 24—30 Stunden noch wenig oder gar nicht geschädigt, werden sich wohl bald zur Teilung anschicken und gewinnen während der Anfangsstunden die Oberhand über die Sporen, indem sie es z. B. auf 1000 Stäbchen bringen. Nach 5 Stunden also (wir nehmen diese Mittelzahl als Latenzstadium der Sporenkeimung) sind es einerseits 100 sporogene Stäbchen und 1000 asporogene, die sich von nun an gleichmäßig vermehren werden. Das Resultat ist ein 10mal stärkerer Anteil der asporogenen Rasse an der Mischkultur als der sporogenen. Das ursprüngliche Verhältnis von 1:1 verschiebt sich zu 10:1. Wiederholt sich dieser Vorgang mehrere Male, so wird das Verhältnis für den sporogenen Anteil immer ungünstiger, bis derselbe ganz aus dem Gemisch verschwindet. Daß derartige Vorkommnisse einmal auch unbeabsichtigterweise zu einem scheinbaren „Verlust des Sporenbildungsvermögens“ führen können, werde ich im folgenden Abschnitt an einem Versuch Selters wahrscheinlich zu machen versuchen.

IV.

Ueber die Umwandlung der sporogenen Rasse in eine asporogene.

Indem ich jetzt an die in der Ueberschrift genannte Frage, eine der Hauptfragen meiner Arbeit herantrete, möchte ich vorausschicken, daß bereits seit geraumer Zeit zahlreiche Mittel angegeben worden sind, um sporogene Bakterien in asporogene zu verwandeln. Wie man aus der

in jüngster Zeit erschienenen Zusammenstellung der Literatur von Baudet ersehen kann, sind die Resultate der betreffenden Versuche keineswegs übereinstimmend und soll im allgemeinen nur die Züchtung in karbolhaltigen Nährböden einigermaßen verlässliche Resultate liefern (auch das nur bei manchen Stämmen). Auch ich habe bereits vor Jahren in Anlehnung an Versuche von Phisalix, sowie von Surmont und Arnould einen Milzbrandstamm 60 Passagen auf gewöhnlichem Schrägagar bei 42° C durchmachen lassen und bin dadurch zu einem dauernd asporogenen (wenn auch degenerierten) Stamm gelangt, der bis jetzt sich nicht weiter geändert hat.

Alle diese Versuche aber sind, wie ich schon in der Einleitung hervorgehoben habe, für die Frage nach einer wirklichen Umwandlung des Typus nicht beweiskräftig, da sie nicht an „reinen Linien“ vorgenommen wurden und deshalb der Einwand naheliegt, daß die diversen schädigenden Einflüsse eine Auslese der eventuell in den Kulturen mit-anwesenden asporogenen Stäbchen bewirkt haben konnten. Nehmen wir z. B. die Untersuchungen von Selter, die uns auch in anderer Richtung mehrfach interessieren. Selter verwandte dazu zwei gut sporulierende Stämme B und C und überimpfte dieselben 24-stündig von Glycerinagar zu Glycerinagar; Stamm B zeigte Sporenbildung bis zur 7. Generation, von der 5. an nur ganz vereinzelt, Stamm C nur bis zur 3., die 6. und 8. Generation ergaben, auf gewöhnlichen Agar überimpft, keine Sporenbildung. Wenn nun Selter daraus den Schluß zieht, daß „Stamm C, ein junger, gut sporulierender Stamm auf Glycerinagarröhrchen schon nach 3maligem Ueberimpfen in einen asporogenen umgewandelt worden war“, so kann man die Berechtigung dazu aus verschiedenen Gründen anzweifeln. Erstens pflegen wir von „Asporogenie“ als von einer (wenn auch nicht absolut) dauerhaften Eigenschaft zu sprechen und davon kann uns die einmalige Rückimpfung auf gewöhnlichen Agar resp. 2 Mäusepassagen kaum überzeugen. Sodann aber ist es sehr wahrscheinlich, daß Selter Mischkulturen in den Händen gehabt hat, und zwar gründet sich diese Annahme auf folgende Angabe von Selter. Stamm C wurde zur Kontrolle auch auf gewöhnlichem Agar von Tag zu Tag fortgezüchtet und hier zeigte sich nun (bei einem frisch aus einer Kuh gezüchteten Stamm!) „bis zur 14. Generation noch ziemlich gute Sporenbildung, von da an sind nur noch vereinzelt Sporen zu finden“. Ebenso fand er bei Passagen auf Milchzuckeragarröhrchen (wo die Sporulation gar nicht behindert wird) „bis zur 7. Generation schöne Sporenbildung, von da an nur ganz vereinzelt, von der 9. an keine Sporenbildung mehr; Ueberimpfen der B-Generation auf andere Nährböden, sowie in Wasser und 0,8-proz. Kochsalzlösung erwiesen sie als asporogen“. Die wahrscheinlichste Erklärung für dieses unerwartete Vorkommnis ist nach dem oben Gesagten wohl darin zu finden, daß eine geringe Beimengung von asporogenen Stäbchen durch das Ueberimpfen nach je 24 Stunden über die sporogene Majorität die Oberhand gewann und sie dann fast ganz verschwinden ließ. War dem aber so, dann kann man wohl kaum mit Sicherheit behaupten, einen sporogenen Stamm in einen asporogenen umgewandelt zu haben, es kann ebensogut auf dem Glycerinagar ein Auslesevorgang erfolgt sein. Nach dem Gesagten wird man wohl Hansen Recht geben müssen, wenn er über die diesbezüglichen bisherigen Arbeiten den Ausspruch fällt: „Die französischen Forscher und ihre Nachfolger verfolgten nur den Zweck, nachzuweisen, daß *Bac. anthracis* als sporenlöse Varietät auftreten könne und ihre Untersuchungen

geben gar keinen Aufschluß über die Frage, ob eine Umbildung oder nur eine Auserwählung, eine Begünstigung von bereits zuvor in der behandelten Vegetation vorhandenen sporenlösen Zellen stattfindet; eine diesbezügliche Frage stellten sie überhaupt nicht“.

Ich gehe nunmehr zur Schilderung meiner eigenen Umwandlungsversuche über. Vorbedingung war natürlich nach dem Gesagten der Besitz von „reinen Linien“, also von Einzellkulturen in unserem Fall. Leider läßt sich das Idealverfahren für solche Zwecke, die ingenieure Tuschemethode von Burri, nicht immer anwenden und auch im Falle der Milzbrandbacillen steht ihrer Anwendbarkeit die schlechte Isolierbarkeit der Einzelzellen sowie das mangelhafte Sporenkeimungsvermögen in der Tuschenumgebung hinderlich entgegen. Ich glaube aber in Uebereinstimmung mit Baerthlein; daß es durch systematische, Plattenaussaaten wohl gelingen kann, diese Schwierigkeit zu umgehen, und daß auch noch so kritische Beurteiler durch Ergebnisse, wie z. B. die von Baerthlein, sich überzeugen lassen müssen. Von 2 Stämmen (AN3 und AR4) wurden mittels Plattenaussaat je eine Kolonie der sporogenen Rasse isoliert, davon wieder eine Aussaat gemacht, von einer einzelnen sporogenen Kolonie wieder auf Platten ausgesät und so wurde der Vorgang 8mal wiederholt. Wenn man bedenkt, daß nach Holm (bei Hefen) 100 Kolonien auf Platten, im schlimmsten Falle aus 135 Zellen und im Mittel aller Beobachtungen aus 108 Zellen herangewachsen waren, so ist die Wahrscheinlichkeit eine Mischkolonie vor sich zu haben, für die erste Generation (den Mittelwert angenommen) $\frac{8}{100}$, für die achte Generation $(\frac{8}{100})^8 = \frac{16384000}{1000000000000000}$ oder annähernd $= 1:500$ Millionen, also praktisch gleich Null. Selbst wenn man den schlechtesten Wert annimmt und durch alle Generationen hindurch eine Häufung dieser ungünstigsten Eventualität voraussetzt, bekommt man als Wahrscheinlichkeit für diese 8. Generation ungefähr $(\frac{1}{8})^8 = 1:6561$, also auch eine verschwindend kleine Wahrscheinlichkeit.

Noch auf einen Punkt möchte ich nicht unterlassen, hier einzugehen, nämlich auf die Art der Feststellung des Sporenbildungsvermögens. Als solche wählte ich das mikroskopische Präparat und zwar nicht nur aus Gründen der Raschheit und Bequemlichkeit, sondern auch aus einem prinzipiellen Grund. In dem an sich gewiß richtigen Bestreben eine exakte und objektive Basis für die Beurteilung des Sporenbildungsvermögens zu gewinnen, ist von Weil, Schreiber u. a. die sogenannte biologische Probe eingeführt worden, die darin besteht, daß man das auf etwa gebildete Sporen zu untersuchende Material in Wasser aufgeschwemmt, einige Minuten lang auf 80° C erhitzt und nun durch Aussaat sich vergewissert, ob lebende Keime darin noch vorhanden sind, die man dann als Sporen anspricht. Diese Methode setzt voraus, daß vegetative Formen unter diesen Umständen immer und absolut abgetötet werden. Nun habe ich bereits vor einigen Jahren gelegentlich von Milzbrandstudien feststellen können, daß dies wohl nicht ausnahmslos zutrifft, daß es wohl auch unter den vegetativen Formen asporogener Kulturen (in Minderzahl anwesende) resistenter Keime gibt, die Temperaturen von 80°, selbst 90° C eine zeitlang standhalten. Nun muß man sich vor Augen halten, daß eine Untersuchung mit der biologischen Methode eben nur in solchen Fällen angezeigt wäre, wo das Präparat also die Durchmusterung von sagen wir Hunderttausend bis zu einer Million von Stäbchen keine Sporenbildung entdecken läßt; in solchem Fall aber besteht eben die Gefahr der Verwechslung dieser resistenten „Ausnahms-

keime“ mit Sporen. Aus diesem Grund habe ich von der biologischen Methode Abstand genommen und mich mit einer sorgfältigen Prüfung von gefärbten Präparaten begnügt, die nach meiner Erfahrung bei gewisser Uebung ganz zuverlässige Resultate liefert. Eins muß dabei freilich berücksichtigt werden, das ist die eventuell verzögerte Sporulation irgendwie modifizierter Stämme, und ich habe deshalb in der Regel erst nach 3—4-tägigem Aufenthalt der Agarkulturen bei 35° C die Untersuchung auf Sporen vorgenommen, in manchen besonders wichtigen Fällen aber Agarröhrchen unter Korkverschluß bis zu 2 Wochen bei dieser Temperatur belassen, um ganz sicher zu gehen. Eine Verwechslung von Fettröpfchen, die ja gerade in asporogenen Kulturen reichlich zu finden sind, mit Sporen ist nach meiner Erfahrung für einen geübten Untersucher wohl als ausgeschlossen zu betrachten, wenngleich sie in früheren Zeiten wohl öfters vorgekommen sein mag.

Untersucht man nun eine 3-tägige Agarkultur eines scharf ausgelesenen sporogenen Stammes und zwar am besten eine gut isolierte Einzelkolonie, so findet man 90—97 Proz. aller Stäbchen sporulierend oder bereits versport. Man könnte nun etwa einwenden, die 3—10 Proz. der nicht versporteten Keime entsprächen einer asporogenen Beimischung und man hätte doch nicht eine „reine Linie“ erlangt. Wäre dem so, dann müßte man erwarten, daß durch Aussaat dieser Kolonie 90 bis 97 Proz. sporogene und 10—3 Proz. asporogene Kolonien entstehen, was aber nicht der Fall ist, denn es entstehen daraus wieder 100 Proz. Kolonien, die unter optimalen Bedingungen wieder nur 90—97 Proz. sporogene Individuen aufweisen werden. Das ist ja übrigens auch nicht zu verwundern; in einer solchen Kolonie (eventuell auch in einem homogenen Belag) haben wir ja eine Reihe verschiedener Generationen von verschiedenem Alter. Untersuchen wir etwa nach 30 Stunden, dann hat die älteste Generation etwa in der Mitte der Kolonie bereits sporuliert, die jüngsten Generationen am Rande sind noch nicht dazu gekommen. Untersuchen wir nach 3—4-tägigen Wachstum, so wird wohl die Mehrzahl der Stäbchen (einen gut sporulierenden Stamm vorausgesetzt) sich versport haben, doch können nicht alle Stäbchen das Endziel erreichen, indem die Erschöpfung des Nährbodens, sich anhäufende Stoffwechselprodukte (Autotoxine), ungenügende Durchlüftung der tieferen Schichten u. dgl. eine zu große Intensität erreichen (in mäßiger Intensität bilden sie wohl den zur Sporulation nötigen Reiz) und eine Reihe verspäteter Nachzügler an der Sporulation verhindern. Man wird also wohl verstehen, daß der Idealfall von 100 Proz. sporulierenden Stäbchen kaum je eintreten kann und daß man sich mit den 90—97 Proz. als Charakteristikum der sporogenen Rasse wird begnügen müssen. Es sei übrigens in dieser Richtung darauf hingewiesen, daß man z. B. bei Untersuchungen über die Variabilität des Farbstoffbildungsvermögens (bei *B. prodigiosum*, *B. Kieliense* etc.) oder des Zuckerspaltungsvermögens (bei *B. coli*) keine Gewißheit hat, daß alle Individuen einer gefärbten Kolonie an der Farbstoffproduktion oder alle Individuen einer spaltenden Kolonie an der Fermentproduktion auch teilgenommen haben man begnügt sich eben mit der globalen Feststellung sowie mit der Tatsache, daß die Nachkommenschaft dieser Kolonie wieder lauter farbstoff- resp. fermentbildende Kolonien aufweisen wird. Man kann eben von einer „absolut“ sporogenen Rasse verlangen, daß jedes Individuum unter optimalen Bedingungen sporuliert. Aber praktisch lassen sich eben diese Bedingungen nicht ausnahmslos für alle Angehörigen herstellen,

sondern eben nur für eine mehr oder weniger überwiegende Mehrzahl, ebenso wie z. B. in einer noch so lebhaft beweglichen Kultur immer vereinzelte Keime die Beweglichkeit werden vermischen lassen. Praktisch gesprochen ist der Unterschied zwischen einer Kultur die 90—97 Proz. sporentragende Stäbchen und einer solchen, die kein einziges aufweist, groß genug, um von zwei verschiedenen Rassen zu sprechen und nicht geringer, als etwa der Unterschied zwischen der sporulierenden und einer von Haus aus nicht sporulierenden Art.

Um nun an den von mir in der beschriebenen Weise erhaltenen sporogenen Rassen der Stämme AN3 sowie AR4 die Möglichkeit einer Umwandlung in asporogene Rassen zu prüfen, wählte ich Passagen über Glycerin- und Traubenzuckeragar. Daß unter den vielen in der Literatur für diesen Zweck angegebenen Verfahren meine Wahl gerade auf dieses fiel, hat seinen Grund darin, daß alle anderen ziemlich schwere Eingriffe in das Leben des Bacillus darstellten und auf diese Weise nicht nur das Sporenbildungsvermögen, sondern auch die Lebensfähigkeit der betreffenden Stämme leicht Schaden leidet. Wird aber die Schädlichkeit zu gering bemessen, so verfehlt man oft den Zweck, indem die Sporulation nicht erlischt. Daher auch in der Literatur in einer Reihe von Fällen die betreffenden Versuche versagten, aus anderen aber die Stämme als Krüppel hervorgingen, die über kurz oder lang abstarben. Der Glycerinagar bietet dagegen nach den Erfahrungen von verschiedenen Autoren (und auch nach eigenen Feststellungen im Verlauf früherer Arbeiten) den Vorteil, daß auf ihm die Milzbrandbacillen sehr üppig gedeihen und in ihrer Vitalität wohl kaum geschädigt werden. Die Sporulation von gut sporulierenden Stämmen ist auf Glycerinagar stark gehemmt (spärliche Sporen nach längerer Zeitdauer) oder auch ganz unterdrückt, auf Traubenzuckeragar meist nur herabgesetzt und verzögert (der Glycerin resp. Zuckersatz war auf 5 Proz. bemessen). Den Grund dieser eigenartigen Erscheinung sieht Selter neben einer Säurebildung in „einer gewissen antiseptischen Kraft des Glycerins“. Nach meinen Untersuchungen dürfte der letztere Faktor wohl kaum in Frage kommen. Um nämlich den Einfluß der durch die Milzbrandbacillen aus dem Glycerin resp. Traubenzucker abgespaltenen Säure zu paralysieren versetzte ich die betreffenden Nährböden mit einem Zusatz von Schlemmkreide, den seinerzeit Beijerinck zum Nachweis von Säurebildung durch Bakterien empfohlen hatte. Es zeigte sich nun in Parallelversuchen, daß während auf dem Glycerinagar ohne Kreide keine Sporulation eingetreten war, auf den Röhrrchen mit Kreide herrlichste Versporung zu sehen war (daneben relativ viele eingekapselte Individuen!). Dasselbe ergaben Versuche mit Traubenzuckeragar. Es gelingt demnach durch schonende und allmähliche Neutralisation der abgespaltenen Säure die Hemmung ganz zu beseitigen.¹⁾ Ihr Mechanismus wäre also etwa folgendermaßen aufzufassen: Infolge der reichlichen Nahrung erfolgt im Anfang sehr üppiges Wachstum — zumeist üppiger als auf gewöhnlichem Agar — und erst allmählich erreicht die von der großen Kulturmasse gebildete Säure eine Konzentration, die die Sporulation erschwert oder unmöglich macht, und die dann weiterhin als Regulator wirkt, indem sie eine weitere Vermehrung der Stäbchen und Weiterproduktion von Säure hintanhält. Die an der Sporulation gehinderten Stäbchen können nun das aus Glycerin resp. Zucker gebildete Fett nicht aufbrauchen und

1) Ähnliches beobachtete Garbowski beim *Bac. luteus*.

speichern es in Form von kugligen Gebilden in ihrem Zelleib auf, eine Tatsache, die Ružička zu ziemlich weitgehenden, wohl aber unbegründeten biologischen Spekulationen verführt hat. Diese eigenartige Wirkung des Glycerin- resp. Zuckerzusatzes läßt eben diese Methode als für Umwandlungsversuche besonders geeignet erscheinen, indem die Stäbchen im Vermehrungsstadium ganz unbehindert sich entwickeln können und die Schädlichkeit erst im Sporulationsstadium einsetzt, während bei den Zusätzen von Antiseptics resp. Züchtung bei höherer Temperatur die Schädlichkeit beide Stadien gleichmäßig trifft und wohl deshalb leicht allzutiefe Degeneration bewirkt.

Die in oben beschriebener Weise erhaltenen sporogenen Rassen von AN3 und AR4 wurden nun auf Schrägagarröhrchen von Glycerin- und Traubenzuckeragar in der Weise fortgezüchtet, daß 24-stündlich auf ein neues Röhrchen überimpft wurde. Nach 5 derartigen Passagen wurde von den Röhrchen auf gewöhnlichen Schrägagar überimpft und dieser nach 3-tägigem Aufenthalt bei 35° C auf Sporenbildung untersucht. Es ergab:

- AN3 5. Glycerinpassage: Sehr seltene Sporenbildung.
do. 5. Traubenzuckeragarpassage: $\frac{2}{3}$ Kolonien von asporogenen $\frac{1}{3}$ von sporogenem Typus, freie Sporen in mäßiger Anzahl.
AR4 5. Glycerinpassage: Keine Sporenbildung, Kolonien von asporogenem Typus.
do. 5. Traubenzuckerpassage: Ebenso.

Die Passagen wurden weiter bis zur 10. fortgesetzt und sodann wieder auf gewöhnlichen Schrägagar ausgesät; es ergaben nach 10-tägigem Wachstum bei 35° C:

- AN3 10. Glycerinagarpassage: Kolonien von asporogenem Typus, keine Sporenbildung.
do. 10. Traubenzuckeragarpassage: Die Hälfte der Stäbchen sporuliert.
AR4 10. Glycerinagarpassage: Kolonien von asporogenem Typus, keine Sporenbildung.
do. 10. Traubenzuckeragarpassage: Ebenso.

Wir ersehen aus dem Versuch, daß der Stamm AN3 sein Sporenbildungsvermögen hartnäckiger beibehält, als AR3, daß es auf Glycerinagar bei beiden Stämmen gelungen ist den Verlust der Sporenbildung herbeizuführen, und zwar früher bei AR4 als bei AN3, auf Traubenzuckeragar dagegen nur bei AR4. Leider wurde in diesem Versuch unterlassen die Konstanz der erworbenen Asporogenie eingehender und länger zu prüfen und deshalb wurde der Versuch in etwas größerem Maßstab diesmal an AN3 wiederholt.

Aus der 8. Generation der sporogenen Rasse von AN3, die immer von einzelnen sporogenen Kolonien weitergezüchtet wurde, erfolgte Ueberimpfung auf Glycerinagar und von hier jede 24 Stunden (bei 35° C) in ununterbrochener Passage auf ein weiteres Glycerinagar-röhrchen. Von der 10. Passage erfolgte Probeaussaat auf gewöhnlichen Agar (Platten); alle untersuchten Kolonien wiesen nach 3-tägigem Wachstum bei 35° C asporogenen Typus auf und zeigten im mikroskopischen Bild keine Spur von Sporenbildung. Von der 20. Passage, welche den eigentlichen Versuch abschloß, wieder Probeaussaat auf Platten von gewöhnlichem Agar; 20 Einzelkolonien nach 4 Tagen bei 35° C untersucht, erwiesen sich ausnahmslos als asporogen. Von dieser 20. Passage auf Glycerinagar wurde auf gewöhnlichen Schrägagar überimpft und nun jede 24 Stunden auf einen ebensolchen weitergeimpft. Als man bei der 20. Probepassage auf gewöhnlichem Agar angelangt war, wurde wieder eine Plattenaussaat auf gewöhnlichem Agar vorgenommen; 30 nach 4 Tagen bei 35° C untersuchte Kolonien waren noch immer asporogen. Nach 25 Probepassagen auf gewöhnlichem Agar ergab

eine Platteaussaat wieder lauter asporogene Kolonien. Es war hier also nach 20 Passagen über Glycerinagar aus einer sporogenen Rasse eine asporogene gezüchtet worden, die ihre neuerworbene Eigenschaft (resp. den Verlust eines wichtigen biologischen Kennzeichens) durch 25 Passagen (ca. 500—800 Generationen) auf gewöhnlichem Agar unter optimalen Bedingungen beibehielt. Es erscheint somit wohl zum erstenmal der exakte Nachweis der Umwandlung einer sporogenen Rasse in eine asporogene geliefert. Ob die auf diese Weise erhaltene Abart ebenso wie die von Hansen aus einer sporogenen Rasse bei supramaximaler Temperatur herangezüchtete asporogene Hefenrasse 17 Jahre hindurch ihre Eigentümlichkeit bewahren wird, läßt sich natürlich nicht voraussagen; eine Konstanz über 500 Generationen ist jedenfalls auch schon sehr bemerkenswert. Ob die Umwandlung etappenweise vor sich geht (wofür manche meiner Beobachtungen sprechen) oder ob auch mutationsartige Vorgänge mitspielen, darüber sollen besondere Versuche Aufschluß geben, die bereits im Gange sind. Bei Besprechung der künstlichen Erzeugung von asporogenen Stämmen hat vor kurzem Garbowski in einer interessanten Arbeit folgende nicht unberechtigte Bedenken darüber geäußert: „Man könnte daher meinen, daß die Möglichkeit, verhältnismäßig leicht durch chemische oder physikalische Momente die Erscheinung der Asporogenie des *Bac. anthracis* herbeizuführen, mehr durch die Bedingungen der künstlichen Kultur überhaupt und vielleicht auch durch die spezifische Variabilität von diesem Organismus in bezug auf das Sporenbildungsvermögen, als gerade durch diejenigen verschiedenen äußeren Agentien, deren Wirkung sie zumeist zugeschrieben wird, verursacht wird. Fälle dauernder Asporogenie lebensfähiger Stämme (auch unter optimalen Bedingungen für die Sporenbildung) sind — wie es scheint — mit Sicherheit bis jetzt nicht bekannt.“ Ich glaube nun in dem soeben beschriebenen Versuche durch die angewandten Kautelen all diese störenden Faktoren nach Möglichkeit ausgeschaltet und die Möglichkeit einer solchen Umwandlung durch äußere Einwirkungen zweifellos dargetan zu haben. Was aber die Lebensfähigkeit der so erhaltenen Stämme betrifft, möchte ich bemerken, daß ich Stamm AN3 in seiner durch 20 Glycerinagarpassagen asporogen gemachten Varietät aus gewöhnlichem nicht besonders gegen Eintrocknen geschützten, fast ganz vertrockneten, 8 Monate lang bei Zimmertemperatur aufbewahrten Schrägagarröhrchen wieder herauszüchten konnte. Freilich kann sich die Vitalität einer asporogenen Rasse nicht mit derjenigen einer gut versporteten messen; das kann aber sicherlich auch nicht von ihr verlangt werden, sondern nur derjenige Grad von Vitalität, der z. B. mäßig empfindlichen, von Haus aus asporogenen Arten eigen ist.

Im Anschluß an diese Versuchsreihen sei noch eine mitgeteilt, die einen anderen Verlauf nahm. Gelegentlich anderer Versuche habe ich die Beobachtung gemacht, daß auf stark autoklaviertem Agar die Sporenbildung beeinträchtigt wird und wollte nun erfahren, ob es vielleicht auf diesem Wege ebenfalls gelingen würde, eine sporogene Rasse in eine asporogene umzuwandeln. Zu dem Zweck wurden isolierte sporogene Rassen der Stämme AN3 und AR1 auf stark autoklavierten Schrägagar überimpft und jede 24 Stunden auf ein weiteres Röhrchen fortgeimpft. Nach 6 Passagen wurde auf je ein gewöhnliches Schrägagarröhrchen zur Probe ausgesät; nach 3 Tagen bei 35° ergab

AN3 Die Kolonien zur Hälfte sporogen, zur Hälfte asporogen.
AR1 Lauter asporogene Kolonien.

Nach 20 Passagen ergab eine erneute Probeaussaat:

AN3 Kolonien vorwiegend sporogen.

AR1 Kolonien schwach sporogen.

Der Versuch ergab also in bezug auf definitive Umwandlung ein negatives Resultat, umgekehrt zeigte die mäßige Hemmung der Sporenbildung nach der 6. Passage später einen Rückgang wohl infolge von inzwischen erfolgter Anpassung an die ungünstigen Verhältnisse. Dennoch scheinen mir solche Versuche, wie die mit Stamm A R 1, nicht ohne Interesse zu sein, indem sie auf die Möglichkeit vorübergehender oder partieller Umstimmungen hinweisen, die bisher mit Unrecht zugunsten „absoluter Umwandlungen“ vernachlässigt und verächtlich beiseite geschoben wurden. Wir sind nur dazu da, die Erscheinungen und ihre Verknüpfung festzustellen und eine nur temporär erbliche Beeinflussung ist nicht minder interessant als eine definitive (die Bezeichnung gilt ja auch hier nur für eine beschränkte Beobachtungsdauer — auf unserem Gebiet von Monaten oder im besten Fall von Jahren), umsomehr, wenn sich zeigen sollte, daß zwischen Einwirkungsdauer eines bestimmten Faktors resp. seiner Intensität und der Stabilität der durch ihn bewirkten Umwandlung gesetzmäßige Beziehungen bestehen, was wir heute nur vermuten können. Untersuchungen in dieser Richtung sind bereits im Gange. Erwähnenswert scheint mir noch eine Beobachtung, die ich an der 9.—20. Passage des Stammes AR3 auf stark autoklaviertem Agar bei ständiger Aufbewahrung bei 35° C machen konnte: Während der ursprüngliche Belag flach und durchscheinend wurde, wuchs von unten herauf ein dicker, undurchsichtiger, gelbweißer Belag, allmählich eine bis zur Mitte des Röhrchens, hier sich in eine Reihe von ebensolchen isolierten Sekundärkolonien auflösend. Der andere Stamm zeigte nur dichtgesäte, einförmig über die Agaroberfläche zerstreute kleine Sekundärkolonien. Die Erscheinung, die ich bereits früher an älteren Glycerinagarkulturen bei Zimmertemperatur beobachtet habe (diese Zeitschrift. Abt. I. Orig. Bd. 48. p. 273), die ich vorderhand nicht zu erklären vermag, erscheint mir eingehender Prüfung wert.

IV.

Schlußbetrachtungen.

Nachdem wir im Vorhergehenden auf die Umwandlungsfrage näher eingegangen sind, wird es sich noch verlohnen, noch einmal auf die Verhältnisse zurückzukommen, die wir in unseren Laboratoriumskulturen beobachten. Seit Lehmann im Jahre 1887 zuerst spontan asporogen gewordene Milzbrandkulturen mit erhaltener (ob voller?) Virulenz beschrieb, hatte wohl die Mehrzahl der Bakteriologen oft Gelegenheit, die oft anscheinend unmotivierten Schwankungen des Sporenbildungsvermögens bei verschiedenen Stämmen zu beobachten (s. z. B. Sobernheim), sowie die Erscheinung, daß oft beim längeren Fortzüchten im Laboratorium die ursprünglich starke Sporogenität sich abschwächt oder ganz abhanden kommt.

Der ganz allgemein gehaltene Hinweis darauf, daß unsere Laboratoriumsnährböden den Bakterien die natürlichen Lebensverhältnisse nicht ersetzen können, ist wohl ungenügend, gelingt es doch, unter Einhaltung besonderer Kautelen viele Generationen lang ungeschwächte Sporenbildung zu beobachten. Die tatsächlich beobachteten Schwankungen resp. die oft einsetzende Asporogenität dürfte nach den oben mitgeteilten Erfahrungen auf zwei Faktoren zurückzuführen sein. Erstens kommen natürlich

während der mannigfachen Wanderungen der Kulturen über verschiedene Nährböden ab und zu Schädigungen durch unbemerkte Fehler der Nährböden (schlechte Zusammensetzung, oligodynamische Einflüsse, Eintrocknen, ungeeignete Temperatur etc.) vor, die speziell bei Musealkulturen infolge langer Einwirkungsdauer sich bemerkbar machen können. Die Summierung solcher Schädlichkeit kann natürlich allmählich zu einer solchen Umwandlung führen, wie wir sie in raschem Tempo durch planmäßige Einwirkung dysgenetischer Faktoren bewirken. Andererseits können eben diese Faktoren ebenso, wie unbeabsichtigte Eingriffe durch das Ueberimpfungstempo (wie oben) zu einer Auslese asporogener Individuen führen, die über kurz oder lang den Habitus der Kultur betreffs der Sporogenität gründlich verändert. Was die dysgenetischen Faktoren betrifft, so wird die bewirkte Umwandlung, wie wir oben gesehen haben, nicht immer dauerhaft sein, sondern je nach ihrer Intensität und Einwirkungsdauer verschiedene konstante Abarten zeitigen. Solche wahrscheinlich vorübergehend asporogene Bacillen findet man z. B. in den von Preisz, Selter, mir u. a. beschriebenen sekundären Oberflächenkolonien, die oft massenhaft die Oberfläche von älteren Milzbrandrasen bedecken. Diese Kolonien sind durch nachträgliche Vermehrung einzelner Sporen oder Bacillen entstanden inmitten einer schon zur Ruhe gelangten Majorität von Keimen, und es ist kein Wunder, daß in ihnen in Betracht der schon von Anfang an kümmerlichen Ernährungsbedingungen keine oder mangelhafte Sporulation erfolgt, trotzdem sie Abkömmlinge einer gut sporulierenden Rasse sein können.

Auf diese Weise sehen wir, daß die Zusammensetzung unserer Kulturen große Schwankungen mit der Zeit aufweisen kann als Ausdruck einer Summe von oft schwer zu übersehenden Faktoren. So kommt es auch, daß eine Analyse einer größeren Reihe von Stämmen neben gut erhaltenen rein sporogenen, ebensolche asporogene sowie (in Mehrzahl) Mischkulturen aufweist, die in wechselndem Mengenverhältnis beide Rassen beherbergen. Interessant wäre natürlich auch eine Untersuchung darüber, wie sich unter „natürlichen Umständen“, also im spontan infizierten Tier resp. in der Außenwelt, auf Wiesen, im Erdboden, an Fellen, Haaren u. dgl. der Befund der Milzbrandstämme präsentiert. Es ist wahrscheinlich, daß auch hier wechselnde Daseinsbedingungen, dysgenetische Faktoren sowie Auslese ihre Wirkungen entfalten werden und auch der tierische Körper übt unter den natürlichen Bedingungen der Infektion wahrscheinlich eine gewisse Auslese, indem Sporen leichter dem Einfluß seiner Abwehrreaktionen widerstehen werden, als vegetative Formen, zumal wenn diese durch längeren Aufenthalt in der Außenwelt abgeschwächt sind. Im Laboratoriumsexperiment sind die Verhältnisse natürlich anders, da wir hier meist junge Kulturen benutzen und durch Gewaltmaßregeln eine Infektion erzwingen können, indem wir durch Menge des Infektionsmaterials, Applikationsweise u. a. die geringere Resistenz der asporogenen Rassen wettmachen können. Ich hatte bis jetzt keine Möglichkeit derartige Untersuchungen durchzuführen, hoffe aber, bei gegebener Gelegenheit Näheres über diese Punkte mitteilen zu können.

Ob die hier dargelegten Verhältnisse auch bei anderen Sporenbildnern vorkommen, läßt sich zur Zeit nicht mit Sicherheit behaupten, wenn auch diese Annahme sehr plausibel erscheint. Orientierende Versuche bei den aëroben Sporenbildnern haben noch keine positiven Resultate ergeben, dagegen scheinen in der Literatur vielfach niedergelegte

Beobachtungen über die Variabilität des Sporenbildungsvermögens bei Anaërobiern Untersuchungen in dieser Richtung Erfolg zu versprechen.

Ganz besonders hervorhebenswert scheinen mir aber die Analogien zu sein, die nach den klassischen Untersuchungen von Hansen und Beijerinck die Sporulationsverhältnisse der Hefen mit denen des Milzbrandbacillus aufweisen. Hier wie dort die Koexistenz von sporogenen und asporogenen zum Teil auch morphologisch charakteristischen erblich fixierten Rassen in Mischkulturen, die Möglichkeit durch beabsichtigte Auslese zu rein sporogenen, durch unbeabsichtigte zu rein asporogenen Stämmen zu gelangen, endlich die Möglichkeit durch ähnliche äußere Einwirkung eine sporogene Rasse in eine konstant asporogene umzuwandeln; eine Uebereinstimmung des Verhaltens, wie sie kaum zwischen nächsten Verwandten größer vermutet werden könnte.

Schlusssätze.

1) Laboratoriumskulturen von Milzbrandbacillen enthalten entweder ein wechselndes Gemisch von (relativ) erblich fixierten sporogenen und asporogenen Rassen (öftester Fall) oder rein sporogene (seltenster Fall) oder rein asporogene Rassen (weniger oft).

2) Durch Erhitzen auf 70—90° C läßt sich an Mischkulturen eine Auslese der sporogenen, durch oftetes Ueberimpfen relativ junger Kulturen (12—30-stündig) eine Auslese der asporogenen Rasse durchführen.

3) Durch 5—20malige Passage über Glycerinagar läßt sich eine reine sporogene Rasse in eine anscheinend konstante asporogene unwandeln.

4) Ebenso wenn auch weniger konstant geschieht dies auf Traubenzuckeragar, Passagen auf stark autoklaviertem Agar scheinen nur teilweise Umwandlung zu bewirken.

5) Die oft beobachtete Abnahme des Sporenbildungsvermögens unserer Laboratoriumskulturen ist zum Teil auf kumulierte Einwirkung unmerkter dysgenetischer Faktoren, zum Teil aber auf unbeabsichtigte Auslesevorgänge zurückzuführen.

Literatur.

- Altmann u. Rauth, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 7. p. 629—655.
 Baerthlein, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. No. 9. 31.
 Barber, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. p. 223.
 Baudet, Diese Zeitschr. Bd. 60. p. 462—480.
 Beijerinck, Diese Zeitschr. Bd. 9. p. 781—786.
 — Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. p. 449—455, 518—525; Bd. 4. p. 657—663, 721—730.
 Burri, R., Das Tuscheverfahren. Jena (Fischer) 1909.
 — Diese Zeitschr. Bd. 54. p. 210; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. p. 321.
 — u. Duggeli, Diese Zeitschr. Bd. 49. p. 145.
 — u. Andrejew, Diese Zeitschr. Bd. 56. p. 217.
 Eisenberg, Diese Zeitschr. Bd. 48. p. 257; Bd. 51. p. 115.
 Garbowski, L., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. p. 641—655. 737—749; Bd. 20. p. 4—20. 99—113.
 Gottschlich, Allgem. Morphologie u. Biologie. L. Variabilität der pathogenen Bakterien. (Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 1. p. 149—172.)
 v. Gruber u. Rüdin, Fortpflanzung, Vererbung, Rassenhygiene. München 1911.
 Hansen, E. Chr., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. p. 1—16; Bd. 15. p. 353—361.
 Holm, zitiert bei Burri, Tuscheverfahren. p. 3.
 Johansen, Elemente der exakten Erblchkeitslehre.
 Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie. Kap. 18.

- Lehmann, München. med. Wochenschr. 1887.
 Marks, L., Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. p. 293.
 Massini, R., Arch. f. Hyg. Bd. 61.
 Müller, R., Diese Zeitschr. Bd. 58. p. 97—106.
 — Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 51.
 Neisser, M., Diese Zeitschr. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beiheft 98.
 Phisalix, Arch. de Physiol. 1893.
 Preisz, H., Diese Zeitschr. Bd. 35. p. 660.
 Pringsheim, H., Die Variabilität niederer Organismen. Berlin (Springer) 1910.
 Sata, A., Centralbl. f. allgem. Pathol. Bd. 11. 1900. p. 97—102.
 Selter, Diese Zeitschr. Bd. 37. p. 186—193, 381—389.
 Sobernheim, G., Milzbrand. (Kolle-Wassermann. 1. Aufl. Bd. 2.)
 — u. Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. p. 401; Bd. 7. p. 342.
 de Vries, H., Die Mutationstheorie. Leipzig (Veit) 1901, 1903.
 Wolf, F., Zeitschr. f. induct. Abstamm.- u. Vererbungslehre. Bd. 2. 1909. p. 90—132.

Nachdruck verboten.

Zur Beobachtung der Zersetzung von Kohlehydraten durch Bakterien.

[Aus der Impfungsabteilung des Bakteriologischen Institutes in Kiew
(Vorstand: Prof. W. Wysokowicz).]

Von Dr. B. Klein.

Mit 1 Textfigur.

Nachdem Buchner zuerst die Zersetzung von Kohlehydraten durch Bakterien festgestellt hatte, wurde diese grundlegende Tatsache von verschiedenen Untersuchern zur Ausarbeitung von differentialdiagnostischen Nährböden verwendet. In den flüssigen Nährmedien von Petruschky und Barsiekow und insbesondere in den festen Nährböden von Drigalski und Endo bekam die bakteriologische Praxis ausgezeichnete diagnostische Hilfsmittel zur Unterscheidung der Vertreter der Coli-Gruppe vom *Bac. typhi*, *paratyphi* und *dysenteriae*.

Buchner selbst benutzte Lackmus-Pepton-Zucker-Fleischwasserextrakte, die mit den entsprechenden Bakterien geimpft wurden¹⁾. Die Säurebildung aus Zucker war meistens nach 1—3 Tagen, in einigen Fällen sogar nach 18 Stunden zu beobachten. Bezüglich der Lackmusmolke von Petruschky finden wir in seinen „Bakteriochemischen Untersuchungen“ die folgenden Bemerkungen²⁾: „Das Maximum der Reaktionsänderung ist bei vielen Bakterien schon nach 3—5 Tagen nahezu erreicht, doch empfiehlt es sich, die Kulturen wenigstens 10 Tage wachsen zu lassen, wenn man die Stärke ihrer chemischen Leistung titrimetrisch feststellen will.“

In der Regel tritt nach der Einimpfung von *Bact. coli* in Lackmusmolke eine deutliche Trübung und Rötung derselben am folgenden Tage ein. Auf gleiche Weise bekommen die Kolonien von *Bact. coli* auf dem festen Nährboden von Drigalski schon nach 18 Stunden, nicht selten auch nach 10—12 Stunden, eine rote Färbung, welche dieselben von den blau gefärbten Kolonien des *Bac. typhi*, *paratyphi* und *dysenteriae* zu unterscheiden erlaubt.

1) Buchner, H., Beiträge zur Kenntnis des Neapeler Cholera bacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885.)

2) Petruschky, Bakteriochemische Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889.)

Das Prinzip aller dieser Untersuchungen besteht darin, daß zur Einsaat kleine Mengen von Bakterien verwendet werden und nach der Vermehrung der letzteren in dem Nährboden die Zersetzung des Zuckers eintritt. Die Größe der Einsaat ist, nach den Angaben von Petruschky, nicht von Bedeutung, und diese Frage ist in den meisten Arbeiten unberücksichtigt geblieben. Nur in einer neulich erschienenen Arbeit hat Boehncke¹⁾ die Einimpfung großer Massen von Bakterien zur Feststellung der Ammoniakproduktion (nach 48-stündigem Aufenthalt im Brutschrank) angewendet.

Bezüglich der Hefe hat Dumas schon lange nachgewiesen, daß eine große Menge eingebrachter Hefezellen sehr rasch kleine Mengen von Zucker zu vergären imstande ist, und zwar wird 1 g Zucker durch 40 g Hefe in 16 Minuten zersetzt²⁾.

In den nachstehenden Untersuchungen verwendeten wir die Einimpfung großer Mengen von Bakterien zur Beobachtung der Zersetzung von Kohlehydraten. Wenn man in eine relativ große Menge von einem Zucker enthaltenden Nährmedium, z. B. in einige Kubikzentimeter der Barsiekowschen Lösungen, eine kleine Menge Bakterien einimpft, so ist die fermentative Tätigkeit der eingetragenen Keime an und für sich zu unbedeutend, um in kurzer Zeit die Reaktionsänderung des Nährbodens hervorzurufen. Deswegen muß bis zum folgenden Tage oder mindestens 10—12 Stunden abgewartet werden, bevor eine reichliche Vermehrung der Keime und infolgedessen eine Rötung des Nährbodens eintritt. Wenn wir aber diese Methode so ändern, daß in 1 ccm der Barsiekowschen Lösung eine relativ große Masse lebensfähiger Bakterien (z. B. 2 Oesen von einer 20-stündigen Agarkultur) eingetragen wird, dann kann man mit großer Wahrscheinlichkeit erwarten, daß durch die selbständige fermentative Tätigkeit der eingebrachten Bakterien sehr rasch die betreffende Zuckerart vergoren wird. Um diese Frage klarzulegen, benutzten wir dasselbe Verfahren wie bei der Untersuchung der Agglutination nach der Methode von Kolle.

In ein steriles Reagensröhrchen wird mittels einer sterilen Pipette 1 ccm einer Lackmus-Pepton-Glukoselösung eingebracht (die Herstellung derselben s. unten). In dieser Flüssigkeit werden 2 Oesen von einer 20-stündigen Agarkultur des *Bact. coli* vorsichtig vermischt, dann kommt das Röhrchen auf 1 Stunde in den Brutschrank bei 37°. Beobachtet man das Röhrchen schon nach 30—40 Minuten, dann ist eine schwache Rötung der Lösung zu bemerken, und nach 1—1½ Stunden wird die Bakterienemulsion völlig rot.

Wie die weiter beschriebenen Untersuchungen beweisen, kann dieses Verfahren auch mit den Lösungen von Milchzucker, Mannit u. a. ausgeführt werden. Die Rötung durch *Bact. coli* tritt in der Regel für Milchzucker später als für Glukose ein, nämlich nach 2—3 Stunden.

Diese Methodik haben wir zur Untersuchung einer Reihe von Kulturen des *Bact. coli*, *Bac. typhi*, *paratyphi* und *dysenteriae* verwendet. Bevor wir auf die Einzelversuche eingehen, möchten wir die Methodik ausführlicher beschreiben: Die Lösungen wurden nach Barsiekow-Hiss auf folgende Weise hergestellt: Wasser 100,0, Pepton Witte 1,0, Kochsalz 0,5, Traubenzucker [oder Milchzucker oder

1) Boehncke, Die Beziehungen zwischen Zuckergehalt des Nährbodens etc. (Arch. f. Hyg. Bd. 74. 1911. H. 2 u. 3.)

2) Duclaux, *Traité de microbiologie*. T. 3. 1900. p. 275.

Mannit¹⁾ u. a.] 2,0, Lackmuslösung (nach Kubel-Timann von Kahlbaum) 6,0.

Die Lösungen filtrierten wir durch Chamberlandsche Filter (F), ohne die Sterilisierung im Dampftopf anzuwenden. Nach dem Filtrieren wurden die Lösungen in sterilen Reagensröhrchen verteilt und die letzteren blieben im Brutschrank bei 37° 24 Stunden. Vor jedem Versuch verteilten wir mit einer 10 ccm enthaltenden, graduierten, sterilen Pipette die Lösungen in Glasröhrchen zu je 1 oder 2 ccm.

Die Bakterienemulsionen wurden auf zweifache Weise hergestellt:

1) Zu jedem, 1 ccm der entsprechenden Barsiekowschen Lösung enthaltenden Glasröhrchen wurden 2 Oesen von einer 20-stündigen Agarkultur der bestimmten Bakterien zugesetzt.

2) Eine 20-stündige Agarkultur wurde mit 2 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von dieser Emulsion entnahmen wir 0,5 ccm und vermischten sie mit 2 ccm der Barsiekowschen Lösung.

Bacterium coli commune,

Für die Untersuchungen dienten 24 Stämme, welche wir aus den Faeces von kranken Kindern und Erwachsenen auf dem Drigalskischen Nährboden gezüchtet hatten. Diese Stämme besaßen ausnahmslos alle Eigenschaften von echten Coli-Kulturen, nämlich:

- 1) Sie bildeten auf dem Drigalskischen Agar rote Kolonien.
- 2) In Lackmusmolke riefen sie nach 20—24-stündigem Verweilen im Brutschrank Trübung und Rötung hervor.
- 3) Auf Rothbergerschem Zucker-Neutralrotagar (nach Scheffler) trat reichliche Gasbildung und intensive Reduktion der Farbe ein.

Die Zerlegung von Traubenzucker, Mannit und Milchzucker durch diese Coli-Stämme wurde nach dem oben beschriebenen Verfahren untersucht (2 Oesen 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Lösung),

Die Resultate sind aus den folgenden Tabellen ersichtlich.

Tabelle I.

Peptonwasser mit 2 Proz. Glukose. 2 Oesen 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Lösung.

| No. der Stämme | 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 16, 18 |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Nach $\frac{1}{2}$ Stunde | Aenderung des Farbentons |
| Nach 1 Stunde | Deutliche Rötung |
| Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden | Völlige Rötung |

Tabelle II.

Peptonwasser mit 2 Proz. Glukose (käufliche). 2 Oesen 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Lösung.

| No. der Stämme | 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 16, 18 |
|---------------------------|------------------------------------|
| Nach $\frac{1}{2}$ Stunde | Deutliche Aenderung des Farbentons |
| Nach 1 Stunde | Völlige Rötung |

Diese Versuche wurden mehrfach mit denselben Resultaten wiederholt, und es hat sich im allgemeinen erwiesen, daß bei der Einimpfung von 2 Oesen einer 20-stündigen Agarkultur in 1 ccm Peptonlösung mit 2 Proz. Glukose schon nach 1— $1\frac{1}{2}$ Stunden völlige Rötung eintritt.

1) Alle Zuckerarten, sowie die Lackmuslösung wurden von Kahlbaum bezogen. Nur in seltenen Fällen benutzten wir käufliche Präparate.

Solche Versuche mit Glukose sind noch in den weiteren Tabellen angegeben.

Auf dieselbe Weise haben wir das Verhalten der Coli-Kulturen zu Milchzucker untersucht.

Tabelle III.

Peptonwasser mit 2 Proz. Milchzucker. 2 Oesen 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Lösung.

| | |
|---|---|
| No. der Stämme | 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 16, 18, 1a, 2a, 3a, 6a, 7a, 8a, 9a, 10a, 1b, 3b, 4b, 6b, 8b |
| Nach 1 Std. 15 Min. bis 1 Std. 30 Min. | Deutliche Aenderung des Farbentons oder schwache Rötung |
| Nach 2 Stunden | Völlige Rötung |

Tabelle IV.

Peptonwasser mit 2 Proz. Milchzucker. 2 Oesen 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Lösung.

| | |
|---------------------|--|
| No. der Stämme | 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 16, 18, 21 |
| Nach 1 Std. 20 Min. | Aenderung des Farbentons |
| Nach 1 Std. 30 Min. | Deutliche Rötung bei 2, 3, 5, 12, 16, 21 |
| Nach 2 Stunden | Völlige Rötung |

Versuche mit Mannit.

Tabelle V.

Peptonwasser mit 2 Proz. Mannit. 2 Oesen 20-stündiger Agarkultur in 1 ccm Lösung.

| | |
|----------------|------------------------------------|
| No. der Stämme | 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 16, 18, 21 |
| Nach 1 Stunde | Aenderung des Farbentons |
| Nach 2 Stunden | Deutliche Rötung |

Vergleichende Versuche mit Glukose, Mannit und Milchzucker.

Aus den oben beschriebenen Versuchen ist ersichtlich, daß am schnellsten die Zersetzung von Glukose vor sich geht, viel langsamer werden von *B. coli* Mannit und Milchzucker vergoren¹⁾. Diese Versuche wurden aber zu verschiedener Zeit ausgeführt. Um vergleichbare Resultate unter ein und denselben Bedingungen zu erhalten, verwendeten wir das folgende Verfahren: 10 Agarkulturen von *B. coli* (20-stündige) wurden mit je 2 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von jeder Aufschwemmung verteilten wir zu je 0,5 ccm in je 2 ccm der Barsiekowschen Lösungen mit Glukose, Mannit und Milchzucker. Die Röhrrchen kamen in den Brutschrank bei 37° C und wir beobachteten die Aenderungen der Lösungen nach verschiedenen Zeitintervallen. Die Resultate sind aus Tabelle VI ersichtlich.

Betrachten wir die Angaben dieser Tabelle, dann wird es klar, daß zuerst die Rötung in den Röhrrchen mit Glukose, nachher in denen mit Mannit und endlich in denen mit Milchzucker eintritt. Dieselben Resultate

1) Daß überhaupt Glukose durch *B. coli* leichter als Milchzucker und Saccharose zersetzt wird, ist eine schon lange bekannte Tatsache (siehe z. B. Duclaux, *Traité de microbiologie*. T. 4. p. 166).

Tabelle VI.

| No. der Stämme | | 3 | 4 | 5 | 12 | 16 | 18 | 1b | 6b | 8b | 9a |
|----------------|-------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Glukose | nach $\frac{1}{2}$ Std. | + | — | + | + | — | + | + | + | + | + |
| | nach 1 Std. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Mannit | nach $\frac{1}{2}$ Std. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | nach 1 Std. | — | — | — | + | — | — | — | + | + | + |
| | nach 1 Std. 30 Min. | ++ | — | — | ++ | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | nach 3 Std. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Milchzucker | nach $\frac{1}{2}$ Std. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | nach 1 Std. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | nach 1 Std. 30 Min. | + | — | + | + | — | — | + | + | — | + |
| | nach 3 Std. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

++ deutliche Rötung.
+ schwache Rötung.
— keine Aenderung.

ergeben die in Tabelle VIII zusammengestellten Versuche. Die Methodik ist dieselbe wie in Tabelle VII.

Tabelle VII.

| No. der Stämme | | 10a | 2 | 7a | 14 | 10 | 3b | 9b |
|----------------|---------------------|-----|----|----|----|----|----|----|
| Glukose | nach 40 Min. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Mannit | nach 40 Min. | — | — | — | — | — | + | — |
| | nach 1 Std. 15 Min. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | — |
| | nach 2 Std. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Milchzucker | nach 40 Min. | — | — | — | — | — | — | — |
| | nach 1 Std. 15 Min. | — | + | — | — | + | + | — |
| | nach 2 Std. | + | ++ | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | nach 2 Std. 30 Min. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

In diesen Versuchen ist die Zersetzung von Glukose, Mannit und Milchzucker im Vergleich mit Tabelle VI im allgemeinen schneller vor sich gegangen. Für diesen Unterschied können wir keine bestimmte Erklärung angeben; vermutlich handelt es sich um eine Abhängigkeit des Gärungsvermögens der Kulturen von den Eigenschaften des verwendeten Agars, oder um eine üppigere Entwicklung der Kulturen.

Aus allen diesen Angaben läßt sich der Schluß ziehen, daß bei Anwendung großer Mengen von lebensfähigen Bakterien die Vergärung von Glukose am deutlichsten nach 1 Stunde nachweisbar ist, die Vergärung von Mannit und Milchzucker nach 2–3 Stunden. Stellt man gleichzeitig eine Reihe von Versuchen mit verschiedenen Coli-Stämmen an, so ist ersichtlich, daß im Durchschnitt Mannit rascher als Milchzucker vergoren wird. In der Tat ersehen wir aus Tabelle VI, daß schon nach 1 Stunde schwache Rötung in den Röhrcchen mit Mannit (12, 6b, 8b, 9a) eintrat, während alle Röhrcchen mit Milchzucker noch keine Aenderung aufwiesen. Nach 1 Stunde 30 Minuten war in 6 Röhrcchen mit Mannit deutliche Rötung zu beobachten, wogegen bei Milchzucker in 6 Röhrcchen nur schwache Rötung eintrat. Aehnliche Resultate ergab Tabelle VII.

Die Gasbildung durch B. coli.

Die Gasbildung von B. coli wird, wie bekannt, mittels der Stichelkultur in erstarrtem Zuckeragar oder mittels Einimpfung in zuckerhaltige Bouillon im Einhornschen Gärungskölbchen beobachtet. Theobald Smith, dem das Verdienst, diesen Apparat in die Bakteriologie ein-

geführt zu haben, gehört, beobachtete die Gasbildung überhaupt nach 48-stündigem Verweilen der Kulturen im Brutschrank: gewöhnlich wird jetzt in der bakteriologischen Praxis die Gasbildung am folgenden Tage nach der Einimpfung beobachtet.

Das oben geschilderte Verfahren der Einimpfung großer Massen von Bakterien versuchten wir, auch zur Beobachtung der Gasbildung durch *B. coli commune* zu verwenden, und zwar auf folgende Weise:

Der geschlossene Schenkel eines sterilisierten Einhornschen Apparates wird mit einer sterilen Peptonwasserzuckerlösung (2 Proz. Glukose) gefüllt. In den offenen Schenkel wird 1 ccm einer dichten Bakterienemulsion eingegossen. Die letztere wird so hergestellt, daß eine 20-stündige Agarkultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wird. Die Oeffnung des Apparates wird mit einem sterilisierten Pfropfen versehen, und der Apparat wird mehrmals umgekehrt, um eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien in der Flüssigkeit zu erzielen. Nach $1\frac{1}{2}$ –2-stündigem Verweilen des Gärungskölbchens im Brutschrank bei 37° C tritt in der Regel lebhaftere Ausscheidung von Gasbläschen ein, welche sich in dem oberen Teil des geschlossenen Schenkels ansammeln.

Wenn die Peptonzuckerlösung mit Zusatz von 6 Proz. Lackmustinktur hergestellt ist, dann kann man sehen, daß zuerst (schon nach 1 Stunde) die Ansäuerung resp. Rötung eintritt, und nachher die Gasbildung.

Tabelle VIII.

| No. der Stämme | 10, 14, 12, 21 |
|---------------------|-----------------|
| Nach 1 Std. 50 Min. | Lebhafte Gärung |

Tabelle IX.

| No. der Stämme | 16, 5, 18, 2, 3 |
|---------------------------------------|---|
| Nach 1 Std. 20 Min. Nach 3 Stunden | Deutliche Ausscheidung von Gasbläschen Lebhafte Gärung |

Nicht immer konnten wir in Peptonzuckerlösung eine schnelle Gasbildung beobachten; in einigen Fällen trat dieselbe nach 2–3 Stunden nicht ein.

Schneller trat die Gärung ein, als wir anstatt Peptonzuckerlösung Martinsche Zuckerbouillon (2 Proz. Glukose) verwendeten. Der Versuch wurde mit den Kulturen 6a, 6b, 14 und 2 angestellt; nach 1 Stunde 15 Minuten war eine sehr lebhaftere Gärung zu beobachten.

Auch auf folgende Weise konnten wir die Gasbildung beobachten: Wir benutzten einen kleinen Einhornschen Apparat, dessen ganzer Inhalt $1\frac{1}{2}$ ccm betrug. Der Apparat wird mit Lackmus-Zuckerbouillon (Martinsche) gefüllt, in der Hülse wurden 2 Oesen von einer 20-stündigen Agarkultur des *Bact. coli* vorsichtig verrieben; dann wird die Oeffnung des Röhrchens mit einem hölzernen Pfropf geschlossen, die Bakterienmasse mit der Flüssigkeit aufgeschwemmt und nach mehr-

Tabelle X.

| No. der Stämme | 4 | 9b | 7a | 3 | 10 | 5 | 18 |
|----------------|----|----|----|----|----|---|----|
| Nach 1 Stunde | + | + | + | + | — | — | — |
| Nach 2 Stunden | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | — | — |
| Nach 3 Stunden | | | | | | + | + |

+ schwache Gasbildung, ++ lebhaftere Gasbildung, — keine Gasbildung.

maligem Umkehren des Röhrchens in der Flüssigkeit gleichmäßig verteilt. Nach 2—2½-stündigem Aufenthalt im Brutschrank trat deutliche Gasbildung ein (s. Tabelle X).

Bacillus typhi.

Für die Untersuchungen dienten uns 5 Typhusstämmen No. 1, 2, 3, 4, 5.

Mit 20-stündigen Agarkulturen wurden dieselben Versuche mit Glukose, Mannit, Milchzuckerlösungen angestellt, wie mit Bact. coli. Die Ergebnisse waren dieselben, wie bei der üblichen Methode der Einimpfung; sie traten aber viel schneller ein, und zwar, wie in Tabelle XI zu sehen ist, erwiesen die Glukose- und Mannitlösungen schon nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank deutliche Rötung; Milchzucker blieb unverändert, sogar nach 24 Stunden.

Tabelle XI.

| 20-stündige Agarkulturen No. 1, 2, 3, 4, 5 | Glukose | Mannit | Milchzucker |
|--|----------------|------------------|-------------|
| Nach 1 Stunde | Völlige Rötung | Deutliche Rötung | Unverändert |
| Nach 1½—2 Std. | | Völlige Rötung | „ |

Die Versuche wiederholten wir zweimal mit denselben Resultaten.

Bacillus paratyphi B.

Für die Untersuchungen dienten 5 Paratyphusstämmen, No. 1, 2, 3, 4, 5. Die Zersetzung von Glukose trat regelmäßig nach 1 Stunde, des Mannits nach 1½ Stunden ein.

Bezüglich der Gasbildung blieben unsere Versuche mit Peptonzuckerlösung nach 2—3-stündigem Verweilen der Gärungskölbchen im Brutschrank erfolglos.

Ganz anders verhielten sich die Paratyphuskulturen in Zuckerbouillon (Martinsche Bouillon mit 2 Proz. Glukose); wie die Tabelle XII beweist, trat schon nach 2 Stunden lebhaftige Gärung ein.

Tabelle XII.

| No. der Stämme | 1, 2, 3, 4, 5 |
|---------------------|---|
| Nach 1 Stunde | Beginn der Ausscheidung von Gasbläschen |
| Nach 1 Std. 45 Min. | Lebhaftige Gärung |

Bacillus dysenteriae.

Wir untersuchten 19 Dysenteriestämme (5 Shiga-Stämme und 14 Mannitvergärer: Hiss und Flexner)¹⁾. Bei den Shiga-Stämmen trat die Rötung in den Glukoselösungen schon nach 1—1½ Stunden ein; die Milchzucker- und Mannitlösungen blieben auch am folgenden Tage unverändert. Was die Flexnerschen und Hiss'schen Stämme anbelangt, so wurde durch dieselben Mannit langsamer vergoren, als durch Bact. coli, und zwar in den meisten Fällen nach 3—4 Stunden.

Bezüglich der Zersetzung von Maltose haben wir keine eindeutigen Resultate erhalten. Während bei einigen Stämmen die Säurebildung aus Maltose nach 3—4 Stunden zu beobachten war, trat bei den anderen

1) Ein Teil von diesen Stämmen wurde aus Dysenteriefällen im Alexandrowschen Krankenhaus in Kiew von Dr. Romm gezüchtet.

Stämmen die Rötung viel später ein. Deswegen halten wir unsere Versuche mit den Mannitvergärrern noch nicht für abgeschlossen.

Das Gärungsvermögen alter und junger Kulturen.

Daß die Gärungstätigkeit der eingepfchten Kulturen in den ersten Tagen schneller vor sich geht und dann mit der Zunahme des Alters der Kulturen allmählich abnimmt, ist schon lange bekannt. Diese Tatsache versuchten wir mittels unseres Verfahrens zu beobachten. Wenn wir gleichzeitig je 2 Oesen von einer 20-stündigen Agarkultur des *Bact. coli* einerseits, und einer 10-tägigen andererseits in je 1 ccm. Der Barsiekowschen Glukoselösung vermischen und in den Brütschrank einstellen, dann kann man in leichter und bequemer Form den Unterschied zwischen dem Gärungsvermögen junger und alter Kulturen beobachten. Die Rötung der Lösung mit der jungen Kultur geschieht immer schneller, als derjenigen mit der alten, wie es die Tabelle XIII veranschaulicht.

Es wurden gleichzeitig 13 Stämme von *Bact. coli*, und zwar 20-stündige und 10-tägige Agarkulturen untersucht.

Tabelle XIII. 2-proz. Glukoselösung.

| Agarkultur | No. der Stämme | 66 | 36 | 46 | 86 | 2 | 3 | 4 | 5 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 |
|------------|----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 20-stünd. | Nach 40 Min. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | Nach 40 Min. | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 10-tägige | Nach 1 Std. | + | ± | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| | 25 Min. | + | ± | ± | + | ± | - | + | - | - | - | + | - | - |
| | Nach 1 Std. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | Nach 3 Std. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

++ deutliche Rötung, + schwache Rötung, - keine Aenderung, ± leichte Aenderung des Farbentons.

Während alle 20-stündigen Agarkulturen deutliche Rötung in der Barsiekowschen Glukoselösung nach 40 Minuten hervorriefen, zeigten die Röhrchen mit 10-tägigen Kulturen deutliche Rötung erst nach 3 Stunden.

Diese Versuche wurden mehrfach wiederholt, und immer konnten wir ein späteres Auftreten der Zuckervergärung durch 10-tägige Kulturen im Vergleiche mit 20-stündigem konstatieren. Manchmal trat die Vergärung von Glukose durch 10-tägige Agarkulturen nach 2—3 Stunden, in einigen Fällen auch später, nämlich nach 4—7 Stunden, ein.

In der Tabelle XIV tritt die Abhängigkeit des Gärungsvermögens von dem Alter der verwendeten Kultur deutlich zutage.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß, während bei allen 20-stündigen Agarkulturen schon nach 1 Stunde völlige Rötung eintrat, bei 5-tägiger deutliche Rötung erst nach 2—3 Stunden, bei 10- und 20-tägigen erst nach 4—7 Stunden zu beobachten war.

In einzelnen Fällen haben wir manche Unregelmäßigkeiten gesehen, z. B. bei den Stämmen 5 und 10, wie aus der Tabelle XV zu ersehen ist.

Die 20-stündigen und 5-tägigen Kulturen 5 und 10 verhielten sich regelmäßig; bei der 20-tägigen Kultur 5 trat die Rötung früher, als bei der 5-tägigen, und bei der 20-tägigen Kultur 10 früher, als bei der 10-tägigen (jedoch später als bei den 20-stündigen) ein. Diese Unregelmäßigkeiten, welche wir sehr selten beobachteten und für welche wir

Tabelle XIV.

| Agarkulturen | No. der Stämme | 18 | 16 | 4 | 21 | 3 | 2 | 12 | 14 |
|--------------|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 20-stündige | Nach 1 Stunde | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | Nach 1 Stunde | — | + | — | — | + | — | — | — |
| 5-tägige | Nach 2 Stunden | + | +++ | + | + | + | + | + | + |
| | " 3 " | ++ | | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ |
| | " 4 " | +++ | | | +++ | +++ | | +++ | +++ |
| 10-tägige | Nach 1 Stunde | — | — | — | — | — | — | | |
| | Nach 2 Stunden | — | — | — | — | — | — | | |
| | " 3 " | + | + | + | + | + | — | | |
| | " 4 " | + | + | + | + | ++ | + | | |
| 20-tägige | " 7 " | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | | |
| | Nach 1 Stunde | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | Nach 2 Stunden | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | " 3 " | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | " 4 " | + | + | + | — | + | + | + | + |
| " 7 " | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | |

+ schwache Rötung, ++ deutliche Rötung, +++ völlige Rötung, — keine Aenderung.

Tabelle XV.
2 Proz. Glukose-Lösung.

| Agarkulturen | No. der Stämme | 5 | 10 |
|--------------|----------------|-----|-----|
| 20-stündig | Nach 1 Stunde | +++ | +++ |
| | Nach 1 Stunde | — | — |
| 5-tägig | " 2 Stunden | + | ++ |
| | " 3 " | + | +++ |
| | " 4 " | +++ | |
| 10-tägig | Nach 1 Stunde | — | — |
| | " 2 Stunden | — | — |
| | " 3 " | — | — |
| | " 4 " | + | + |
| 20-tägig | " 7 " | +++ | +++ |
| | Nach 1 Stunde | — | — |
| | " 2 Stunden | + | + |
| | " 3 " | ++ | ++ |
| | " 4 " | +++ | +++ |
| " 7 " | | | |

keine genügende Erklärung angeben können, müssen wir nur als zufällig ansehen.

Im allgemeinen aber zeigen alle diese Angaben unzweifelhaft, daß bei den älteren Kulturen die Zersetzung von Glukose langsamer, als bei den jüngeren verläuft.

Dasselbe trat auch deutlich zu Tage, wenn wir die Gasbildung von jüngeren und älteren Kulturen von *Bact. coli* untersuchten. Wir stellten eine Reihe von Versuchen an, indem wir zu den mit Zuckerbouillon gefüllten Einhornschen Röhren Aufschwemmungen von 20-stündigen *Coli*-Kulturen einerseits, und 10-tägigen andererseits zufügten (jede Kultur wurde mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und in jedes Einhornsches Röhren kam zu je 1 ccm von dieser Aufschwemmung). Die Resultate sind in der Tabelle XVI zusammengestellt.

Tabelle XVI.

+ schwache Gasbildung, — keine Gasbildung, ++ lebhafte Gasbildung.

| Agarkulturen | No. der Stämme | 66 | 9a | 4 | 3 | 7a | 12 | 10 | 5 |
|--------------|----------------|----|----|----------------------------|----|----|----|----|----|
| 20-stündig | Nach 1 Stunde | ++ | ++ | — | + | ++ | ++ | ++ | + |
| | „ 1½ Stund. | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | „ 2 Stunden | | | Sehr reichliche Gasbildung | | | | | |
| 10-tägig | Nach 1 Stunde | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | „ 1½ Stund. | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | „ 2 Stunden | — | + | — | + | — | + | — | — |
| | „ 2½ Stund. | + | ++ | + | + | — | + | — | + |
| | „ 3 Stunden | | | | | + | | | |

Die Abhängigkeit des Gärungsvermögens des *Bacterium coli* von der Temperatur.

Nach den Angaben von Kayser verhält sich die günstigste Temperatur für die meisten, Milchsäuregärung hervorrufenden Bakterien, zu welchen auch *Bact. coli* gerechnet werden kann, zwischen 30—35°. Höhere Temperaturen, wie 60—70°, sowie niedrige üben in der Regel eine schädigende Wirkung auf die Gärung aus¹⁾.

Unsere Methodik versuchten wir auch anzuwenden, um die Abhängigkeit des Gärungsvermögens der Bakterien von der Temperatur zu beobachten.

20-stündige Agarkulturen wurden mit je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und innerhalb 1½ Stunden bei 60° erwärmt. Von den Aufschwemmungen wurde je ½ ccm zu je 2 ccm der Barsiekowschen 2-proz. Glukose-Lösung zugefügt, und dann kamen die Röhren in den Brutschrank (bei 37°). Die Resultate sind aus der Tabelle XVII ersichtlich.

Tabelle XVII.

| No. der Stämme | 3, 4, 16, 18, 2, 10, 12, 5, 14 |
|-----------------------------------|--|
| Nicht erwärmt | Nach 1 Stunde deutliche Rötung |
| Erwärmt bei 60° innerhalb 1½ Std. | Keine Aenderung sogar nach 1—4-täg. Aufenthalt im Brutschrank (bei 37°). |

Aus den erwärmten Aufschwemmungen wurden Einimpfungen auf Agar gemacht, und alle Aufschwemmungen haben sich als steril erwiesen.

Tabelle XVIII.

| No. der Stämme | 4, 21, 10, 18 |
|-----------------------------------|---|
| Nicht erwärmt | Nach 1 Stunde deutliche Rötung. |
| Erwärmt bei 50° innerhalb 1½ Std. | Nach 1 Stunde keine Aenderung. Nach 3 Stunden völlige Rötung bei 4 und 21, schwache Rötung bei 18 und keine Aenderung bei 10. Am folgenden Tage völlige Rötung bei allen. |
| Erwärmt bei 60° innerhalb 1½ Std. | Nach 3 Stunden keine Aenderung. Nach 1—4 Tagen keine Aenderung. Die Einimpfungen auf Agar blieben steril. |

Aus diesen Tabellen ist zu ersehen, daß die Bakterien ihre Gärungsfähigkeit gegen Glukose ganz verlieren, falls sie bei 60° 1½ Stunden

1) Zitiert nach Kruse, Mikrobiologie. 1910. p. 306.

erwärmt werden; durch die Erwärmung bei 50° innerhalb $1\frac{1}{2}$ Stunden wird die Gärungsfähigkeit bedeutend abgeschwächt. Die Abhängigkeit des Gärungsvermögens von der Temperatur konnten wir auch in folgender sehr einfacher und bequemer Form beobachten: Wir vermischten je 2 Oesen von einer 20-stündigen Agarkultur in 3 Röhrchen mit je 1 ccm der Barsiekowschen Glukoselösung, worauf die Röhrchen bei 0° , $13-14^{\circ}$ und 37° gestellt wurden. Wir erhielten dabei die folgenden Resultate:

Tabelle XIX.

| No. der Stämme | 10, 3, 12, 16, 18 |
|---------------------|--|
| bei 37° | Nach 1 Stunde völlige Rötung. |
| bei $13-14^{\circ}$ | Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden deutliche Rötung bei 16, 18 und deutliche Aenderung des Farbentons bei 10, 3, 12. |
| bei 0° | Nach 24 Stunden keine Aenderung. Dann wurden die Röhrchen in den Brutschrank bei 37° gestellt, nach 1 Stunde trat völlige Rötung ein. |

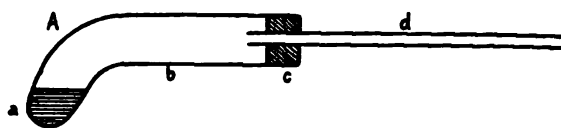
Die Vergärung von Glukose und Milchzucker bei aëroben und anaëroben Bedingungen.

Die Abhängigkeit des Gärungsvermögens von dem Sauerstoffzutritt ist in eingehendster Weise für die Milchsäuregärung studiert worden, und zwar finden wir bei Kruse¹⁾ darüber folgendes: Während Hüppe, Ad. Mayer u. a. behaupteten, daß die Milchsäuregärung ein wesentlich aërober Vorgang ist, hat Kayser erwiesen, daß, wenn er völlig anaëroben Versuchsbedingungen herstellte, immer eine reichliche Produktion von Milchsäure zu beobachten war.

Wenn die Zersetzung von Glukose oder Milchzucker durch *Bac. coli* mittels unserer Methodik beobachtet wird, kann man sich mit Leichtigkeit überzeugen, daß sowohl bei anaëroben, wie bei aëroben Bedingungen die Säurebildung aus Glukose und Milchzucker sehr schnell hervorgerufen wird.

Zur Erzielung anaëroben Bedingungen haben wir ein gebogenes Röhrchen (A) verwendet (s. Fig.).

In den gebogenen Schenkel *a* wird 1 ccm von einer 2-proz. Glukose- oder Milchzuckerlösung eingebracht, oberhalb der Flüssigkeit auf der Wand *b* werden vorsichtig



2 Oesen von einer 20-stündigen Coli-Kultur verrieben, um die unmittelbare Berührung der Bakterien mit der Flüssigkeit zu vermeiden. Nachher wird die Oeffnung des Röhrchens mit einem Kautschukpfropfen *c*, welcher mit einem Glasröhrchen *d* versehen wurde, geschlossen. Der Pfropfen wird luftdicht an der Oeffnung zugeschmiert. Dann wurde das Röhrchen *d* in Zusammenhang mit dem Kippschen Apparat gebracht, durch 3-4-maliges Aussaugen der Sauerstoff durch Wasserstoff verdrängt und das Röhrchen *d* auf der Flamme zugeschmolzen. Darauf haben wir durch mehrfaches Umkehren des Röhrchens die Bakterien mit der Flüssigkeit abgewaschen und das Röhrchen in den Brutschrank eingestellt. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen (XX, XXI, XXII) zusammengestellt.

1) Kruse, Mikrobiologie. 1910. p. 297.

Tabelle XX.

Anaerobe Bedingungen. 2 Proz. Glukoselösung.

| | |
|----------------|---------------------|
| No. der Stämme | 16, 3, 2, 4, 10, 18 |
| Nach 1 Stunde | Völlige Rötung |

Die Röhrrchen 3, 2, 4, 10, 18 wurden dann bei der Flamme geöffnet; dabei wurde jedesmal eine charakteristische Explosion beobachtet.

Gleichzeitig haben wir unter denselben anaeroben Bedingungen eine Tetanuskultur in Martinscher Zuckerbouillon geimpft; nach 3 Tagen konnten wir eine gute Entwicklung der Kultur beobachten. Das beweist, daß auch bei den Coli-Stämmen 16, 3, 2, 4, 10, 18 anaerobe Bedingungen erzielt wurden.

Tabelle XXI.

Anaerobe Bedingungen. 2 Proz. Glukoselösung.

| | |
|----------------|---|
| No. der Stämme | 3, 18, 5, 2, 21, 14, 4, 16, 10, 12 |
| Nach 1 Stunde | In allen Röhrrchen deutliche Rötung (in 14 schwache Rötung). |

Tabelle XXII.

Anaerobe Bedingungen. 2-proz. Milchzuckerlösung.

| | |
|----------------|---|
| No. der Stämme | 10, 5, 18, 4, 3, 16, 2 |
| Nach 1 Stunde | Aenderung des Farbentons oder schwache Rötung |
| Nach 2 Stunden | Deutliche Rötung in allen Röhrrchen |

Zur Kontrolle stellten wir denselben Versuch mit den Stämmen 12, 14, 21 unter aëroben Bedingungen, Rötung nach 1½—2 Stunden, an.

Zusammenfassung.

1) Neben der üblichen Untersuchungsmethode der Zersetzung von Kohlenhydraten durch Bakterien, welche in der Einimpfung kleiner Mengen von Bakterien in relativ große Quantitäten des Nährmediums besteht, kann auch folgendes Verfahren verwendet werden: Zu 1 ccm der Barsiekowschen Zuckerpeptonlösungen werden 2 Oesen einer 20-stündigen Agarkultur der betreffenden Bakterien zugegeben. Unter diesen Bedingungen tritt bei *B. coli commune* die Zersetzung von Glukose nach 1 Stunde, von Mannit und Milchzucker nach 2—3 Stunden ein (in der Regel tritt bei Mannit die Rötung früher als bei Milchzucker ein).

2) Läßt die übliche Untersuchungsmethode in praktischer Hinsicht nichts zu wünschen übrig, so kann doch auch das von uns vorgeschlagene Verfahren manche schon bekannte Tatsachen in einfacher und bequemer Form klarlegen, z. B. Die Einwirkung der Erwärmung, der Temperatur, des Alters der verwendeten Bakterien, sowie der Aërobiose und Anaërobiose auf die Gärungstätigkeit der Bakterien.

3) Es ist möglich, eine schnelle Differenzierung von Coli-Kulturen auf folgende Weise auszuführen: Ist eine 20-stündige Coli-verdächtige

Kultur vorhanden, so empfiehlt es sich, von der letzteren 2 Oesen in 1 ccm Lackmus-Milchzucker-Peptonlösung und 2 Oesen in ein kleines, mit Zuckerbouillon gefülltes Einhornsches Röhrchen (Inhalt $1\frac{1}{2}$ —2 ccm) einzubringen. Die Zersetzung von Milchzucker, sowie die Gasbildung aus Glukose kann schon in den meisten Fällen nach 2—3 Stunden beobachtet werden.

Nachdruck verboten.

Ueber die Empfänglichkeit der Kamele für den Mikroorganismus der Bubonenpest¹⁾.

[Aus dem Laboratorium im Fort Alexander I. in Kronstadt.]

Von **J. S. Schurupoff.**

In den Kirgisensteppen des Gouvernements Astrachan und des Uralgebietes werden von der Bevölkerung Kamele in großem Maßstabe gezüchtet.

Die Kamele, welche sich durch seltene Ausdauer auszeichnen, im Verlaufe längerer Zeit sowohl Futter als auch Getränk leicht entbehren, sich sehr anspruchlos mit Pflanzen ernähren können, die für andere Tiere vollkommen untauglich sind usw., stellen die hauptsächliche Verdienstquelle, sowie überhaupt den Wohlstand der Kirgisen dar. Als Lasttiere dienen die Kamele nämlich auch für Feldarbeiten, sie gehen im Geschirr, geben sehr hochgeschätzte Wolle, Fett, Leder, Milch, ihr Fleisch wird als Speise benutzt. Sogar der Dünger — Kisjak — wird als bestes Heizmaterial geschätzt. Die Kamele sind somit für die Kirgisen unersetzbar.

Ungeachtet einer derartigen Verbreitung ist von den Kamelen dennoch nur wenig bekannt; ich erkläre diesen Umstand nur durch die weite Entfernung der Ortschaften, in denen diese Tiere gezüchtet werden, von den wissenschaftlichen Zentren. Bis jetzt noch sind vollkommen falsche Vorstellungen von ihrem Bau im Umlauf; es werden z. B. irgendwelche besondere Reservoirs für Wasservorräte erwähnt, oder besondere spezifische Drüsen seitlich am Halse oder eine Gallenblase u. dgl. mehr.

Selbst die Angaben über die normale Körpertemperatur der Kamele sind verworren und widersprechend, während die Kenntnis der normalen Temperatur für die Pathologie der Kamele äußerst wichtig ist.

In Berücksichtigung der großen Bedeutung der Kamele für die Bevölkerung und folglich auch für den Staat, ungeachtet rein wissenschaftlicher Forderungen, ist es somit hohe Zeit, der Erforschung der Krankheiten der Kamele überhaupt, speziell jedoch der Infektionskrankheiten, gebührende Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Ich brauche wohl kaum besonders hervorzuheben, daß die Erforschung der Krankheiten der Kamele eine besondere Bedeutung in sanitärer Beziehung zukommt, besonders in Anbetracht, ich möchte sagen, des gemeinsamen Lebens der Tiere mit der wenig sauberen Nomadenbevölkerung, wie die Kirgisen es sind, in den Steppen des Gouvernements Astrachan und des Uralgebietes.

¹⁾ Mitgeteilt in der Mikrobiologischen Gesellschaft in St. Petersburg, den 25. November 1911.

Mehrfach bereits ist unter anderem auf einen Zusammenhang hingewiesen worden zwischen Erkrankungen und Eingehen der Kamele und dem Auftreten und der Ausbreitung der Bubonenpest unter den Kirgisen, besonders unter denjenigen, welche Fleisch eines geschlachteten, erkrankten Tieres genossen hatten. Natürlich wurden derartige Hinweise und Erzählungen, die von Kirgisen ausgehen, d. h. von Liebhabern jeglicher unglaublicher Gerüchte, von verschlossenen Leuten, welche sich stets bemühen, die Spuren des Auftretens und der Verbreitung der Bubonenpest unter ihnen zu verwirren und zu verwischen, da die Ankunft russischer Beamten mit „dem Feuer“ unter ihnen keine geringere Panik hervorruft als die Pest, wenig Glauben geschenkt. Kaum jemand von den Aerzten in Rußland hat jemals derartigen unsinnigen Gerüchten irgendwelche Bedeutung zuerkannt.

Seit langem — bereits seit 15 Jahren — ist es von Forschern, die den Erreger der Bubonenpest allseitig erforscht hatten, erwiesen worden, daß alle rein pflanzenfressenden Wiederkäuer für die Bubonenpest unempfindlich sind; besonders wertvoll sind in dieser Hinsicht die Forschungen und Ergebnisse der deutschen Kommission. Ebenso ist vom früheren Direktor des Fortlaboratoriums, dem Mag. sc. vet. M. G. Tarkowsky, bereits im Jahre 1898 experimentell erwiesen worden, daß auch die Kamele für die Bubonenpest unempfindlich sind. Ein erwachsenes, zweihöckeriges Kamel, das unmittelbar in eine Vene infiziert worden war — ins Blut mit einer Emulsion aus einer $\frac{1}{2}$ Platinöse einer 24-stündigen Agarkultur in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung, blieb am Leben, wobei es bloß ein unbedeutendes Unwohlsein offenbarte, „das am Morgen des folgenden Tages spurlos verschwunden war“. Kontrollmäuse, die gleichzeitig mit dem Kamel mit der gleichen Kultur infiziert waren, „gingen am gewöhnlichen Termin ($2\frac{1}{2}$ Tage) an der Pest ein“.

Augenscheinlich sind die Kamele für die Bubonenpest unempfindlich.

Im Jahre 1902 infizierte ich drei Kamele unmittelbar in die Vene — ins Blut, nicht zwecks Kontrolle der bereits allbekannten Tatsache, sondern zwecks Erhaltung eines Pestheilserums von Kamelen, das leider nicht nur für den menschlichen Organismus, sondern auch für die Laboratoriumstiere sich äußerst schädlich erwies. Meine Versuche und Beobachtungen hätte ich wahrscheinlich nie veröffentlicht, da ich sie nicht für wichtig hielt, wenn nicht die Nachricht gekommen wäre, daß in der Kirgisensteppe des Gouvernements Astrachan bei den Kamelen eine epidemische Krankheit aufgetreten sei, die bei den Kirgisen, welche das Fleisch von geschlachteten, kranken Tieren genossen hätten, das Auftreten der Bubonenpest hervorrufe. Diese alarmierende Nachricht bewirkte die Abkommandierung eines Spezialisten — eines Veterinärarztes — in die Kirgisensteppe zur Erforschung der unbekanntem Infektionskrankheit der Kamele.

Durch die Veröffentlichung meines Materials möchte ich die wahre Natur der „eigentümlichen“ Krankheit der Kamele, die sich bei den Kirgisen in Bubonenpest umwandelt, klarstellen. Meine Versuche und Beobachtungen sind folgende:

Versuch I.

Am 8. Mai 1902 wurden um 10 Uhr morgens einem gut genährten, erwachsenen, zweihöckerigen Kamel in die Halsvene — ins Blut in Form einer Emulsion in physiologischer Kochsalzlösung zwei zweitägige Agarkulturen des Bubonenpestmikroben „Tekebai 623“ injiziert. Gleichzeitig wurden subkutan mit $\frac{1}{60}$ derselben Kultur ein Meerschweinchen und 2 weiße Mäuse zur Kontrolle infiziert.

Um 3 Uhr wurde ein unbedeutendes Unwohlsein des Tieres bemerkt; Körpertemperatur 38,1°.

Um 6 Uhr abends: Derselbe Zustand; frißt gut; Temperatur 38,5°.

Um 8 Uhr abends: Dasselbe; Temperatur 38,2°.

9. Mai 8 Uhr morgens: Temperatur 37,7°; das Tier ist munter. An der Injektionsstelle keinerlei Geschwulst.

Die folgenden Tage war das Tier munter; die Körpertemperatur war normal. Das Meerschweinchen ging nach 4 Tagen, die Mäuse nach 2—3 Tagen an Bubonenpest zugrunde. Nach weiteren Injektionen des Pestvirus in steigenden Dosen — 5 Kulturen, 10 Kulturen usw. je nach 8—10 Tagen — in die Vene des Kamels wurden keinerlei Anzeichen einer schweren Bubonenpesterkrankung wahrgenommen.

Versuch II.

Am 11. Mai 1902 wurde um 6¹/₂ Uhr abends dem Kamel No. 11 in die Halsvene — in das Blut ¹/₄ Kolben Roux einer zweitägigen Agarkultur des Pestmikroben „T“ in Form einer Emulsion in physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Gleichzeitig wurde subkutan mit ¹/₆₀ derselben Kultur ein Meerschweinchen infiziert.

8¹/₂ Uhr abends: Das Tier ist munter, nimmt Nahrung zu sich, trinkt, kaut wieder; an der Injektionsstelle keine Geschwulst; Temperatur 38,2°.

10¹/₂ Uhr abends: Dasselbe; Temperatur 38,9°.

12¹/₂ Uhr nachts: Dasselbe; Temperatur 38,4°.

2¹/₂ Uhr nachts: Das Tier ist vollkommen munter; Temperatur 38,1°.

12. Mai 7¹/₂ Uhr morgens: Dasselbe; Temperatur 38,1°.

10¹/₂ Uhr abends: Dasselbe; Temperatur 38,2°.

13. Mai 7¹/₂ Uhr morgens: Dasselbe; Temperatur 37,4°.

9¹/₂ Uhr abends: Das Tier ist gesund; Temperatur 37,1°.

Die folgende Infektion des Kamels nach 12 Tagen in die Halsvene — ins Blut mit einer sehr großen Menge des Pestmikroben mit einem ¹/₂ Kolben Roux in physiologischer Kochsalzlösung rief bloß nach 4 Stunden eine Steigerung der Körpertemperatur auf 39,5° hervor, die 11 Stunden nach der Infektion 39,9° erreichte und am folgenden Tage zur Norm zurückkehrte; es wurde hierbei eine geringe Mattigkeit des Tieres beobachtet, wobei es jedoch Nahrung zu sich nahm und wiederkaute. An der Injektionsstelle war keine Geschwulst beobachtet worden. Das Kontrollmeerschweinchen ging am 4. Tage an Bubonenpest zugrunde.

Versuch III.

Den 26. April wurde um 11 Uhr morgens dem Kamel No. 13 intravenös ins Blut die 2-tägige Kultur des Pestbacillus „Batum“ als Emulsion in der Menge eines Kolbens Roux eingeführt.

Ein gleichzeitig subkutan mit derselben Kultur infiziertes Meerschweinchen ging nach 3¹/₂ Tagen an Bubonenpest ein.

Temperatur des Kamels: 2 Uhr nachm. 38,9°

„ „ „ 3 „ „ 39,5°

„ „ „ 4 „ „ 39,6°

„ „ „ 5 „ „ 37,7°

„ „ „ 6 „ abends 37,5°

„ „ „ 7 „ „ 37,8°

„ „ „ 8 „ „ 37,9°

„ „ „ 10 „ „ 38,0°

Um 2 Uhr nachm.: Das Tier ist munter, nimmt Futter zu sich.

Um 3 Uhr nachm.: Das Tier liegt nach Art der Kamele; kein Wiederkauen, bisweilen läßt sich ein Zittern am ganzen Körper wahrnehmen.

Um 7 Uhr abends: Das Kamel ist ruhig, nimmt Futter zu sich.

27. April. Temperatur: { morgens 38,0°. Das Kamel ist ruhig, nimmt Futter zu sich,
mittags 38,8°. kaut wieder; keine Geschwulst an der In-
abends 39,5°. jektionsstelle.

28. April. Temperatur: { morgens 37,6°. } Dasselbe.
abends 38,0°.

29. April. Temperatur: { morgens 37,0°. } Dasselbe.
abends 38,0°.

Die folgenden intravenösen Injektionen des Pestbacillus nach 12, 8 Tagen und abermals nach 6 Tagen in Dosen von 1 Kolben, 2 Kolben und schließlich 3 Kolben Roux riefen nicht nur keine Erkrankung des Kamels an Bubonenpest mit letalem Ausgange hervor, sondern auch

keine besondere Erhöhung der Körpertemperatur oder irgendwelches wahrnehmbares Unwohlsein des Tieres.

Meine Versuche einer Infektion der Kamele mit dem Bubonenpestbacillus sogar in Dosen von 3 Kolben Roux, welche Menge ungefähr 120 Agarkulturen gleichkommt, bestätigen somit die längst bekannte Tatsache, daß 1) die Kamele für den Bubonenpestbacillus unempfindlich sind und 2) der Pestbacillus für Kamele durchaus nicht pathogen ist.

Es bleibt nun noch die Frage zu entscheiden, welcher Art die eigenartige Infektionskrankheit ist, die in der Kirgisensteppe des Gouvernements Astrachan aufgetreten ist und die auf Kirgisen, welche das Fleisch von geschlachteten kranken Tieren genossen haben, übergeht.

Einige, wenn auch recht verworrene und undeutliche Hinweise finden sich in der soeben erschienenen Abhandlung von Dr. N. N. Klodnitzky in der Zeitschrift „Wratschebnaja Gaseta“. No. 47, in welcher Verf. die Bedeutung der Kamele in der Epidemiologie der Pest in Betracht zieht. Ohne mich auf eine Kritik dieser Abhandlung einzulassen, da ich annehme, daß jeder, der die Mitteilung gelesen haben wird, sie nach Verdienst beurteilen wird, will ich hier nur die Befunde der pathologisch-anatomischen Obduktion anführen, von denen eine von dem Veterinärarzt E. E. Tscheniowsky ausgeführt worden war, die andere dagegen von dem Feldscher Sasonoff begonnen und einem Kirgisen, „dem Eigentümer des Tieres, mit heftigen und gewohnten Bewegungen“ zu Ende geführt wurde.

Bei der ersten Obduktion war gefunden worden: „Kadaver mittleren Ernährungsstandes; beim Eröffnen der Bauchhöhle sind der Magen und der Darm durch Gas gebläht und enthalten geringe Mengen Futter, die Darmgefäße sind injiziert; eine Vergrößerung der Mesenterialdrüsen ist nicht wahrnehmbar; die Leber ist vergrößert, von dunkler Farbe, das Gewebe blutreich; die Milz von mittlerer Größe, auf ihrer Oberfläche sind kleine dunkelblaue Flecke vorhanden, das Gewebe ist locker, läßt sich leicht mit dem Messer abstreifen; die Nieren sind hyperämisch. Beim Eröffnen der Brusthöhle fällt die große Menge einer blutigen, stark schaumigen Flüssigkeit auf; die Lungen sind von dunkelblauer Farbe, auf ihrer Oberfläche sind gelbe Fibringerinnsel wahrnehmbar, die unteren Lappen sind mit kleinen zarten Flecken besät; das Lungengewebe ist ödematös, auf dem Durchschnitt haben die Lungen eine dunkelkirschrote Farbe, von der Schnittfläche läßt sich eine blutige, mit Luftbläschen versetzte Flüssigkeit abstreifen.“

Die zweite Obduktion gab folgenden Befund: „Kadaver vollkommen frisch, noch warm; beim Eröffnen der Bauchhöhle fällt die ungeheure Erweiterung des Magens und des oberen Darmabschnittes auf. Sowohl das parietale als auch das viscerele Bauchfell weisen verschieden große lokale Hämorrhagien und Durchtränkungen von dunkelblauer, fast schwarzer Farbe auf. Der untere Teil des Dünndarms stark hyperämisch, von dunkelblauer Farbe; Darminhalt sehr gering, es sind große Mengen Schleim mit geringen Blutbeimengungen vorhanden. Die Leber ist nicht herausgenommen worden — ist augenscheinlich nicht vergrößert, von lehmig-gelblicher Farbe, blutarm. Milz wenig vergrößert, ihre Kapsel verdickt, schlaff, die Pulpa läßt sich leicht abstreifen.“

Die linke Lunge im Volumen stark vergrößert, hellgrau in der oberen Hälfte, bläulich in den unteren Teilen; sie erscheint bunt, da sie mit zahlreichen, fast schwarzen Hämorrhagien von Hirsekorn- bis Linsengröße besät sind; in der Pleurahöhle eine große Menge blutiger Flüssigkeit. Beim Durchschneiden erscheint das Lungengewebe etwas derb, elastisch, von der Schnittfläche fließt eine große Menge leicht rötlicher, schaumiger Flüssigkeit ab. In der Pericardhöhle desgleichen eine große Menge blutigen Exsudats, auf dem Pericard, besonders auf den Aurikeln, viele Ekchymosen; das Blut ist flüssig rot, gerinnt nicht.“

Weiterhin müssen die Resultate der bakteriologischen Untersuchung des aus den Organen der gefallenen Kamele entnommenen Materials in Betracht gezogen werden. Bei den bakteriologischen Untersuchungen erwies es sich, daß „Mäuse, die mit einer Emulsion aus den Organen des Kamels infiziert waren, sehr rasch unter den Erscheinungen einer Leber- und Milzvergrößerung und dem Auftreten kleiner Bubonen zu-

grunde gingen. Aus dem Blute dieser Mäuse wurde eine Kultur isoliert, die aus bipolaren, nach Gram nicht färbbaren Stäbchen, welche eine starke Trübung der Bouillon bewirkten, bestand“. „Nach Empfang der Organe des Kamelweibchens bereiteten D. J. Feinschmidt und der Veterinärarzt A. N. Petrowsky aus denselben eine Emulsion und infizierten mit ihr Mäuse und Meerschweinchen. Die Tiere gingen unter äußerst heftigen Erscheinungen einer hämorrhagischen Septikämie zugrunde. In den Präparaten und in der Aussaat waren desgleichen sich polar-färbende Bacillen vorhanden, infolgedessen der Verdacht einer Aehnlichkeit dieser Bacillen mit den Pestbacillen ausgesprochen wurde. Am Tage der Abfahrt des Dr. N. N. Klodnitzky in die Steppe am 23. September wurde ihm in dem Veterinärlaboratorium eine stark trübe Bouillonkultur gezeigt. Sie bestand aus polar sich färbenden, nach Gram sich entfärbenden Bacillen; die Beweglichkeit der Bacillen war nicht untersucht worden, in Berücksichtigung jedoch der starken Trübung der Bouillon mußten die Bacillen lokomotionsfähig sein.“

Auf Grund des Mitgeteilten nehme ich an, daß sowohl der Veterinärarzt E. E. Tscheniowsky als auch Dr. Klodnitzky mit der aus den Aerzten Deminsky, Petrowsky, Feinschmidt und Schukewitsch bestehenden Kommission es zu tun hatten und haben mit einer hämorrhagischen Septikämie, die von dem bereits seit mehr als 20 Jahren bekannten und recht genau in dem ausgezeichneten Lehrbuch von Prof. Th. Kitt „Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie“, Wien 1908, beschriebenen „Bacillus bipolaris plurisepticus“ hervorgerufen wird.

Eine genaue Beschreibung dieser Erkrankung ist auch in der von G. J. Swetloff und M. G. Tartakowsky ausgeführten russischen Uebersetzung vom Jahre 1906 des Buches von Ed. Nocard et E. Leclainche „Die Mikrobenerkrankungen der Tiere“ vorhanden.

Nachdruck verboten.

Ueber die Empfänglichkeit der Ziege für die Infektion mit Typhusbacillen.

[Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte in Berlin.]

Von Dr. E. Hailer und Dr. E. Ungermann.

Im 57. Bande dieses Centralblattes sind von Scordo Versuche bekannt gegeben worden, denen zufolge es leicht und sicher zu gelingen schien, Ziegen auf intravenösem oder stomachalem Wege mit Typhusbacillen zu infizieren; solche Tiere sollten darauf längere Zeit hindurch in ihren Sekreten und Exkreten Typhusbacillen in mehr oder weniger großer Menge ausscheiden.

Die Untersuchungen des Autors beziehen sich auf 5 erwachsene Tiere und 2 Zicklein; eins der ersteren wurde mit 2 ccm einer Typhusbouillonkultur intravenös infiziert, den 4 anderen wurden die Bacillen mit infiziertem Futter eingegeben. Die beiden Zicklein nahmen die Erreger mit der Milch ihrer vor einiger Zeit oral infizierten Muttertiere auf. Die Bacillen erschienen nach der Fütterungsinfektion zunächst unmittelbar darauf in den Fäkalien der Tiere, verschwanden alsdann für

einige Zeit, um vom 9.—13. Tage an wieder aufzutreten und bis zur Mitte des 5. Monats nachweisbar zu bleiben. In der Milch, welche die erwachsenen Tiere lieferten, wurden die Typhusbacillen vom 13.—17. Tage nach der Infektion an regelmäßig gefunden und verblieben darin längere Zeit. Der Urin war nur in 4 Fällen bacillenhaltig, und zwar vom 16. bis 20. Tage an; doch war die Bacillenausscheidung hier nicht so regelmäßig, fand zum Teil auch nur kurze Zeit hindurch statt. Der Autor hat bei seinen Experimenten eine von Král bezogene Kultur benutzt, die Meerschweinchen bei intraperitonealer Injektion von $\frac{1}{4}$ ccm Bouillonkultur innerhalb 2—3 Tagen tötete; dieser Virulenzgrad erhielt sich im Körper der Ziege unverändert.

Die Bedeutung dieser Befunde für die Epidemiologie des Typhus wäre gewiß groß. Wenn Ziegen, ohne selbst schwer zu erkranken, eine Typhusinfektion erwerben und zu Dauerausscheidern der Bacillen werden könnten, so würde die Möglichkeit vorliegen, daß sie besonders in Ländern, die zur Deckung ihres Milchbedarfes mehr auf diese Tiere angewiesen sind, in ähnlicher Weise wie beim Maltafieber eine gefährliche Infektionsquelle darstellen; es wäre dann sogar auffallend, daß man in der Praxis dieser Aetiologie von Typhusepidemien noch nicht auf die Spur gekommen ist.

Für uns waren die Ergebnisse Scordos noch nach einer anderen Seite hin von Interesse. Gelänge es nämlich, mit der vom Autor gefundenen Leichtigkeit und Sicherheit, Ziegen zu Dauerausscheidern von Typhusbacillen zu machen, so wäre ein ausgezeichnetes Material für Versuche gefunden, die Typhusinfektion und -ausscheidung auf chemotherapeutischem Wege zu beeinflussen oder zu heilen. Die Infektion der Ziege soll nach Scordos Befunden auch in ihrem anatomischen Bilde etwas dem menschlichen Typhus ähneln. Beim Kaninchen, welches sich bis jetzt als das für diese Zwecke brauchbarste Versuchstier erwiesen hat, ist der septikämische Zustand, der fast stets nach der intravenösen Impfung mit Typhusbacillen eintritt, von der Typhusinfektion des Menschen recht verschieden, auch geht der Keimgehalt des Organismus meist schon in kurzer Zeit zurück, so daß die Bedingungen für eine langdauernde und schonende Behandlung, wie sie beim Menschen durchzuführen wäre, nicht gegeben sind.

Wir haben daher eine Nachprüfung der Befunde des Autors an 6 Tieren vorgenommen, um daran eventuell chemotherapeutische Experimente anzuschließen. Vier von unseren Versuchstieren waren erwachsen, zwei etwa 4 Wochen alte Zicklein. Zwei von den erwachsenen Tieren waren bereits früher zu ganz anders gearteten Versuchen benutzt worden. Alle Tiere waren im übrigen gesund und kräftig. Vor ihrer Infektion wurden Kot, Urin und Milch auf etwaigen Gehalt an Typhus- oder verwandten Keimen geprüft; in keinem Falle wurde ein solcher nachgewiesen.

Zur Infektion benutzten wir vier verschiedene gut agglutinierbare Typhusstämme; davon waren drei erst vor kurzem aus dem Menschen isoliert, der vierte Stamm befand sich bereits etwas länger in Kultur, hatte aber inzwischen einige Passagen durch den Kaninchenkörper durchgemacht. Von einem der frisch isolierten Stämme war die Virulenz von anderen Versuchen her bekannt, er tötete Meerschweinchen bei intraperitonealer Infektion von $\frac{1}{10}$ Oese in 24 Stunden (Kultur A). Im Ganzen dürfte die Virulenz unserer Kulturen wohl nicht geringer gewesen sein, als die des von Scordo benutzten Typhusstammes.

Wir haben vier von unseren Versuchstieren nur intravenös geimpft, eins davon zweimal, ein anderes wurde zunächst per os, dann intravenös infiziert, dem letzten wurde nur einmal eine größere Kulturmenge auf oralem Wege beigebracht.

Die erste Prüfung des Keimgehaltes von Kot, Milch und Urin wurde am ersten oder zweiten Tage nach der Impfung vorgenommen. Weiterhin wurde die Prüfung anfänglich einen Tag um den anderen, später in etwas größeren Intervallen ausgeführt. Regelmäßig wurden die Faeces untersucht, fast immer auch Milch und Urin. Das Untersuchungsmaterial wurde im sterilen Kolben aufgefangen, ohne irgendwie mit anderen Gegenständen in Berührung gekommen zu sein.

Das Material wurde anfänglich sowohl direkt auf Drigalski-Conradi-Platten ausgestrichen — die Faeces nach gleichmäßiger Emulgierung in Kochsalzlösung — als auch in Rindergalle verimpft. Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank wurden einige Oesen dieser Galle zunächst auf Malachitgrünplatten nach Tietz-Lentz verteilt, diese wurden nach 24-stündiger Bebrütung abgeschwemmt und einige Tropfen von der Oberfläche der Abschwemmungsfüssigkeit auf Lackmusblauährboden ausgestrichen. Die auf den Blauplatten gewachsenen verdächtigen Kolonien wurden abgeimpft und zur Identifizierung der Agglutinationsprobe unterworfen. Später haben wir von einer direkten Aussaat des Materials auf Blauplatten und von einer Beschickung von Galleröhrchen abgesehen und das Material nur auf Malachitgrünplatten verimpft.

Im folgenden seien die in der beschriebenen Weise bei den einzelnen Tieren vorgenommenen Infektionsversuche und die Untersuchungsergebnisse kurz dargestellt.

I. Eine mittelgroße, Milch liefernde Ziege wird am 23. Okt. 1911 mit $\frac{1}{2}$ Oese einer 24-stündigen Reinkultur des Stammes R durch Injektion in die Jugularvene infiziert.

Am Tage nach der Impfung steigt die Temperatur des Tieres unter mäßigen Krankheitserscheinungen bis über 41°C , um im Verlaufe 1 Woche allmählich zur Norm abzufallen. Vom 12. Okt. 1911 bis zum 6. Jan. 1912 wurden 18 Untersuchungen des verdächtigen Materials vorgenommen, und zwar gelangten regelmäßig die Faeces nebst Urin und Milch zur Prüfung; das Ergebnis war aber jedesmal negativ.

Im weiteren Verlaufe traten bei dem Tiere niemals irgendwelche Krankheitserscheinungen auf; eine Prüfung seines Serums am 8. Jan. 1912 auf agglutinierende Fähigkeiten gegenüber dem Typhusstamme A hatte kein deutlich positives Ergebnis, der Grenzwert des Serums lag bei 1:40.

II. Eine große, Milch liefernde Ziege wird am 25. Okt. 1911 mit 2 ccm einer 24-stündigen Typhusbouillonkultur des Stammes A. in die Jugularvene gespritzt. Nach einem 4-tägigen Fieberstoß mit Temperaturen bis zu $39,9^{\circ}$ und verhältnismäßig geringen Krankheitserscheinungen trat wieder ganz normales Verhalten ein. In der Zeit vom 27. Okt. 1911 bis zum 6. Dez. 1911 wurden 12 Untersuchungen vorgenommen, alle ohne ein positives Ergebnis.

Am 6. Dez. 1911 wurde dem Tiere nochmals die gleiche Dosis desselben Typhusstammes intravenös beigebracht. Es trat eine mäßige Fieberreaktion während zweier Tage mit stärkeren Allgemeinerscheinungen auf. Die 5 Materialuntersuchungen, die vom 6. Dez. 1911 bis zum 6. Jan. 1912 vorgenommen wurden, hatten stets ein negatives Ergebnis. Bei einer am 8. Jan. 1912 vorgenommenen Prüfung des Agglutinationsgehaltes des Serums dieses Tieres ergab sich ein Grenzwert von 1:200.

III. Einer mittelgroßen, milchenden Ziege wird am 25. Okt. 1911 1 Oese einer 24-stündigen Reinkultur des Stammes H. durch intravenöse Injektion einverleibt. Das Tier zeigte keinerlei Krankheitssymptome und nur eine ganz geringe Fieberbewegung.

Es wurden in der Zeit vom 27. Okt. 1911 bis zum 6. Jan. 1912 19 Untersuchungen ausgeführt, von denen sich 13 auf Faeces, Urin und Milch, 6 auf Faeces und Milch bezogen. Das Ergebnis der Prüfungen war stets negativ. Eine Untersuchung der agglutinierenden Fähigkeiten des Serums dieses Tieres am 8. Jan. 1912 ergab keine deutliche positive Reaktion.

IV. Ein etwa 4 Wochen altes männliches Zicklein wird am 25. Okt. 1911 mit $\frac{1}{2}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur des Typhusstammes K. intravenös infiziert. Es erfolgte eine heftige, rasch abfallende Fieberreaktion bei mäßigen Krankheitserscheinungen. Im weiteren Verlauf traten gelegentlich unregelmäßige Fieberstöße auf und 3 Wochen nach der Impfung erhob sich die Temperatur dauernd über 39°. Gleichzeitig stellte sich ein mäßiger Durchfall und beträchtliche Abmagerung ein und das Tier kam am 28. Nov. ad exitum.

Es waren 12 Untersuchungen der Faeces dieses Tieres vorgenommen worden, stets mit negativem Erfolg.

Die Sektion zeigte eine starke Rötung der Schleimhaut des Dünndarmes und eine mäßige Schwellung der Mesenterialdrüsen, dagegen waren die Follikel und Plaques des Dünndarms nicht vergrößert, und von geschwürigen Prozessen fehlte jede Spur. Die Milz war nicht vergrößert; in der Leber zeigten sich an mehreren Stellen, besonders an den Kanten des Organs, kleine, gelbe, herdförmig zusammenliegende Stippchen und Flecke, die teilweise zu etwas größeren Herden zusammenflossen. In beiden Lungenflügeln, besonders in den Unterlappen, fanden sich bis kirschgroße, blutreiche, atelektatische Herde von derber, brüchiger Konsistenz.

Der Sektionsbefund zeigte also das Bild einer einfachen Enteritis mit sekundärer Beteiligung der Leber und der Lunge. Die bakteriologische Untersuchung von Galle, Gallenblase, Leber, Milz, Lunge und Nieren ergab sowohl bei direkter Aussaat auf Blutplatten wie nach vorherigen Anreicherungsversuchen in Galle und auf Malachitgrünplatten die Abwesenheit von Typhusbacillen.

V. Am 28. Okt. 1911 wird ein etwa 4 Wochen altes männliches Zicklein mit 20 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur des Stammes A. gefüttert. Es zeigte darauf keinerlei Störungen, hatte nie Temperatursteigerungen. Vom 1. Nov. bis 6. Dez. 1911 wurden die Faeces des Tieres 13mal mit negativem Ergebnis untersucht.

Am 6. Dez. 1912 wurden dem Zicklein 2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur des Stammes A. in die Jugularvene injiziert. Es erfolgte eine heftige Fieberreaktion bis zu 41° während der beiden der Impfung folgenden Tage. Weiterhin war das Tier vollkommen gesund. 5 Prüfungen des Kotes in der Zeit vom 7. Dez. 1911 bis zum 6. Jan. 1912 hatten wiederum ein negatives Ergebnis.

Eine Agglutinationsprobe mit dem Serum des Tieres am 8. Jan. 1912 ergab einen Titre von 1:100.

VI. Einer großen, Milch liefernden Ziege werden am 25. Nov. 1911 100 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur des Stammes K. auf oralem Wege einverleibt. Das Tier zeigte darauf zunächst keinerlei Störungen seines Befindens, besonders niemals eine Fieberregung. Von einem kurzdauernden mit Abmagerung verbundenen Durchfall erholte es sich rasch und blieb dann dauernd gesund.

Trotz der enormen Menge der eingeführten Typhusbacillen waren schon am zweiten Tage nach der Fütterung in den Faeces keine Bacillen nachzuweisen; auch späterhin gelang ein solcher Nachweis nicht. Es fanden vom 27. Nov. 1911 bis zum 6. Jan. 1912 11 Untersuchungen statt, von denen sich 3 auf Kot, Milch und Urin, 4 auf Kot und Urin, 4 auf Kot allein bezogen.

Eine Agglutinationsprobe mit dem Serum dieser Ziege am 8. Jan. 1912 ergab ein gänzlich fehlendes Agglutinin.

Unsere Versuche, die Typhusbacillen im Organismus der Ziege zum Haften zu bringen, sind also in keinem Falle erfolgreich gewesen; auch haben wir niemals eine Ausscheidung derselben feststellen können, auch nicht im Kote nach stomachaler Einführung der Keime. Dabei ist jedoch zu bemerken, daß dieser Infektionsmodus nur bei zwei Versuchstieren ausgeführt wurde und daß die erste Untersuchung des Kotes erst 48 bzw. 72 Stunden nach der Verfütterung der Typhusbacillen vorgenommen wurde.

Ob die entgegengesetzten Ergebnisse der Untersuchungen Scordos etwa auf der Verwendung einer besonders geeigneten Ziegenrasse oder auf besonderen pathogenen Eigenschaften der von dem Autor benutzten Typhuskultur beruhen, müssen wir dahingestellt sein lassen.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über den *Bacillus paratyphosus* B, den *Bacillus enteritidis* Gärtner und die Rattenbacillen: *Ratinbacillus*, *Bacillus ratti* Danysz, *Bacillus ratti* Dunbar und *Bacillus ratti* Issatschenko.

Von **Konrad Hurler**, approb. Tierarzt aus München.

I. Allgemeiner Teil.

Zur Bekämpfung der Rattenplage, die wegen der Gefahr der Pestübertragung durch diese Tiere eine größere Bedeutung erlangt, wurden in den letzten Jahren von verschiedenen Forschern Bacillen gezüchtet, die im Kampfe gegen die Ratten mehr oder minder erfolgreiche Verwendung fanden. Die Veranlassung hierzu mochten wohl die außerordentlichen Erfolge gegeben haben, die Loeffler mit seinem Mäusetyphusbacillus erzielte [Bongert (7), Wiener (69)].

Was aber dem Vorgehen mit Bacillen im Kampfe gegen die Nager eine besondere Beachtung zukommen ließ, war der Umstand, daß dem Mäusetyphusbacillus gefährliche Vergiftungserscheinungen beim Menschen zugeschrieben wurden [Shibayama (60), Trommsdorff (65, 66)], während wegen der Gefahr für die Haustiere — Erkrankungen bei Fütterungsversuchen [Issatschenko (35), Grimm (27), Wladimir und Komensky (70)] — und wegen der nahen Verwandtschaft zu anderen Gliedern der Coli-Typhusgruppe auch bei der Verwendung der Rattenbacillen Vorsicht gefordert wurde [Trautmann (64), Bahr (1), Mühlens, Dahm und Fürst (49), Xylander (73)].

Als die wichtigsten Rattenschädlinge kommen in Betracht: Der von Issatschenko (34, 35) in Petersburg 1898 gezüchtete *Bacillus ratti* Issatschenko, der von Danysz (13) in Paris 1900 isolierte *B. ratti* Danysz, der von Neumann in Aaleborg 1903 entdeckte *Ratinbacillus* [Bahr (1), Rübiger (54), weiterhin „*Bacillus ratti* Neumann“ genannt] und der von Dunbar in Hamburg 1904 gefundene *B. ratti* Dunbar [Trautmann (64)].

Der *Ratinbacillus* wurde vor allem in Deutschland, der *B. ratti* Danysz in Frankreich, der *B. ratti* Issatschenko in Rußland zur Vertilgung der Ratten benutzt. *Bacillus ratti* Dunbar wurde wegen seiner Aehnlichkeit mit dem Pestbacillus (Polfärbung der Kurzstäbchen) außerhalb von Laboratorien nicht zur Verwendung gebracht.

Alle diese vier Bakterien sind Stäbchen (Bacillen) und gehören in die 15. Gruppe Flügges (21), für die als die bekanntesten Vertreter das *Bacterium coli*, der *Bacillus enteritidis* Gärtner (24) (Frankenhauser Fleischvergiftung) und der *B. typhosus* kennzeichnend sind. Sie sind also alle Glieder der großen, an vielen und mannigfaltigen Vertretern so reichen Coli-Typhusgruppe, in der ihnen bei den noch immer nicht abgeschlossenen Forschungsergebnissen verschiedene Plätze angewiesen werden.

Schottmüller (56, 57), der schon 1900—1901 sich eingehend mit der Frage der zwischen Coli und Typhus stehenden Bakterien beschäftigte, fand bei klinisch das Bild des Typhus bietenden Krankheiten typhusähnliche Bakterien, die auch in ihrem biologischen Verhalten zwischen Coli und Typhus standen, und faßte sie zuerst unter dem Namen „Paratyphusgruppe“ zusammen. Trautmann (63) traf für diese Paratyphusgruppe die Einteilung:

- 1) *Bacillus enteritidis* (Gärtner),
- 2) *B. Breslaviensis* (Günther),
- 3) *B. Hamburgensis* (Schottmüller) = *B. paratyphosus* B,
- 4) *B. Strassburgensis* = *B. paratyphosus* A,
- 5) *B. morbificans bovis*.

Später nahm der gleiche Verfasser Gruppe 2 und 3 zusammen und gelangte zu der jetzt noch am meisten anerkannten [Smidt (61), Bock (4), Böhme (5), Joest (33)] Darstellung der Paratyphusgruppe mit folgender Einteilung:

- 1) *Bacillus enteritidis* Gärtner,
- 2) *B. paratyphosus* B (Hogcholeragruppe),
- 3) *B. paratyphosus* A,
- 4) *B. morbificans bovis*.

Die Stellung der hier nicht genannten Rattenschädlinge war um diese Zeit noch nicht hinreichend geklärt. Bonhoff (8) nahm *B. paratyphosus* B, den Mäuse-typhusbacillus und den *B. enteritidis* Gärtner als Enteritisgruppe zusammen und ließ nur *B. paratyphosus* A als Paratyphusgruppe gelten. Im Jahre 1909 teilten Mühlens, Dahm und Fürst (49) in Anlehnung an Kutscher-Meinicke (42) und De Nobele (51) die Bakterien der Enteritisgruppe, für die sie die 1. und 2. Abteilung der Trautmannschen Paratyphusgruppe in Anspruch nahmen, folgendermaßen ein:

Gruppe I.

B. enteritidis, Typus I (Flügge und andere),
B. paratyphosus B,
B. typhi murium Loeffler,
 Hogcholerabacillus.

Gruppe II.

B. enteritidis, Typus II (Gärtner und andere),
B. ratti Danysz,
B. ratti Issatschenko,
B. ratti Dunbar,
 Ratinbacillus.

Hierbei entspricht Gruppe I der 2. Abteilung, Gruppe II der 1. Abteilung von Trautmanns zuletzt genannter Gruppierung der Paratyphusbakterien.

Mühlens, Dahm und Fürst (49) weisen darauf hin, daß eine Unterscheidung zwischen den beiden Gruppen morphologisch und kulturell nicht möglich sei, daß aber durch die Agglutination eine Trennung sich erreichen lasse. Es gestaltet sich also bei der Zusammenstellung aller hier in Betracht kommenden Bakterien nach Annahme der Mühlens, Dahm und Fürstschen Auffassung die Einteilung der wichtigsten zwischen Coli und Typhus stehenden Bakterien der Schottmüller-Trautmannschen (56, 57, 63) Paratyphusgruppe, wie folgt:

- 1) *B. enteritidis* Gärtner
 = *B. enteritidis*, Typus II (Gärtner und andere),
B. ratti Issatschenko,
B. ratti Neumann (Ratin),
B. ratti Danysz,
B. ratti Dunbar.
- 2) *B. paratyphosus* B
 = *B. enteritidis*, Typus I (Flügge und andere),
B. suipestifer als Hauptvertreter der englischerseits Hogcholeragruppe, französischerseits [Seiffert (59)] Salmonella-Gruppe benannten Bakterien,
B. typhi murium.
3. *B. paratyphosus* A.
4. *B. morbificans bovis*.

Als Grundlagen für eine derartige Einteilung der Paratyphusgruppe, vor allem zur Unterscheidung von Abteilung 1 und 2, dienen nach der Ansicht einiger Autoren [Mühlens, Dahm und Fürst (49), Bruns und Kayser (11), Schottmüller (56, 57), Kolle (38), Bock (4), Uhlenhuth und Hübner (67), Kayser (36)] die serologischen Unterschiede (Agglutination), während andere [Jensen (32), Bahr, Raebiger und Grosso (2)] auch kulturelle Kennzeichen gefunden haben wollen [Bahr (1)]. Es sind aber auch Stimmen laut geworden, die selbst auf die serologischen Unterschiede wenig Wert legen und vor allem die Ergebnisse der Agglutination nicht allzu hoch einschätzen [Bahr (1), Lebram (44)]. Bonhoff (8) kommt sogar zu dem Schluß, daß *B. typhi murium*, *B. enteritidis* Gärtner und *B. paratyphosus* B weder biologisch noch durch Agglutination oder bakteriolytische Untersuchungen zu differenzieren seien.

Da meine Versuche in enger Beziehung dazu stehen, mögen hier die von Jensen (32) gegebenen und von Bahr (1) erweiterten Anleitungen zur kulturellen Unterscheidung der Paratyphusstämme nach ihrer Fähigkeit, Kohlehydrate

- „Nicht zu vergären“,
- „Ohne Gasbildung zu vergären“,
- „Mit Gasbildung zu vergären“,

nicht unerwähnt bleiben. Jensen (32) trifft für die Coli-Typhusgruppe folgende Einteilung, wobei — = keine Vergärung, Δ = Vergärung ohne Gasbildung, \blacktriangle = Vergärung mit Gasbildung bedeuten soll.

| Gruppe | Glykose | Maltose | Laktose | Saccharose |
|--------|---------|---------|---------|------------|
| A | — | — | — | — |
| B | △ | — | — | — |
| C | ▲ | — | — | — |
| D | △ | △ | — | — |
| E | ▲ | ▲ | — | — |
| F | △ | △ | △ | — |
| G | ▲ | ▲ | ▲ | — |
| H | △ | △ | △ | △ |
| I | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |

Bahr (1) erweitert diese Aufstellung durch Hinzuziehen der Kohlehydrate: Sorbose, Arabinose, Xylose, Dulzit und Adonit und verwendet auch die organischen Säuren: Glykonsäure, Schleimsäure, Zuckersäure, Traubensäure und Zitronensäure zur Unterscheidung, ohne aber dabei einer endgültigen Gliederung näher zu kommen.

Die Unsicherheit in der Klassifizierung der Glieder dieser Gruppe nach den heute gebräuchlichsten Methoden der Bakteriologie brachte es mit sich, daß gerade über die Rattenbacillen, deren künstliche Verbreitung zu Besorgnissen Anlaß gab, eine ernste Erörterung über die Gefahr bzw. Gefahrlosigkeit (ganz abgesehen vom praktischen Wert) dieses Verfahrens entstand [Trautmann (64), Bahr (1), Mühlens, Dahm und Fürst (49) Xylander (71, 72, 73), Bahr, Raebiger und Grosso (2)].

Dabei beharrte ein Teil von Autoren, vor allem Bahr, Raebiger und Grosso (2) dabei, daß sich die Rattenbacillen, insbesondere der *Ratinbacillus*, von den anderen Gliedern der Paratyphusgruppe unterscheiden lasse, während der andere Teil [Xylander (71—73), Mühlens, Dahm und Fürst (49)] die Gleichheit der Rattenbacillen mit diesen nachweisen zu können glaubte.

Die Unterscheidung stütze sich auf kleine kulturelle Abweichungen wie auch auf die nach unseren jetzigen Ansichten begründeteren serologischen Unterschiede. Ueber beide Untersuchungsmethoden kamen die Untersuchenden zu keinen übereinstimmenden Ergebnissen. Der Grund für diese Unstimmigkeiten liegt einerseits wohl darin, daß im Vergleich zum Umfang der Coli-Typhusgruppe das untersuchte Material zu gering schien. So kam es vor, daß bei den verschiedenen, von den Laboratorien abgegebenen *Enteritidis* Gärtner- und Paratyphus B-Stämmen ein Bakterienstamm hier von einer der Paratyphusgruppen getrennt wurde, während dort der Vergleich mit anderen gleichnamigen Stämmen ergab, daß eine Unterscheidung von dieser Gruppe durch die gleichen biologischen Versuche nicht mehr möglich war [Bahr, Raebiger und Grosso (2), Nachtrag]. Andererseits ergeben serologische, sowie kulturelle Untersuchungen oft Einteilungen, die mit den bisher bekannten Paratyphusgruppierungen nicht übereinstimmen¹⁾.

Bei allen Züchtungsmethoden aber ist weiter nicht zu vergessen, daß wir hierbei nur die Fähigkeit, auf einem Nährboden zu wachsen und die Erscheinungen dieses Wachstums prüfen, ohne zu wissen, ob und welche Beziehungen zwischen Form- und Züchtungsmerkmalen der Bakterien und ihren verschiedenen Wirkungen im Tierkörper, ihrem eigentlichen Wesen bestehen. So ändert sich mit dem Umfang der Untersuchungen die Gruppierung und es ergeben sich für den Untersuchenden sehr verschiedene Gesichtspunkte für eine Einteilung der ganzen Gruppe coliähnlicher Bakterien. Endlich darf auch die Frage nicht ganz außer acht gelassen werden, ob Bakterien der Coli-Typhusgruppe, die auf natürlichem (Anpassung) oder auf künstlichem Wege [z. B. Züchtung der Rattenbacillen in Kollodiumsäckchen — Danysz (13)] eine Umwandlung erfuhren, nicht ebenso diese Umwandlungsstufen in gleichbleibender oder umgekehrter Richtung auch heute noch durchlaufen. Die Verschiedenheit der unter dem Namen „Enteritidis Gärtner“ und „Paratyphus B“ versandten Stämme lassen diese Annahme nicht unbegründet erscheinen. [Ergebnisse bei serologischen Reaktionen — Seligmann und Sobernheim (62)]. In einer eben erst herausgegebenen Bearbeitung weist Heuser (31) auf die Inkonzanz der pathogenen Eigenschaften der Bakterien der Enteritidis-Gruppe hin²⁾.

Wir dürfen daher bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse von vornherein eine endgültige Einteilung von entscheidender Bedeutung in eine Abteilung der Paratyphus-

1) Vgl. *Bacillus enteritidis* Gärtner und *Bacillus paratyphosus* B aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin und *Bacillus suipestifer* in Gruppe III der in den Schlußfolgerungen auf Grund der Ergebnisse bei der Agglutination und beiden Kulturversuchen in Traubensäure und Zuckersäure gegebenen Uebersicht.

2) Vgl. in diesem Sinne auch die Agglutinationsergebnisse mit Enteritidis Gärtner-Serum bei den folgenden Versuchen.

gruppe als verfrüht ansehen. Wenn ich trotzdem der Aufgabe, die Beziehungen der Rattenbacillen zu dem Enteritis Gärtner- und Paratyphus B-Bacillus mit den jetzt zu Gebote stehenden Methoden zu untersuchen nachkam, so veranlaßten mich hierzu die mit denselben Hilfsmitteln erreichten Ergebnisse von Mühlens, Dahm und Fürst (49), Xylander (71—73) und vor allem von Bahr, Raebiger und Grosso (2). Daß auch auf diesem Wege wenigstens einiges zur genaueren Kenntnis dieser Bakterien beigetragen werden kann, wird durch das Ergebnis meiner Versuche (Sonderstellung der Rattenbacillen in einer Gruppe bei der Agglutination mittels eines der Rattenbacillenserä) bewiesen.

Um ein klares Bild von den bisherigen Trennungs- und Identifizierungsversuchen zu geben, sei hier ein kurzer Ueberblick über die wichtigsten diese Frage betreffenden Arbeiten gegeben.

Trautmann (64) hält *Bacillus ratti* Dunbar für identisch mit dem *Bacillus paratyphosus enteritidis* Gärtner.

Mühlens, Dahm und Fürst (49) sind der Ansicht, daß die Rattenbacillen weder morphologisch, noch kulturell, noch biologisch vom *B. enteritidis* Gärtner zu unterscheiden seien; aus ihren Versuchen bezüglich des Verhaltens bei der Agglutination ergibt sich eine Uebereinstimmung der rattenpathogenen Bakterien von Danysz, Dunbar, Issatschenko und Neumann sowohl untereinander, als auch mit den Stämmen vom Typus II der Paratyphusbakterien, d. i. der Enteritis-Gärtner-Bakterien.

Seiffert (59) bringt die Rattenschädlinge mit *B. enteritidis* Typus II = *B. enteritidis* Gärtner in die von ihm so benannte Ratingruppe, der als andere Abteilung die Paratyphus-B-Gruppe (beide als Glieder der von französischer Seite so bezeichneten Salmonella-Paratyphusgruppe) gegenübersteht.

Xylander (71—73) stellt fest, daß der Ratinbacillus nicht vom *B. enteritidis* Gärtner zu unterscheiden sei.

Bongert (6) weist darauf hin, daß nach Lenz der Gärtnerische Enteritisbacillus mit dem Ratinbacillus, sowie mit den rattenpathogenen Bacillen von Danysz und Issatschenko identisch sein soll und hält beim Auslegen von Kulturen zur Tilgung von Ratten und Mäusen die größte Vorsicht für geboten.

Bahr (1) gelang es, die Ratin-Danysz- und Issatschenko-Bacillen von anderen Formen der Paratyphusbacillen zu unterscheiden.

Bahr, Raebiger und Grosso (2) stimmen darin überein, der Ratinbacillus sei kulturell und serologisch vom *B. paratyphosus* B und dem *B. enteritidis* Gärtner zu unterscheiden, und vertreten nach ihren Versuchen die Ansicht, man sei nicht berechtigt, den Ratinbacillus mit dem Gärtner-Bacillus gänzlich zu identifizieren, da die unter dem Namen „*Bacillus enteritidis* Gärtner-Kulturen“ von den Instituten versandten Stämme und die Original-*Bacillus enteritidis* Gärtner-Kulturen nicht übereinstimmten. Sie kommen nach Prüfung einiger *B. enteritidis* Gärtner-Stämme im Vergleich mit dem Ratinbacillus zu den hier genannten Schlußfolgerungen:

1) In „bernsteinsaurer Ammoniak-Cibilsasche Lösung ohne zuckerhaltige Energiequelle“ wächst *B. enteritidis* Gärtner nicht im Gegensatz zum *B. paratyphosus* B und dem Ratinbacillus.

2) *B. enteritidis* Gärtner kann Arabinose, im Gegensatz zu *B. paratyphosus* B und dem Ratinbacillus, nicht vergären.

3) Der Ratinbacillus kann Traubensäure spalten; *B. paratyphosus* B und *B. enteritidis* Gärtner können dies nicht.

4) Im Gegensatz zu *B. paratyphosus* B und *B. enteritidis* Gärtner bildet der Ratinbacillus auf Coffeinagar keine Fäden.

Im Nachtrag wird Punkt 1 und 2 dahin abgeändert, daß ein später geprüfter Enteritisstamm in bernsteinsaurer Ammoniak-Cibilsascher Lösung wuchs und Arabinose vergären konnte.

Heuser (31) hingegen weist darauf hin, daß die von Bahr, Raebiger und Grosso angegebenen Differenzierungsmöglichkeiten noch einer Bestätigung bedürften. Nach seiner Ansicht sind *B. ratti* Danysz, *B. ratti* Issatschenko und andere nur durch die Agglutination von den Bakterien der Hogcholeragruppe zu trennen.

Grimm (28) vertritt die Ansicht, der Ratinbacillus habe nichts gemein mit den von Danysz und Issatschenko gefundenen Bacillen.

Nach Wiener (69) gehören die mäuse- und rattenpathogenen Mikroorganismen einer morphologisch einheitlichen Art an; alle übrigen für die Differenzierung charakteristisch angesehenen Merkmale seien variabel und durch die veränderten Lebensbedingungen beeinflußt.

Nach Berücksichtigung all dieser verschiedenen, teils sich widersprechenden Anschauungen stellte sich mir die Frage entgegen: Sind die Rattenbacillen als Gruppe oder ein einzelner unter ihnen auf Grund

morphologischer und kultureller Eigenschaften oder durch die Agglutination von anderen Gliedern der Paratyphusgruppe, vor allem von *B. enteritidis* Gärtner und vom *B. paratyphosus* B zu trennen?

II. Eigene Versuche.

Zur Lösung dieser Frage untersuchte ich die 4 Rattenbacillen, 2 Enteritis Gärtner-, 2 Paratyphus-B- und einige andere Stämme der Coli-Typhusgruppe als Vergleichsglieder, vor allem auf ihre kulturellen und die durch die Agglutination sich ergebenden Unterschiede¹⁾.

Die zu den folgenden Versuchen verwendeten Bakterien haben nachstehende Herkunft und Bezeichnung:

1 *Bacillus enteritidis* Gärtner-Stamm aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt = Eg.

1 *B. enteritidis* Gärtner-Stamm aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin = Ei.

1 *B. paratyphosus*-B-Stamm aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt = Pg.

1 *B. paratyphosus*-B-Stamm aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin = Pl.

1 *B. ratti* Danysz-Stamm, Abkömmling von dem von Danysz 1900 bei einer spontanen Epidemie der Feldmäuse isolierten *Bacillus*, den Danysz mittels Passage durch Kollodiumsäckchen, die in die Bauchhöhle von Ratten eingenäht wurden, für graue Ratten virulent gemacht hatte. Bezeichnung: Da.

1 *B. ratti* Dunbar-Stamm, Abkömmling von dem von Dunbar 1904 bei einer Senche der Laboratoriumsratten erhaltenen, im bakteriologischen Institut zu Hamburg weiter gezüchteten *Bacillus*. Bezeichnung: Du.

1 *B. ratti* Issatschenko-Stamm, Abkömmling von dem von Issatschenko 1898 aus grauen Ratten erhaltenen, durch Eierpassage in der Virulenz gesteigerten *Bacillus*. Bezeichnung: I.

1 *B. ratti* Neumann-Stamm (*Ratinbacillus*), Abkömmling von dem von Neumann 1903 aus der Blase eines an Cystitis erkrankten Kindes durch Impfung von Ratten in der Virulenz für Ratten gesteigerten *Bacillus*, der mir für wissenschaftliche Untersuchungen vom Leiter des bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen überlassen wurde. Bezeichnung: N¹⁾.

Weiterhin verwendete ich zur Vervollständigung je einen vom Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin erhaltenen

Coli-Stamm = C,

Suipestifer-Stamm = S und

*Typhus*stamm = T.

Ich hatte demnach 11 Bakterienstämme zur Verfügung, die ich, um den Gang der folgenden Untersuchung möglichst einheitlich zu gestalten, unter gleichen Bedingungen züchtete. Die anfangs öfter auf Agar überimpften Kulturen wurden später nur mehr einmonatlich auf 3 Serien neuer, leicht alkalischer Schrägagarröhrchen übertragen, von denen eine

1) Betreffs der mehr oder minder anerkannten morphologischen, kulturellen und serologischen Haupteigenschaften der im folgenden behandelten Bakterien sei auf die Literatur verwiesen und zwar im allgemeinen auf Heim (29), Kitt (37), Flügge (21), Bongert (6); im einzelnen auf Escherich und Pfaundler (19) für *Bacterium coli*; auf Poppe (53), Joest (33), Langkau (43) für *Bac. suipestifer*; auf Neufeld (50) für Typhus; auf van Ermengem (18), Gärtner (24), Langkau (43) für *Bac. enteritidis* Gärtner; auf Kutscher (41), Korte (40), Schottmüller (56, 57), Langkau (43) für *Bac. paratyphosus* B; auf Mühlens, Dahm und Fürst (49) für alle Rattenbacillen; auf Bahr (1), Danysz (13), Wiener (68) für *Bac. ratti* Danysz; auf Bahr (1), Bahr, Raebiger und Grosso (2), Xylander (71-73) für *Bac. ratti* Neumann; auf Trautmann (64) für *Bac. ratti* Dunbar, auf Bahr (1), Issatschenko (34, 35) für *Bac. ratti* Issatschenko.

2) Für das freundliche Entgegenkommen von seiten der obengenannten Institute und Herren, die mir in lebenswürdigster Weise die zur Arbeit nötigen Bakterien und Sera zukommen ließen, erlaube ich mir, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Serie und ihre Abkömmlinge zur Verwendung gelangten, während die zweite Serie zur Fortzuchtung des Stammes diente. Die 3. Serie von Kulturröhrchen war als Reserve gedacht.

Die Versuche führte ich stets mit allen 11 Kulturen gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen, mindestens 2mal, aus und wiederholte sie in fraglichen oder strittigen Fällen.

Morphologie.

Die Bakterien aller Versuchsstämme färbten sich mit den gebräuchlichen Farbstoffen gut; am besten bei 3 Minuten dauernder Färbung in Loeffler-Blau, schneller mit Karbolfuchsin und Karbolgentianviolett. Die Form der Bakterien schwankte zwischen eiähnlichen, kurzen Gebilden und an den Ecken abgerundeten 0,2—0,5 μ langen Stäbchen. Am reichsten an verschiedenen Formen war die Coli-Kultur; Typhus blieb am konstantesten und zeigte immer ziemlich schlanke Kurzstäbchen, während in der Paratyphusgruppe Pi, Pg und Da zuweilen eine längere Form der Stäbchen erkennen ließen. Polfärbung zeigten bei der Färbung mit Loeffler-Blau in verschiedenem Grade, aber ohne eine bezeichnende Beständigkeit alle Paratyphusbacillen. Im hängenden Tropfen, von einer 12—24-stündigen Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung beobachtete ich alle Bakterien in lebhafter Eigenbewegung.

Kulturversuche.

Die Bereitung der Nährböden und ihre Beimpfung erfolgte nach Heim (29), sofern nicht anderweitige Angaben in Betracht kamen. Die Reaktion der Nährböden war leicht alkalisch, da sich diese für das Wachstum dieser Gruppe besonders geeignet zeigte. Die Beimpfung wurde je nach der Art des Nährbodens nach den gebräuchlichsten Methoden in Oberflächen- oder Verdünnungskultur vorgenommen. Die Züchtung geschah bei 37° C bzw. für Gelatine bei Zimmertemperatur. Die Dauer der Versuche betrug in der Regel 10 Tage, bei Milch 1 Monat. Die Beobachtung erstreckte sich einerseits auf die Art und den Grad des Wachstums, andererseits auf die Fähigkeit, den Nährboden zu verändern.

Die gebräuchlichsten Nährböden.

1. Pepton-Kochsalzfleischwasser (Nährbouillon).

Die fertige Nährlösung hatte leicht alkalische Reaktion zwischen Lackmusneutralpunkt und Phenolphthaleinpunkt und ein klar goldgelbes Aussehen. Wachstum: 12 Stunden nach erfolgter Beimpfung war der Nährboden durch alle Versuchsstämme leicht, nach 24 Stunden stärker gleichmäßig getrübt. Bei den Rattenbacillen, insbesondere sehr deutlich beim Ratinbacillus, lag am Boden des Röhrchens ein dicker Niederschlag in einer Höhe von $\frac{1}{2}$ cm. Später trat auch bei anderen Stämmen mit zunehmender Aufhellung des oberen Teils der Nährlösung diese Kuppenbildung, wenn auch nie so deutlich, wie bei den Rattenbacillen auf. Letztere bewiesen somit eine besonders günstige Entwicklungsfähigkeit in dieser Nährlösung. Ein Kahmhäutchen zeigten schon nach 24 Stunden alle Stämme mit Ausnahme von T und Pg. Die wiederholte, ja oftmalige Beobachtung dieser Erscheinung spricht gegen eine von der Bakterienart unabhängige Oxydationswirkung, als deren Produkt das Kahmhäutchen früher angesehen wurde. Bei der mikroskopischen Untersuchung desselben fand ich kristallähnliche, stark lichtbrechende Körnchen, Bakterien und strukturlose Hautteile. Das Fehlen des Kahmhäutchens schien mir für den T- und Pg-

Stamm bezeichnend; als Gruppendiagnostikum konnte ich das Kahlhäutchen nach der Art seines Auftretens nicht verwenden. Poppe (53) hält es als das Produkt des Sauerstoffhungers für nicht differentialdiagnostisch verwertbar¹⁾).

2. Plattenagar-Oberflächenkultur.

Der in ungefähr 2 mm dicker Schicht unter möglichster Wahrung der Sterilität auf Petri-Schalen ausgegossene Nährboden wurde über Nacht im Brutschrank von dem beim Abkühlen entstandenen Kondenswasser befreit und dann beimpft. Zu diesem Zwecke wurde 1 Normalöse = 2 mmg einer frischen Agarkultur in 20 ccm einer sterilen 0,8-proz. physiologischen Kochsalzlösung und dann von dieser Verdünnung 1 Oese auf den abgeglühten, abgekühlten Drigalski-Spatel gebracht und damit eine oder mehrere Platten hintereinander bestrichen.

Wachstum: Nach 24 Stunden zeigten sich auf der Oberfläche aller Platten in verschiedener Menge 1—2 mm große Kolonien von weißlichem Aussehen. Sie waren schwach durchscheinend, an einzelnen Stellen zu größeren Inseln verwachsen, von samtartigem Glanz. Die Kolonien ließen sich leicht von der Oberfläche abheben. Bei schwacher Vergrößerung im durchfallenden Licht betrachtet, zeigten die kleinen Kolonien ein gelbbraunes, fein gekörntes Aussehen mit einem mittelständigen ovalen Nabel; die größeren Kolonien waren im äußeren Teil heller, zeigten im inneren das Aussehen einer kleinen Kolonie. An den folgenden Tagen vergrößerten sich die einzelnen Kolonien bis zu 4—5 mm Durchmesser, wobei betreffs der Ueppigkeit des Wachstums bei den verschiedenen Versuchsstämmen keine Unterschiede hervortraten. Alle Paratyphusstämmen, nicht so klar C und T, wiesen bald eine deutliche Lappung des Randes auf, wenn nach einigen Tagen die Kolonien zu einem Kulturrasen zusammengewachsen waren.

3. Plattenagar-Verdünnungskultur.

Der in Röhrrchen zu je 10 ccm gefüllte Agar wurde auf 45° C im Wasser abgekühlt und dann je 3 Röhrrchen auf nachstehende Weise mit den Bakterien eines Versuchsstammes beimpft: In Röhrrchen 1 wurde 1 Oese Agarkultur verschüttelt, von dieser Verdünnung 3 Oesen auf das 2. Röhrrchen übertragen und von dieser Verdünnung wieder 6 Oesen in das 3. Röhrrchen gebracht. Die noch flüssigen 3 Kulturverdünnungen wurden in Petri-Schalen gegossen und nach dem Erstarren — Deckel nach unten — in den Brutschrank gestellt.

Wachstum: Das Oberflächenwachstum nach 24 Stunden war, wie das bei der Strichkultur beobachtete. In der Tiefe zeigten sich kleine punktförmige, weiße Kolonien, die sich weiterhin nicht veränderten.

4. Röhrrchen-Schrägagar.

Auf die schräg erstarrten Agarröhrrchen, die auch zur Stammzüchtung Verwendung fanden, wurden die Bakterien mittels einer abgeglühten Platinöse in geschlängelter Linie übertragen.

Wachstum: Nach 12 Stunden war ein schwacher, durchsichtiger Belag, nach 24 Stunden im unteren Teil ein breiterer, im oberen Teil ein schmaler Kulturstreifen zu beobachten. Das Wachstum schien bei *Coli* und den Rattenbacillen etwas üppiger zu sein, als bei den andern Versuchsstämmen; bei Typhus blieb es etwas hinter dem der anderen

1) Vgl. auch Peptonwasserversuche.

zurück. Alle Paratyphuskolonien wiesen eine deutliche, Coli eine geringe, Typhus eine sehr undeutliche Lappung auf, die im Laufe der folgenden Tage sich noch mehr ausprägte. Die im Kondenswasser gewachsenen Bakterien senkten sich schon am ersten Tage als weißlicher Niederschlag zu Boden. Häutchenbildung trat in verschiedenen Zusammenstellungen ohne Gleichmäßigkeit auf. Bei alten, oft aber auch schon 2-tägigen Kulturen zeigten sich in der Agarschicht längs des Kulturstreifens punkt- oder strahlenförmige farblose Gebilde. Nach Heim (29) handelt es sich hierbei um eine durch nicht näher bekannte chemische Veränderungen zutage tretende Kristallbildung, bei der sich etwas für bestimmte Arten Charakteristisches nicht ersehen läßt.

5. Röhrrchen-Stichagar.

Das Wachstum zeigte sich nach 24 Stunden in einem oben verdickten, unten immer dünner werdenden weißen Faden. Da oben an der Stichöffnung das Wachstum ziemlich üppig einsetzte, so zeigte sich bald die typische Nagelform. Später wurde das Bild noch deutlicher und der erst am Eingang des Impfstiches gewachsene Rasen verbreitete sich bis zum Rande des Röhrrchens. Durch das an der Oberfläche starke, aber auch in der Tiefe nicht fehlende, bei allen Stämmen gleiches Wachstum bekunden sich die untersuchten Bakterien als fakultative Aërobier bzw. fakultative Anaërobier.

6. Schräggelatine.

Die in schräger Lage erstarrten Röhrrchennährböden wurden mit den Versuchsstämmen, wie bei Versuch 4 beimpft und in einem dunklen Raum bei Zimmertemperatur der Entwicklung überlassen.

Versuchsergebnis: Beim 1. Versuche zeigte sich nach 24 Stunden bei allen Kulturröhrrchen ein sehr schwaches, kaum wahrnehmbares Wachstum in Form von kleinen punktförmigen Kolonien, die nach 48 Stunden als weißlich graue, samtartig glänzende Impfstreifen deutlich sichtbar wurden. Gleichzeitig wurde die Oberfläche der Gelatine schleimig und die Kulturen rutschten auf der sonst festen Gelatine ab. Diese Erscheinung wurde auch von anderen Autoren beobachtet. So sahen sie Conradi, v. Drigalski und Jürgens (16), sowie B. Fischer (20) als charakteristisch für Paratyphus B an, während sie nach Schottmüller (58), Trautmann (63), Bonhoff (8) und Lentz (47) keine konstante Eigenschaft sämtlicher Paratyphusstämmen ist. Da die Erscheinung bei meinem Versuche nur einmal, und zwar bei allen Gliedern der Coli-Typhusgruppe gleichzeitig auftrat, bei weiteren, wiederholten Versuchen aber nicht mehr zu erzielen war, kommt sie als Kulturmerkmal nicht in Betracht; keineswegs aber kann ich das Herabgleiten der Kulturen auf Gelatine als der Paratyphus- oder Paratyphus-B-Gruppe eigen anerkennen, da diese Eigenschaft nicht nur allen Paratyphusbakterien, sondern auch dem Coli- und -Typhusbacillus zukam. Bei den folgenden Versuchen erschienen nach 24 Stunden längs des Impfstiches kleine grauweiße Punkte, die nach 48 Stunden zu einem zarten, grauweiß durchscheinenden, samtartig glänzenden Rasen zusammengewachsen waren. C und N zeigten etwas üppigeres, T schwächeres Wachstum, wie die anderen Versuchsstämme, bei denen ich im übrigen keine weiteren Unterschiede wahrnehmen konnte. Das Bild blieb bis zum 10. Tage und länger bestehen. Eine Verflüssigung oder Abgleiten der Kulturen fand nicht statt.

7. Peptonwasser.

Das Wachstum aller Bakterien nach 24 Stunden zeigte sich in einer diffusen Trübung. Bei T und Pg begann bereits eine flockige Senkung, die unter Aufhellen der oberen Flüssigkeit an den nächsten Tagen noch deutlicher sichtbar wurde. Bei den anderen Stämmen trat diese Erscheinung nicht auf. Die von Bahr, Raebiger und Grosso (2) entdeckten Unterschiede betreffs einer Häutchenbildung konnte ich wohl beobachten, aber in anderer Zusammenstellung und ohne eine für die jetzt übliche Gruppierung charakteristische Regelmäßigkeit. Bahr, Raebiger und Grosso (2) fanden nämlich beim Ratinbacillus Häutchen, die beim Schütteln in Stücken zu Boden fielen, bei Bacillus paratyphosus B netzartige Häutchen, die beim Schütteln oben blieben, d. h. sich der Wand des Röhrchens anschmiegen, während die auf ihnen liegenden Körnchen herabfielen; Bacillus enteritidis Gärtner zeigte zarte Häutchen, die in Stücken zu Boden fielen. Bei meinen Versuchen konnte ich am 1. Tage bei C, T, Ei, Eg und Pg kein Häutchen nachweisen, hingegen zeigte sich bei der Rattengruppe, bei Sp und Pi ein sehr dünnes; am 2. Tage fand ich Häutchen mit körnigen farblosen Körperchen bei C, S, Pi, Da, Du, I und 1 Tag später auch bei N. Die ziemlich kräftigen Häutchen fielen mit den Körnchen in Stücken zu Boden, während das dünnere Häutchen von N nach Abfallen der Körnchen der Kapillaranziehung folgend am Glas emporkroch. Eg, Ei, T und Pg zeigten auch später keine Häutchen. Eg und Ei blieben gleichmäßig trüb, während T und Pg oben aufhellen. Für die Differentialdiagnose sind jedoch diese Kennzeichen zu unbedeutend und vor allem in der Beurteilung wohl mannigfachen Zweifeln ausgesetzt.

Die Indolprobe wurde in 4—5 Tage alten Peptonwasserkulturen:

- 1) als Nitrosoindolreaktion nach Heim (29),
- 2) mit den Ehrlichschen Präparaten¹⁾ vorgenommen.

Ad 1: In eine 4—5 Tage alte Peptonwasserkultur des Versuchstammes wurden 1 ccm einer 0,02-proz. Kaliumnitritlösung und einige Tropfen reiner Schwefelsäure gegeben. Eine sich zeigende Rotfärbung der Flüssigkeit wurde durch Ausschütteln mit etwa 1 ccm Amylalkohol, in den der Farbstoff dann überging, als rote positive Nitrosoindolreaktion diagnostiziert. Bei der auf diese Weise ausgeführten Prüfung auf Indolbildung reagierte nur Bacterium coli positiv, während das Ergebnis bei allen anderen Stämmen ein negatives war.

Ad 2: Das gleiche Ergebnis lieferten die mit den fertig bei Gröbler & Co. hergestellten Ehrlichschen Präparaten¹⁾ angestellten Versuche.

8. Kartoffelscheiben v. Esmarch.

Die gereinigten, geschälten und in Scheiben geschnittenen Kartoffel wurden in Petri-Schalen sterilisiert und dann beimpft.

Das Wachstum zeigte sich nach 24 Stunden bei allen untersuchten Bakterien in einem dünnen, graugelb glänzenden Belag, der nach mehreren Tagen üppig wachsend ein braungelbes Aussehen annahm.

- 1)

| | |
|---|-------|
| Indolreaktion Ehrlich I = Lösung A. | |
| Paradimethylamidobenzaldehyd | 4,0 |
| 96-proz. Alkohol | 380,0 |
| Konzentrierte Salzsäure | 80,0 |
| Indolreaktion Ehrlich II = Lösung B. | |
| Kaliumpersulfat in gesättigter wässriger Lösung (als Oxydationsmittel). | |

9. Blutagar.

Einem, wie üblich zubereiteten, auf 50° C abgekühlten, noch flüssigen Agar wurde aus der Oberschenkelvene eines Kaninchens so viel Blut steril zugeführt, bis der Agar eine kräftig rote Farbe angenommen hatte (d. i. ungefähr 50,0 Blut auf 200,0 Agar). Der noch warme Nährboden wurde dann in Petri-Schalen gegossen und wie bei Kulturversuch 2 mittels Drigalski-Spatels beimpft.

Versuchsergebnis: Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank zeigten alle Versuchsstämme ein gleichmäßig üppiges Wachstum, wie auf gewöhnlichem Agar. Hämolyse trat nicht ein, jedoch zeigten alle Schalen (die Vergleichsschalen mit inbegriffen) eine geringe Veränderung des leuchtenden Rotes durch eine graubraune Farbbeimischung, die später einen bräunlichen Ton annahm. Diese Beobachtung findet sich auch bei Langkau (43), Schottmüller (56) und Kutscher (41) und ist nach Poppe (53) auf eine Reduktion des Blutfarbstoffes zu Methämoglobin zurückzuführen.

10. Milch.

Die Milch wurde steril dem Euter einer Kuh entnommen, durch leicht gelegte Watte filtriert und 1 Stunde bei 100° sterilisiert. Die Reaktion war amphoter.

Versuchsergebnis: Nach 2-tägigem Verweilen im Brutschrank (zuweilen auch erst nach 2—4 Tagen) zeigte das Röhrchen mit Bact. coli Gerinnung, während die anderen Röhrchen mindestens bis zum 12. Tage unverändert blieben. Von dieser Zeit ab begann bei allen Paratyphusstämmen ohne besonders erkennbare zeitliche Unterschiede eine Aufhellung, die bei Typhus auch späterhin ausblieb. Zu bemerken ist, daß bei 2 Versuchen Bact. coli selbst während der langen Beobachtungszeit von einem Monat die Milch nicht zur Gerinnung brachte.

11. Lackmusmolke.

Dieser Nährboden wurde fertig nach Kubel-Tiemann von Kahlbaum bezogen, in Röhrchen gefüllt und an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 Minuten bei 100° C ohne Dampfdruck in siedendem Wasser sterilisiert.

Versuchsergebnis: 12 Stunden nach der Beimpfung waren alle Versuchsröhrchen rot, das Coli-Röhrchen hellrot gefärbt. Nach 24 Stunden war letzteres leuchtend hellrot und trübe, das Typhusröhrchen karminweinrot, klar mit einem leichten Stich ins Blaue. S, Eg und alle Rattenbacillenkulturen waren bereits blau, während diese Umwandlung bei Pi 1 Tag später, bei Ei 3 Tage später und bei Pg oft erst am 5. und 6. Tage über den Farbton weinrot-blaurot eintrat. Die beigefügte Tafel soll die gefundenen Ergebnisse vor Augen bringen.

Tafel zu Lackmusmolkeversuch.

| Zeit | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|-----------|-------|----|----|-----|----|-----|-----|----|----|----|----|
| 12 Stund. | hr | r | r | r | r | r | r | r | r | r | r |
| 1 Tag | hr tr | bl | wr | blr | bl | blr | blr | bl | bl | bl | bl |
| 2 Tage | | | | blr | | bl | blr | | | | |
| 3 " | | | | blr | | | blr | | | | |
| 4 " | | | | bl | | | blr | | | | |
| 5 " | | | | | | | bl | | | | |

Wortabkürzungen: rot = r, hellrot = hr, weinrot = wr, blau = bl, blaurot = blr, trübe = tr.

In den gefundenen zeitlichen Verschiedenheiten lassen sich wohl Merkmale für den zurzeit untersuchten Stamm, indes nicht für die zu ihm gehörige Gruppe erkennen. Sie geben uns ein Bild der Reaktionsstärke der betreffenden Bakterien. C reagierte alleinstehend mit roter Färbung. S, Eg und die Rattenbacillen gelangten sehr rasch über blaurot zur Blaufärbung, Ei und Pi langsamer. Pg blieb lange blaurotweinrot, T andauernd. Es ergibt sich also bei näherem Eingehen auf die Reaktionsstärke folgende Uebersicht über die untersuchten Bakterien:

C—S, Eg, Da, Du, J, N—Ei, Pi—Pg—T,

eine Anordnung, die in ähnlicher Weise sich auch bei anderen Versuchen teilweise bestätigt. Auffallend ist des öfteren das ähnliche Verhalten von Eg und den Rattenbacillen, von Ei und Pi, zu denen sich meist noch S gesellt und besonders die Aehnlichkeit von Pg und T.

12. Fuchsinagar nach Endo (17).

Der selbst hergestellte Nährboden wurde im dunkeln Kühlraum in Kulturröhrchen zu je 10 ccm aufbewahrt und zum Gebrauch verflüssigt. Der im heißen Zustande kräftig rot gefärbte Agar hatte nach der Abkühlung eine blaßrosarote Färbung. Nachdem ich ihn auf sterile Petri-Schalen gegossen und, wie bei Kulturversuch 2 getrocknet und beimpft hatte, zeigte sich nach 24 Stunden folgendes Bild:

Bacterium coli war in kleinen 1—1,5 mm großen, leuchtend dunkelroten Kolonien, die von der Seite gesehen einen starken grünen Glanz [Fuchsinkristalle nach Endo (19)] aufwiesen, gewachsen. Der Nährboden selbst hatte erst um die Kolonien, dann auch im weiteren Umkreise eine dunkle, tiefrote Färbung angenommen. Typhus, Paratyphus B, Enteritis und die Rattenbacillen wuchsen in 1—3 mm großen, hellrosaroten Kolonien, die nur in der Mitte eine leichte Rötung zeigten. Die genannten Bakterien ließen den Boden (abgesehen von der auch bei der Vergleichsschale beim Verweilen im Brutschrank auftretenden leichten Verdichtung der rötlichen Färbung durch Verdunsten) unverändert. Der Herfordschen Ansicht (30), daß Paratyphus B nach 16 Stunden doppelt so groß, wie Typhus, und Enteritis Gärtner größer als Typhus wachse und so eine deutliche Unterscheidung möglich sei, kann ich nur so weit beipflichten, daß Typhus tatsächlich etwas weniger üppig zu wachsen schien. Einen sichtbaren Unterschied aber in der Ueppigkeit des Wachstums innerhalb der Paratyphusgruppe konnte ich trotz der wiederholten Versuche nicht feststellen. An den folgenden Tagen wuchsen die Kolonien langsam weiter, ohne jedoch die deutliche Lappchenbildung, wie bei gewöhnlichem Agar zu zeigen.

13. Kristallviolett-Lackmus-Laktoseagar nach v. Drigalski und Conradi (15).

Der Nährboden wurde in ungefähr 5 mm dicker Schicht in Petri-Schalen gegossen, wie bei Kulturversuch 2 getrocknet und mittels Drigalski-Spatels beimpft.

Versuchsergebnis: C zeigte nach 24 Stunden rote Kolonien, die den Nährboden in ihrer Umgebung rot färbten. Die Größe der Kolonien überstieg den Durchmesser von 1,5 mm auch während der folgenden Tage nicht. Eine spätere Blaufärbung der Coli-Platten, wie sie v. Drigalski und Conradi (15) angeben und damit erklären, daß nach Erschöpfung des Kohlehydrats die Eiweißstoffe zerlegt werden und durch deren Abbauprodukte wiederum eine alkalische Reaktion und somit wieder Blaufärbung der Platte entstände, konnte ich nie feststellen.

Der Geruch dieser Platte war säuerlich. Typhus, Paratyphus B, Enteritis und die Rattenbacillen wuchsen nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank als 1—3 mm im Durchmesser große, weiß-bläuliche, glasig-tautropfenähnliche Kolonien, die den Nährboden anfangs nicht veränderten. Erst an den folgenden Tagen zeigte sich eine von den Kolonien ausgehende, sich langsam ausbreitende Blaufärbung des Nährbodens, der dann alkalische Reaktion zeigte. Alle Paratyphuskolonien, in geringerem Grade auch die Typhuskolonie zeigten am Rande unregelmäßige, nicht so stark, wie bei gewöhnlichem Agar hervortretende Lappchenbildung. Das Wachstum dieser Kolonien, abgesehen von der T-Kultur, erschien üppiger, als auf gewöhnlichem Agar. Ein Unterschied der Art oder Größe zwischen dem Wachstum der einzelnen Paratyphusbakterien war nicht zu erkennen.

Drei Nährböden mit weich gallertigem, 0,3—0,5-proz. Agar für Stichkulturen nach Oldecop (52) und Buchholz (12).

Der von Rothberger (55) empfohlene Neutralrotagar wurde von Oldecop (52) behufs rascherer Darstellung der Unterschiede zwischen Typhus und anderen Gliedern der Coli-Typhusgruppe in geringerer Agarkonzentration zur Verwendung gebracht. Seinem Beispiel folgte Buchholz (12) mit der Ausdehnung dieses Prinzips auf andere Farbnährböden, von denen hier der Orcein- und Malachitgrünagar zur Verwendung kamen.

14. Neutralrotagar nach Oldecop (52).

Die Bereitung erfolgte nach Oldecop (52): Es wurden 500,0 Aqu. dest. 5,0 Liebigs Fleischextrakt, 2,5 Kochsalz und 10,0 g Pepton siccum Witte gemischt, die Mischung mit Sodalösung leicht alkalisch gemacht. Nach 1-stündigem Kochen im Dampftopf bei 100° wurde filtriert und die etwas geschwächte alkalische Reaktion mit Sodalösung wieder hergestellt. Nach Hinzufügung von 0,5 Proz. = 2,5 g Agar wurde nochmals 1 Stunde gekocht und der noch warmen Nährflüssigkeit 5 ccm einer in Wasser gesättigten (d. i. ungefähr 10-proz.) Neutralrotlösung und 0,75 g Glykose zugesetzt. Die von Oldecop (52) vorgeschlagene Anwendung von 0,3-proz. Agar (Stangenagar) genügte bei meinen Versuchen nicht, um der ganzen Masse, selbst bei sehr langsamer Abkühlung, eine einheitliche Konsistenz zu geben. Nach weiterem 2-stündigen Kochen im Dampftopf des in Röhrchen gefüllten Nährbodens wurde derselbe einer langsamen Abkühlung überlassen und dann als Stichkultur beimpft.

Versuchsergebnis: Coli, Paratyphus B, Suipestifer, Enteritis und die Rattenbacillen zeigten nach 24 Stunden ziemlich gleichmäßig ein gelbliches Fluoreszieren des Nährbodens mit am Rande aufsteigenden Gasblasen. Um den Sticheingang wuchs ein gelblich-weißer, üppiger Rasen, der bald den Rand des Reagensglases erreichte. Das gelbe Fluoreszieren des Nährbodens breitete sich an den folgenden Tagen weiter aus und nahm noch eine ins Grüne spielende Färbung an. Typhus wuchs längs des Impfstiches sehr schwach, um die Stichöffnung üppig als rosaroter Rasen; der Nährboden wurde nicht entfärbt, Gas nicht gebildet. Irgendwelche Unterschiede innerhalb der Paratyphusgruppe konnte ich nicht feststellen.

15. Orceinagar nach Buchholz (12).

Bereitung nach Buchholz (12) wie folgt: In einen, wie eben bei Kulturversuch 14 hergestellten, 0,5-proz. Agar wurden 5 Proz. einer mit 50-proz. Alkohol hergestellten, gesättigten (d. i. ungefähr 10-proz.) Orceinlösung gegeben. Der fertige, leicht alkalische Nährboden wurde, wie der vorige in StICKkultur beimpft.

Versuchsergebnis: Alle Kulturröhrchen außer Typhus zeigten schon nach 24 Stunden eine mehr oder minder starke, dem Impfstich gelbweiß folgende, unten deutlicher hervortretende Aufhellung, die in den nächsten Tagen oben wieder etwas zurückging, unten aber bestehen blieb. Nach den darunter liegenden Medien erschien der von der Stichoöffnung sich ausbreitende Kulturrasen gelblich bis rosarot, bei T ganz rosarot. Irgendwelche erkennbare Unterschiede zwischen den Paratyphusbakterien ergaben sich nicht.

16. Malachitgrünagar nach Buchholz (12).

Der Nährboden wurde entsprechend dem vorigen mit 5 Proz. einer 2-proz. Malachitgrünlösung (120 Höchst) in warmem destillierten Wasser hergestellt. In fertigem Zustande hatte er eine weich gallertige Beschaffenheit von klar grüner Farbe und leicht alkalischer Reaktion; er wurde wie der vorige beimpft.

Versuchsergebnis: Alle Versuchsstämme entfärbten den Nährboden vollständig. Die Rattenbacillen Eg und C hatten schon nach 24 Stunden eine reine Gelbfärbung des Nährbodens bewirkt, während die anderen Stämme erst am folgenden Tage, T erst nach 3—4 Tagen zur vollkommenen Entfärbung desselben führten. Die verschiedenen Versuche brachten nur geringe Abweichungen. Die besondere Reaktionsstärke der Rattenbacillen, des Eg- und C-Stammes wurden bei wiederholten Versuchen immer wieder festgestellt. Sie gibt ein ergänzendes Bild zur Uebersicht bei Kulturversuch 11.

Drei feste Malachitgrünnährböden und vier Malachitgrünlösungen.

Die von Loeffler (Heim 29) angegebenen, von Lentz und Tietz (45) abgeänderten Malachitgrünnährböden dienten ursprünglich der Anreicherung und Auffindung von Typhusbacillen aus dem an Coli-Bacillen reichen Stuhl von typhusverdächtigen Kranken. Sie sollen durch den Farbstoff die Coli-Bacillen möglichst zurückhalten, das Wachstum der Typhusbacillen dagegen begünstigen [Leuchs (46)]. Die Paratyphusbacillen unterscheiden sich vom Typhusbacillus durch eine rasch auftretende Aufhellung des Nährbodens. Beim *Bacterium coli* ist die Hemmungswirkung einerseits von der sehr unsicheren Fabrikmarke und der Konzentration des Malachitgrüns, andererseits von der mehr oder minder langen künstlichen Züchtung der Kultur abhängig. Daß *Bacterium coli* aber auch auf den üblichen Malachitgrünnährböden zuweilen sehr gut gedeiht, brachten Fürth (23) und Bonhoff (8) zur Kenntnis. Dieselbe Beobachtung ergaben auch die folgenden Versuche.

17. Malachitgrünfleischwasseragar, 3—5-proz. nach Loeffler.

Anwendung 3- und 5-proz. mit gleichem Ergebnis. Farbstoff: Malachitgrün 120 Höchst.

Versuchsergebnis: Auf dem an der Luft getrockneten, wie bei Kultur-

versuch 2 beimpften Nährboden waren nach 24 Stunden alle Versuchsstämme ziemlich kräftig, Typhus etwas spärlicher gewachsen und zeigten eine den Nährboden immer weiter ergreifende Aufhellung, d. i. Gelbfärbung. Diese war bei Coli und Paratyphus am 2. Tage vollständig, bei Typhus erst am 5.—6. Tage erreicht. Die Kolonien waren trüb, körnig weiß mit dem durchscheinenden Gelb des aufgehellten Nährbodens, in der Mitte etwas dunkler, aber ohne die beim gewöhnlichen Agar so deutliche Nabelbildung hervortreten zu lassen. Die Lappung der Paratyphusstämmen war deutlich zu sehen. Die Typhuskolonien blieben kleiner und schienen etwas durchsichtiger. Unterschiede in der Paratyphusgruppe ergaben sich nicht.

18. Malachitgrünwasseragar, 3—5-proz. nach Loeffler.

Die Versuche auf Malachitgrünagar ohne Fleischzusatz (Malachitgrün 120 Höchst) lieferten dasselbe Ergebnis, wie der vorige Kulturversuch.

19. Malachitgrünagar nach Lentz und Tietz (45).

Bereitung mit Malachitgrün I Höchst.

Versuchsergebnis: Auf dem in Petri-Schalen gegossenen, luftgetrockneten, leicht sauer reagierenden, wie bei Kulturversuch 2 beimpften Malachitgrünagar wuchsen alle Versuchsstämme ähnlich, wie auf dem Loefflerschen eben erwähnten Nährboden, nur war das Wachstum wohl wegen der sauren Reaktion des Bodens weniger üppig. Die Aufhellung um die etwas dunkelkörnigen Kolonien nahm bei allen Paratyphusbakterien und bei Bacterium coli 4—5 Tage in Anspruch und war bei allen Platten gleichzeitig auftretend; bei Typhus erfolgte sie erst nach 10—12 Tagen. Unterschiede innerhalb der Paratyphusgruppe ergaben sich nicht.

Vier Malachitgrünlösungen¹⁾.

Bei den mit diesen Lösungen angestellten Versuchen unterschied ich:
„Säuerung“ = ○, wenn das Grün der Nährflüssigkeit ohne Trübung in Gelb überging;

„Säuretrübung“ = △, wenn das Grün unter Trübung der Nährflüssigkeit in Gelb überging;

„Säurefällung“ = ◇ (zum Unterschied von echter Gerinnung), wenn die Säuretrübung sich senkte;

„Säuregerinnung“ = □, wenn unter Gelbwerden eine echte Gerinnung, d. h. eine Verklebung der festen Bestandteile eintrat, die auch beim Schütteln standhielt;

„Gasbildung“ = ■.

1) Wurden nach Heim (29) hergestellt und hatten folgende Zusammensetzungen:

| | | | |
|---------------------------|-----------------------------------|-------|-----------------|
| Malachitgrünlösung I. | Aqu. dest. | 100,0 | |
| | Pepton | 2,0 | |
| | Nutrose | 1,0 | |
| | Normalkalilauge | 1,06 | |
| | Milchzucker | 5,0 | |
| | Traubenzucker | 1,0 | |
| | Grünlösung | 3,0 | |
| (Malachitgrün 120 Höchst, | 2-proz. in sterilem destillierten | | Wasser gelöst). |
| Malachitgrünlösung II. | Aqu. dest. | 100,0 | |
| | Pepton | 2,0 | |
| | Nutrose | 1,0 | |
| | Normalkalilauge | 1,5 | |
| | Milchzucker | 5,0 | |
| | Grünlösung | 3,0 | |

20. Malachitgrünlösung I.

Von der fertigen Lösung wurden je 10 ccm in Gärungsröhrchen mit Einsatz (um eine gegebenenfalls auftretende Gasbildung beobachten zu können) gefüllt und an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 Minuten in kochendem Wasser sterilisiert, wobei das Einsatzröhrchen ganz von der Nährflüssigkeit ausgefüllt wurde.

Versuchsergebnis: 24 Stunden nach erfolgter Beimpfung zeigten alle Röhrchen, mit Ausnahme vom T-Röhrchen, „Säuretrübung mit Gasbildung“. Am nächsten Tage senkte sich die grüngelbe Masse unter Klärung der oberstehenden Flüssigkeit = „Säurefällung“. Das Typhusröhrchen zeigte am ersten und allen folgenden Tagen „Säuretrübung ohne Gasbildung“.

| Zeit | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|---------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| 24 Std. | ▲ | ▲ | △ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| 2 Tage | ◆ | ◆ | △ | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ |

Innerhalb der Paratyphusgruppe zeigten sich keine Unterschiede.

21. Malachitgrünlösung II.

Die Nährflüssigkeit wurde in Gärungskölbchen mit Einsatz gefüllt und wie beim vorigen Versuch behandelt. Die trüb grüne Flüssigkeit wurde mit den Versuchsstämmen beimpft.

Versuchsergebnis: Nach 24 Stunden hatte Coli die Lösung unter Gasbildung zur Gerinnung gebracht; die anderen Röhrchen zeigten noch keine Veränderung. An den folgenden Tagen beobachtete ich eine bei allen Versuchsstämmen zunehmende, schmutzig gelbgraue Verfärbung ohne Gasbildung, die bis zum 10. Beobachtungstage so bestehen blieb. C blieb, wie nach 24 Stunden beschrieben, das Vergleichsröhrchen unverändert. Unterschiede innerhalb der Paratyphusgruppe ergaben sich nicht.

| Zeit | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|--------|---|--------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| 1 Tag | ■ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 Tage | ■ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 3 „ | ■ | schmutzig-graugrüne Verfärbung | | | | | | | | | |

22. Malachitgrünlösung III.

Bereitung wie vorher.

Versuchsergebnis: Nach 24 Stunden zeigte nur Bacterium coli „Säuretrübung mit Gasbildung“, die nach weiteren 24 Stunden in eine

| | | |
|-------------------------|---|-------|
| Malachitgrünlösung III. | Aqu. dest. | 100,0 |
| | Nutrose | 1,0 |
| | Milchzucker | 2,0 |
| | Grünlösung | 5,0 |
| Malachitgrünlösung IV. | Fleischwasser mit Kalilauge neutralisiert | 100,0 |
| | Pepton | 2,0 |
| | Milchzucker | 5,0 |
| | Traubenzucker | 1,0 |
| | Natriumsulfat | 0,5 |
| | Kaliumnitrat | 2,0 |
| | Kaliumnitrit | 1,0 |
| | Grünlösung | 3,0 |

echte Gerinnung übergang. Alle anderen Versuchsstämme ließen die wenig trübe Nährlösung während der ganzen Beobachtungszeit unverändert. Unterschiede innerhalb der Paratyphusgruppe ergaben sich nicht.

| Zeit | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|---------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| 24 Std. | ▲ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 Tage | ■ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

23. Malachitgrünlösung IV.

Bereitung wie vorher. Die klar grüne Flüssigkeit wurde mit den Versuchsstämmen beimpft. Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank fanden sich keine wahrnehmbaren Veränderungen. Nach 2 Tagen waren alle Röhrrchen bis auf das Typhusröhrrchen gelblich gefärbt = „Säuerung“. Nach 3 Tagen nahm auch das T-Röhrrchen die Gelbfärbung an; die anderen Stämme zeigten inzwischen Trübung und Gasbildung. Nach 4 Tagen bildete auch T Gas und trübte die Flüssigkeit. Alle Kulturröhrrchen blieben bis zum 10. Tage der Beobachtung in dem oben geschilderten Zustand, das Vergleichsröhrrchen unverändert. Unterschiede innerhalb der Paratyphusgruppe ergaben sich nicht.

| Zeit | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|---------|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| 24 Std. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 Tage | ○ | ○ | — | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| 3 „ | ▲ | ▲ | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| 4 „ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |

24. Bernsteinsaure Ammoniak-Cibils-Aschelösung ohne zuckerhaltige Energiequelle.

Der Nährboden wurde nach einer mir von Bahr in liebenswürdigster Weise übersandten Anweisung hergestellt: 100—200 ccm Cibils-Fleischextrakt wurden im Wasserbad eingedickt, die zähe Masse dann im Schmelztiegel unter dem Abzugskamin verkohlt und verascht. Von der so erhaltenen weißgrauen Cibils-Asche nahm ich 3 g und löste sie durch 3-stündiges Kochen in einem Liter Leitungswasser. Nach wiederholtem Filtrieren durch Watte fügte ich 10 g bernsteinsaures Ammonium zu und neutralisierte mit verdünntem Ammoniak. Der neutrale, leicht opaleszierende Nährboden wurde in Röhrrchen gegossen und nach eingehender Sterilisation, bei welcher die Flüssigkeit ganz klar wurde, mit den Versuchsstämmen beimpft.

Versuchsergebnis: Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank zeigte sich bei allen Röhrrchen, mit Ausnahme von T und Pg, eine gut erkennbare Trübung. Die mikroskopische Untersuchung ergab einerseits in allen Kulturen Bakterienverklumpungen, andererseits überall eine ziemlich geringe Beweglichkeit der Bakterien. Bei T und Pg blieb die Anzahl der letzteren weit hinter den bei den anderen getrühten Röhrrchen beobachteten Mengen zurück. Das Vorhandensein von Bakterien bei diesen beiden Kulturen konnte nur mikroskopisch festgestellt werden und sie dürften wohl der eingebrachten Impfmenge entsprechen. Die Reaktion der dicht bewachsenen, getrühten Röhrrchen war leicht alkalisch geworden im Gegensatz zu den T- und Pg-Röhrrchen, bei denen die Reaktion neutral blieb. Gasbildung konnte bei mit Gärungsröhrrchen angestellten Versuchen nicht ermittelt werden. Die wiederholt angestellten Versuche gestatteten mir nicht, mich der Ansicht Bahr, Raebiger und

Grossos (2) anzuschließen, die bei Enteritis Gärtner überhaupt kein Wachstum, beim Ratinbacillus und Paratyphus B-Bacillus in diesem Nährboden erst Trübung, dann Aufklärung wahrnahmen.

In einer Nachtragserklärung berichten auch Bahr, Raebiger und Grosso (2) von einem Enteritis Gärtner-Stamm, der in bernsteinsaurer Ammoniak-Cibils-Aschelösung wuchs. Als differenzierend zeigte sich nur die Sonderstellung eines Paratyphusstammes Pg, die aber nicht allzu hoch zu bewerten ist. Da Pg sich auch bei anderen Versuchen auf die Seite von T stellte, ist wohl mit einer Sonderheit dieses Stammes zu rechnen. Bei allen anderen Bakterien der Paratyphusgruppe ergaben sich in dem genannten Nährboden nicht die geringsten Unterschiede. Auch bei Xyländer (73) verhielten sich die Enteritis Gärtner-, Paratyphus B- und die Rattenbacillen in diesem Hemmungsnährboden gleich.

25. Koffeinagar, 0,3-proz.

Einem, wie bei Kulturversuch 2 bereiteten, schwach alkalischen Agar wurden 0,3 Proz. Coffeinum purissimum Merck beigefügt, das ich vorher in 5 ccm destillierten Wassers unter Erwärmen im Wasserbad gelöst hatte. — Da ich bei stärkeren [0,6-proz., wie von Bahr, Raebiger und Grosso (2) angegeben] Konzentrationen überhaupt kein Wachstum und auf den hier erwähnten nur ein spärliches bekam, brachte ich auf den Drigalski-Spatel mehrere Oesen der sonst wie bei Kulturversuch 2 verwendeten Verdünnungen der Kulturen auf den in 2—3 mm dicker Schicht in Petri-Schalen gegossenen, im Brutschrank getrockneten Koffeinagar. Versuchsergebnis: Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank war das Wachstum sehr spärlich. Die Kolonien waren bis 1 mm groß, sehr durchscheinend und matt glänzend. Bei der mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen zeigten die Paratyphus B-Kulturen und der Danysz-Stamm noch eine geringe Eigenbeweglichkeit, die den anderen Bakterien fehlte, eine Beobachtung, die mit der Bahr, Raebiger und Grossos (2) insofern übereinstimmt, als diese nämlich fanden, daß die Beweglichkeit der auf Koffeinagar gewachsenen Ratin- und Enteritis Gärtner-Bacillen herabgesetzt, bei Paratyphus B hingegen unverändert ist. Anders verhielt es sich mit der Bildung von Fäden und Evolutionsformen, die als schlechte Entwicklungsformen der Bakterien infolge von ungünstigen Ernährungsverhältnissen angesehen werden müssen [Gotschlich (25, 26), Broll (9)]. Bahr, Raebiger und Grosso (2) fanden lange Fäden bei Paratyphus B und bei Enteritis Gärtner, hingegen keine Fäden beim Ratinbacillus, ferner Keulen-Evolutionsformen beim Ratin- und Enteritis Gärtner-Bacillus, hingegen nicht beim Paratyphus B-Bacillus. Ich untersuchte diese Verhältnisse teils im hängenden Tropfen, eingehender aber bei schonender Färbung mit Loeffler-Blau. Fäden beobachtete ich in allen Kulturen, fand sie aber bei beiden Paratyphus B-Stämmen und dem Danysz-Bacillus besonders zahlreich.

Die Beweglichkeit der Fäden war bei allen Kulturen sehr gering und als Molekularbewegung anzusehen. Der Ansicht, der Ratinbacillus bilde keine Fäden, kann ich nicht beistimmen. Auch Xyländer (73) findet hier zwischen Enteritis- und Ratinbacillus keine Unterschiede. Was die Keulenformen betrifft, die alle anderen Stämme außer Pi, Pg und Da und T aufweisen, stimmen meine Beobachtungen mit denen Bahr, Raebiger und Grossos (2) überein, die dieses Sonderverhalten

von Paratyphus B sogar als Diagnostikum dieser Gruppe im Gegensatz zum Ratinbacillus und zum Enteritis Gärtner-Bacillus verwenden. Einen Unterschied in der Ueppigkeit des Wachstums konnte ich nicht feststellen.

26. Mandelbaums Rosolsäureagar.

Wiederholt auf den nach Mandelbaum (48) bereiteten Glykose-Laktose-Glyzerin-Nährböden mit Rosolsäure als Indikator ausgeführte Versuche führten zu keinem die Unterscheidung der fraglichen Bacillen fördernden Ergebnis. Sie konnten nur zum Nachweis der Sonderstellung von C oder T verwendet werden, je nachdem Laktose oder Glyzerin (Sonderstellung von C) oder Glykose (Sonderstellung von T) in Anwendung kamen. Das grundlegende Prinzip, die Zersetzung von Kohlehydraten dem Auge sichtbar zu machen, erfuhr in den folgenden Versuchen eine weit günstigere Darstellung.

B. Zersetzung von Kohlehydraten.

Die Vergärung von Kohlehydraten wurde zuerst in den einfachen Traubenzuckernährböden (Fleischwasser und Agar) diagnostisch verwendet. Dann verbesserte Barsiekow (3) das für Unterscheidungsversuche zwischen Coli und Typhus wichtige Verfahren durch die Anwendung von Lackmusnutroselösungen, die den Reaktionswechsel der Nährflüssigkeit deutlich sichtbar machten. Es zeigte sich, daß Bact. coli im Gegensatz zu Bac. typhosus und allen Paratyphusarten Laktose vergären konnte, während umgekehrt der Typhusbacillus bei der Vergärung anderer Kohlehydrate, z. B. Glykose, im Gegensatz zu Coli und Paratyphusbacillen kein Gas bildete. Das Verfahren wurde bald auf möglichst viele Kohlehydrate ausgedehnt und zur Differenzierung auch innerhalb der Paratyphusgruppe unter anderm von Langkau (43) angewandt. Von Bahr (1) wurde es auf den Hinweis (32) Jensens auch auf einige organische Säuren übertragen. Nach Bahr, Raebiger und Grosso (2) soll innerhalb der Paratyphusgruppe ein von ihnen untersuchter Enteritis-Stamm nicht imstande gewesen sein, Arabinose zu vergären.

Bei der Zusammenstellung der zu vergärenden Kohlehydrate folgte ich der Aufstellung von Langkau (43) und nahm nach dem Vorgang von Bahr, Raebiger und Grosso (2) noch Adonit hinzu. Es ergab sich folgende Zusammenstellung:

| | | | | |
|---------------|----------------|--------------|------------|-----------------------|
| 1. Glykose | } Mono-Hexosen | 13. Glyzerin | 3- | } wertige Alkohole |
| 2. Fruktose | | 14. Erythrit | 4- | |
| 3. Sorbose | | 15. Adonit | 5- | |
| 4. Galaktose | | 16. Dulcit | 6- | |
| 5. Mannose | | 17. Mannit | 6- | |
| 6. Laktose | } Bio-Hexosen | 18. Sorbit | 6- | |
| 7. Saccharose | | 19. Xylose | } Pentosen | |
| 8. Maltose | | 20. Rhamnose | | |
| 9. Raffinose | 21. Arabinose | | | |
| 10. Glykogen | } Polyosen | | | |
| 11. Dextrin | | | | |
| 12. Inulin | | | | |

Alle Kohlehydrate wie die später folgenden organischen Säuren wurden von C. A. F. Kahlbaum, Lävulose von Schering bezogen.

Als Nährlösung zu den Gärungsversuchen verwendete ich Barsiekows (3) Lackmusnutroselösung, die ich nach Kolle und Hetschs (39) Angaben folgendermaßen herstellte: In eine aus 10,0 Nutrose, 5,0

Kochsalz und 1 l Leitungswasser bestehenden, 3 Stunden im Autoklaven gekochten und oft filtrierten Lösung brachte ich 50,0 Lackmuslösung von C. A. F. Kahlbaum, kochte sie nochmals 15 Minuten, filtrierte sie und sterilisierte sie abermals. Die so bereitete Nährlösung blieb bis zur Verwendung längere Zeit im Kühlraum. Zum Gebrauche brachte ich zu je 100 ccm der blauen, in der Durchsicht rötlich scheinenden, leicht alkalischen Lackmusnutroselösung 0,5 g des betreffenden Kohlehydrats, das ich vorher in möglichst wenig (d. i. ungefähr 5 ccm) destilliertem Wasser durch Erwärmen im Wasserbade gelöst hatte. Diese fertige Lösung füllte ich zu je 10 ccm in Gärungskölbchen, sterilisierte sie an je 2 aufeinanderfolgenden Tagen 10 Minuten in kochendem Wasser, wobei sich die Einsatzröhrchen ganz füllten und beimpfte sie an einem der darauffolgenden Tage. Die Kulturversuche wurden im Brutschrank bei 37° C ausgeführt und die Beobachtungen 24-stündlich aufgeschrieben. Die von Langkau (43) für Glykogen vorgeschriebene Vorsichtsmaßregel erwies sich nicht als unbedingt nötig.

Für die in der folgenden Tabelle angeführten Beobachtungen wurde der Tag, von welchem an keine weitere Veränderung mehr eintrat, als endgültig und bestimmend angesehen, als äußerste Grenze der Versuchszeit 10 Tage festgesetzt.

Die Bezeichnungen für die folgende, die Versuchsergebnisse darstellende Tafel seien:

— = keine Veränderung, ○ = Säuerung, △ = Säuretrübung, ◇ = Fällung der Säuretrübung, □ = echte Gerinnung, ■ = Gasbildung.

| Kohlehydrat | Tag | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|-------------|-----|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| Glykose | 2. | ▲ | ▲ | △ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Fruktose | 1. | ■ | ■ | ○ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Sorbose | 1. | ▲ | ▲ | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Galaktose | 1. | ▲ | ▲ | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Mannose | 1. | ▲ | ▲ | △ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Laktose | 2. | ■ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Saccharose | 2. | ■ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Maltose | 1. | ▲ | ▲ | △ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Raffinose | 10. | ▲ | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Glykogen | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Dextrin | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Inulin | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Glyzerin | 10. | ■ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Erythrit | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Adonit | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Dulcit | 5. | ● | ▲ | — | ▲ | ▲ | ● | ● | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Mannit | 1. | ▲ | ▲ | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Sorbit | 1. | ▲ | ▲ | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Xylose | 6. | ◆ | ◆ | ○ | ▲ | ◆ | ▲ | ● | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ |
| Rhamnose | 5. | ■ | ■ | — | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Arabinose | 2. | ■ | ■ | — | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ |

Versuchsergebnis: Für Unterscheidungen innerhalb der Paratyphusgruppe boten sich nach dieser Uebersicht recht wenig Anhaltspunkte. Die bekannten Unterschiede zwischen Coli, Typhus und Paratyphus seien hier nicht näher erörtert. Abgesehen von der auch hier (Xylose) wie früher (Lackmus, Cibils-Aschelösung) beobachteten Reaktionschwäche des einen Paratyphusstammes Pg läßt sich vielleicht nur die leichte Säuerung mit Gasbildung ohne Trübung in Dulcit als Gruppenreaktion für Paratyphus B auffassen, doch ist hierbei nicht zu vergessen, daß auch Bact. coli diese gleiche Reaktion ergab.

Die Zeitenfolge, in der die Bakterien die Reaktionen auslösten, stellt Eg und die Rattengruppe an erste Stelle, während C eine Sonderstellung einnimmt und T am spätesten oder gar nicht reagiert. Es ergibt sich danach folgendes Bild von der Gruppierung der angewandten Versuchsstämme, das auch mit der Uebersicht bei Kulturversuch 11 übereinstimmt:

C—Eg, Da, Du, I, N—S—Ei, Pi—Pg, T.

Als Beleg für diese Reaktionsstärkegruppierung seien hier die täglichen Beobachtungen von den Versuchen in Xylose und Dulcit im ganzen aufgeführt.

Dulcit.

| Tag | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|-----|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| 1. | ● | ● | — | ● | ● | ● | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| 2. | ● | ● | — | ● | ▲ | ● | ● | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| 3. | ● | ▲ | — | ● | ▲ | ● | ● | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| 4. | ● | ▲ | — | ▲ | ▲ | ● | ● | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| 5. | ● | ▲ | — | ▲ | ▲ | ● | ● | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |

Xylose.

| Tag | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|-----|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| 1. | ▲ | ▲ | — | ○ | ◆ | ▲ | ○ | ▲ | ◆ | ◆ | ▲ |
| 2. | ▲ | ▲ | — | ○ | ◆ | ▲ | ○ | ▲ | ◆ | ◆ | ▲ |
| 3. | ▲ | ▲ | — | ▲ | ◆ | ▲ | ○ | ▲ | ◆ | ◆ | ▲ |
| 4. | ▲ | ◆ | ○ | ▲ | ◆ | ▲ | ● | ◆ | ◆ | ◆ | ▲ |
| 5. | ◆ | ◆ | ○ | ▲ | ◆ | ▲ | ● | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ |
| 6. | ◆ | ◆ | ○ | ▲ | ◆ | ▲ | ● | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ |

Es fällt bei beiden Versuchen die starke Reaktion von Eg und den Rattenbacillen auf, die Bronstein (10) als „starke Säuerung“ bei seinen Untersuchungen über den Danysz-Bacillus als bezeichnend für den untersuchten Rattenbacillus und für Enteritis Gärtner gegenüber anderen Gliedern der Coli-Typhusgruppe auffaßt. Dulcit vermochte die beiden Enteritis Gärtner-Stämme, sowie Bac. suipestifer und die Rattenbacillen unter Säuretrübung mit Gasbildung zu vergären. Coli und Paratyphus B säuerten nur unter geringer Gasbildung. Dieser Befund wurde in ähnlicher Weise auch von Drigalski (14) angeführt, wonach Coli Dulcit unverändert läßt, Enteritis Gärtner ihn aber unter Säurebildung vergärt. Die von mir wiederholt mit demselben Ergebnis angestellten Versuche ergaben immer wieder, daß die Enteritis Gärtner-Bakterien mit der Rattengruppe und Bac. suipestifer gegenüber Bact. coli und Bac. paratyphosus B eine stärkere Reaktion, nämlich Säuretrübung mit Gasbildung, statt Säuerung mit Gasbildung aufwiesen. Auch in Xylose fällt die starke Reaktion der Rattenbacillen mit Eg auf, der S sehr nahe kommt. In beiden Fällen, bei Dulcit und Xylose, steht Pg sehr nahe T, einmal auch sehr nahe E. Diese Bakterien sind durch besondere Reaktionsschwäche gekennzeichnet.

Die Vergärung erfolgte stets von allen Paratyphusbacillen mit Gasbildung bei:

| | |
|------------|-----------|
| Glykose, | Dulcit, |
| Fruktose, | Mannit, |
| Sorbose, | Sorbit, |
| Galaktose, | Xylose, |
| Mannose, | Rhamnose, |
| Maltose, | Sorbose; |

ohne Gasbildung nur mit leichter Säurebildung bei:

Glyzerin;

und gar nicht bei:

| | |
|-------------|-----------|
| Laktose, | Dextrin, |
| Saccharose, | Inulin, |
| Raffinose, | Erythrit, |
| Glykogen, | Adonit. |

Im Gegensatz zu Bahr, Raebiger und Grosso (2) konnten meine Gärtner-Stämme Arabinose sogar mit echter Gerinnung vergären, wie ja auch die von denselben Verfassern im Nachtrag erwähnten Stämme, ein Ergebnis, zu dem auch Xyländer (73) betreffs der Rattenbacillen und dem Enteritis Gärtner-Bacillus kommt.

Eine Einführung meiner Versuchsstämme in die früher aufgeführte Gruppierungstafel der Coli-Typhusgruppe von Jensen (32) bringt die untersuchten Stämme nach meinen Versuchen in folgende Gruppen:

Gruppe D: T.

Gruppe E: S, Ei, Eg, Pi, Pg, Da, Du, I, N.

Gruppe I: C.

Abgesehen von dem Hinweis auf die Reaktionsstärkegruppierung, ließen meine Versuchsergebnisse eine Differenzierung innerhalb der Paratyphusgruppe nicht zu.

C. Zersetzung von organischen Säuresalzen.

Unter Anlehnung an Bahr (1) und Escherich und Pfandler (19) prüfte ich hierauf das Wachstum und die Zersetzungsfähigkeit meiner Versuchsstämme in folgenden organischen Säuren:

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 1) Ameisensäure, | 9) Propionsäure, |
| 2) Oxalsäure, | 10) Milchsäure, |
| 3) Malonsäure, | 11) Buttersäure, |
| 4) Bernsteinsäure, | 12) Valeriansäure, |
| 5) Traubensäure, | 13) Glykonsäure, |
| 6) Zitronensäure, | 14) Zuckersäure, |
| 7) Harnsäure, | 15) Schleimsäure. |
| 8) Essigsäure, | |

Ich brachte dieselben wie vorher die Kohlehydrate in Barsiekows (3) Lackmusnutroselösung zur Verwendung. Je nachdem der verwendete, in wenig destilliertem Wasser gelöste Körper eine Säure oder ein saures Salz war, brauchte ich zur Neutralisierung und vollständigen Salzbildung mehr oder weniger Ammoniak. Die in Lösung erhaltenen Körper waren somit Ammonium- oder Ammonium-Natriumsalze. Ich alkalisierte bis zum Phenolphthaleinneutralpunkt. Die verwendeten Körper bezog ich von C. A. F. Kahlbaum, Berlin, und zwar:

- | | |
|------------------------------|---------------------------|
| 1) Ameisensaures Natrium, | 9) Propionsaures Natrium, |
| 2) Oxalsaures " | 10) Milchsäures " |
| 3) Malonsaures " | 11) Buttersaures " |
| 4) Bernsteinsaures Ammonium, | 12) Valeriansaures " |
| 5) Traubensaures " | 13) Glykonsaures " |
| 6) Zitronensaures Natrium, | 14) Zuckersaures " |
| 7) Harnsaures " | 15) Schleimsaures " |
| 8) Essigsäures " | |

Die Bereitung und Beimpfung des Nährbodens, die Beobachtung und Aufzeichnung der Ergebnisse erfolgte, wie bei den Kohlehydraten bereits geschildert. Die folgende Tafel soll eine Uebersicht der ausgeführten Versuche geben. Zeichenerklärung:

— = keine Veränderung, □ = Trübung unter Beibehaltung der blauvioletten Farbe, ○ = Säuerung, △ = Säuretrübung, ◇ = Zersetzung, die sich durch ein immer stärkeres Aufhellen der unteren Flüssigkeitsschichten kennzeichnete, ■ = Gasbildung.

| Säure | Tag | C | S | T | Ei | Eg | Pi | Pg | Da | Du | I | N |
|----------------|-----|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| Ameisensäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Oxalsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Malonsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Bernsteinsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Traubensäure | 6. | — | ◆ | — | ◆ | — | ◆ | — | — | — | — | — |
| Zitronensäure | 6. | □ | ◆ | ○ | — | ◆ | □ | □ | □ | ◆ | ◆ | ◆ |
| Harnsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Essigsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Propionsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Milchsäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Buttersäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Valeriansäure | 10. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Glykonsäure | 3. | ▲ | ▲ | ○ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| Zuckersäure | 5. | ◆ | ◆ | ○ | ◆ | — | ◆ | ● | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ |
| Schleimsäure | 5. | ◆ | ◆ | — | ◆ | — | ◆ | ○ | ◆ | ◆ | ◆ | ◆ |

Versuchsergebnis: Ameisensäure, Oxalsäure, Malonsäure, Bernsteinsäure, Harnsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Buttersäure und Valeriansäure wurden von keinem der Versuchsstämme zerlegt. Glykonsäure wurde von allen Paratyphusstämmen gleichmäßig unter Säuretrübung mit Gasbildung zersetzt, ein Ergebnis, das den von Bahr (1) angestellten Versuchen mit Paratyphusbakterien unter Einbeziehung der Rattenbakterien entspricht. Zuckersäure wurde von den Paratyphusstämmen mit Ausnahme eines Enteritisstammes Eg, der nicht reagierte, und eines Paratyphus-B-Stammes Pg, der nur unter leichter Säuerung Gas bildete, unter Gasbildung zersetzt. Nach Bahr (1) wird Zuckersäure von allen oben erwähnten Paratyphusgliedern zerlegt. Es ergibt sich somit eine Abweichung und Sonderstellung für Eg und Pg, die zu keinem der bisherigen Ergebnisse paßt. Ebenso verhält es sich mit den Zersetzungsversuchen in Schleimsäure, die auch von allen Paratyphusbakterien unter Gasbildung vergoren wurde, dagegen von Eg gar nicht, von Pg nur unter leichter Säuerung angegriffen wurde. Bei der Vergärung der Zitronensäure, die nach Angabe von Bahr (1) von allen Rattenbacillen gespalten wird, zersetzten Du, I, N, Eg und S unter Gasbildung die Salzlösungen, während beide Paratyphus-B-Stämme und der Danysz-Bacillus nur mit Trübung, Ei nicht reagierte. Der Versuch stellt also innerhalb der Paratyphusgruppe S, Eg, Du, I, N und Pi, Pg, Da zusammen.

Nach Bahr (1) kann Bacillus Danysz Traubensäure nicht spalten. Bahr, Raebiger und Grosso (2) nehmen dies auch nach einigen Versuchen mit Enteritis Gärtner und Paratyphus B an, berichten aber im Nachtrag von entgegengesetzten Fällen. Dagegen soll der Ratinbacillus Traubensäure spalten können. Bei den von mir oftmals angestellten Versuchen brachten immer nur S, Ei und Pi das traubensaure Salz unter Gasbildung zur Zersetzung; alle anderen Versuchsstämme — auch der Ratinbacillus — ließen es unverändert. Diese Ergebnisse stimmen insofern mit denen der oben genannten Forscher überein, als tatsächlich Bacillus ratti Danysz Traubensäure nicht spalten kann, die Enteritis Gärtner- und Paratyphus-B-Stämme aber nicht gleich reagieren. Hingegen konnte im Gegensatz zu Bahr, Raebiger und Grosso (2) mein Ratinbacillus Traubensäure nie spalten. Ein Ueberblick über die bisher vorgeführten Versuche läßt klar erkennen,

daß auf diesem Wege eine Lösung der Differenzierungsfrage in der Paratyphusgruppe nur bei gleichzeitiger Untersuchung aller Stämme möglich wäre.

III. Agglutination.

Die Agglutination wurde in der Rattenbacillenfrage von Trautmann (64), Heuser (31), Bahr (1), Mühlens, Dahm und Fürst (49) und Xyländer (73) mit verschiedenem Erfolge verwendet. Wenn auch keinem Autor eine Differenzierung der Rattenbacillen untereinander gelang, so war es doch möglich, einen oder den anderen der Rattenbacillen dem *Bac. enteritidis* Gärtner anzugliedern und diese Gruppe von anderen Abteilungen der Paratyphusgruppe zu trennen. Heuser (31) ist der Ansicht, *Bac. Danysz*, Issatschenko und andere seien nur durch die Agglutination von den Bakterien der Hogcholera-Gruppe zu unterscheiden. Seeligmann und Sobernheim (62) stellen auf Grund der Agglutination *Bac. Danysz*, Dunbar und den *Ratinbacillus* zusammen. Bahr, Raebiger und Grosso (2) messen in dieser Frage der Agglutination keine große Bedeutung zu und verweisen dabei auf die Arbeit Bahrs (1) und Lebrams (44). Letzterer berichtet über ein Enteritis Gärtner-Serum, das Typhusbacillen agglutinierte; ersterer von einem Typhusserum, das auf den Neumannschen und Danysz-schen Bacillus wirkte, und von einem Suipestifer-Serum, das alle Paratyphusstämme stark, den *Bac. Danysz* schwach agglutinierte. Ein Ratinserum wirkte auf alle Rattenbacillen. Nach den neueren Untersuchungen von Sobernheim und Seeligmann (62) scheint die Auffassung, daß der Wert der Agglutination in der Coli-Typhusgruppe noch einer eingehenden Erforschung und Bestätigung [Lebram (44)] bedürfe, insofern an Boden zu gewinnen, als tatsächlich die Beurteilung der Ergebnisse bei den wechselnden Eigenschaften dieser Bakterien an Sicherheit zu wünschen übrig läßt.

Bei den hier ausgeführten Agglutinationsversuchen verfuhr ich auf nachstehende Weise: Von dem zu prüfenden Serum legte ich die aus den Tabellen ersichtlichen Verdünnungen in 0,8-proz. physiologischer Kochsalzlösung an, der 0,5 Proz. *Acidi carbolici liquefacti* beigelegt waren und brachte davon je 1 ccm in kleine, 6—8 cm hohe, 6 mm lichte Agglutinationsröhrchen. Dicht am oberen Rande dieser Serumverdünnungen verrieb ich eine Normalöse einer 12—24-stündigen Agarkultur und schüttelte sie, bis die Verdünnungsflüssigkeit ein gleichmäßig weißtrübes Aussehen angenommen hatte. Nach 2-stündigem Verweilen der Röhrchen im Brutschrank wurden die Befunde makroskopisch abgenommen.

Die Abstammung und Herstellung der Sera, die verwendet wurden, war folgende:

Ein Enteritis Gärtner-Serum vom Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin = Ei-Serum; Agglutinationstiter 4000.

Ein Enteritis Gärtner-Serum vom Kaiserlichen Gesundheitsamt zu Berlin = Eg-Serum; Agglutinationstiter 3000.

Ein Paratyphus-B-Serum vom Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin = Pi-Serum; Agglutinationstiter 2000.

Ein Paratyphus-B-Serum vom Kaiserlichen Gesundheitsamt zu Berlin = Pg-Serum; Agglutinationstiter 5000.

Ein Typhusserum vom Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin = T-Serum; Agglutinationstiter 10 000.

Ein *Danysz*-Serum wurde vom Verfasser selbst mit dem angegebenen Versuchstamm durch Impfung zweier älterer, starker Kaninchen gewonnen. Die Impfung wurde, wie folgt, ausgeführt und führte nach 7maliger Impfung im Zwischenraum von je 10 Tagen zur Gewinnung eines Serums vom Agglutinationstiter 8000.

1. Impfung: 1,0 ccm einer 24-stündigen, 10 Minuten auf 75° C erhitzten Fleischwasserkultur wurden an der Innenfläche des Oberschenkels subkutan eingespritzt.
2. Impfung: 0,25 ccm einer 24-stündigen Fleischwasserkultur, ebenso subkutan.
3. Impfung: 0,50 ccm einer 24-stündigen Fleischwasserkultur, ebenso subkutan.
4. Impfung: 1,00 ccm einer 24-stündigen Fleischwasserkultur, ebenso subkutan.
5. Impfung: $\frac{1}{100}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur intravenös. 1 Oese Kultur wurde in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und geschüttelt, davon 1 ccm in die Ohrvene eingespritzt.
6. Impfung: $\frac{1}{30}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur, ebenso intravenös.
7. Impfung: $\frac{1}{10}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur, ebenso intravenös.

Da die Tiere einige Tage nach dieser 7. Impfung krank zu werden begannen, wurde das Serum erst zur Prüfung, der Ohrvene, dann im Ganzen der Oberschenkelvene steril entnommen, durch Stehenlassen im Kühlraum abgesetzt, mit 0,05 Proz. Phenol versetzt und auf die vorher beschriebene Weise in Anwendung gebracht. Agglutinationstiter 8000.

Ein Dunbar-Serum wurde vom Verfasser selbst mit dem angegebenen Versuchstamm durch Impfung zweier älterer Kaninchen hergestellt. Bei den 4 Impfungen, die im Zwischenraum von 10 Tagen ausgeführt wurden, wurden je 1,0 ccm einer 24-stündigen, 10 Minuten auf 75° C erhitzten, je 0,2 ccm, je 0,5 ccm und je 0,75 ccm einer 24-stündigen Fleischwasserkultur subkutan an der Innenfläche des Oberschenkels eingespritzt. Das 8 Tage nach der letzten Impfung nach Entnahme aus der Ohrvene untersuchte, dann aus der Oberschenkelvene entnommene, wie vorhin gewonnene Serum erreichte den Agglutinationstiter 10 000.

Ein Issatschenko-Serum wurde wie das Dunbar-Serum gewonnen und hatte den Agglutinationstiter 10 000.

Ein Ratinserum wurde vom Verfasser durch Impfung eines Ziegenbockes hergestellt. Sie erfolgte alle 10 Tage auf folgende Art und Weise:

1. Impfung: 5,0 ccm einer 24-stündigen, 10 Minuten erhitzten Fleischwasserkultur, am Halse subkutan.
2. Impfung: 1,0 ccm einer 24-stündigen Fleischwasserkultur, am Halse subkutan.
3. Impfung 3,0 ccm einer 24-stündigen Fleischwasserkultur, am Halse subkutan.
4. " 5,0 " " " " " " "
5. " 10,0 " " " " " " "
6. " $\frac{1}{100}$ Oese " " " " " " " "
7. " $\frac{1}{10}$ " " " " " " " "
8. " $\frac{1}{6}$ " " " " " " " "
9. " 1 " " " " " " "
10. " 3 " " " " " " "
11. " 5 Oesen " " " " " " " "

Da das Tier bereits seit der 8. Impfung unter Freßunlust zusehends abmagerte, wurde einige Tage nach der 10. Impfung Blut aus der Halsvene entnommen. Nach der 11. Impfung ging das Tier ein. Als pathologisch-anatomischer Befund kam nur die höhere Rötung des Dünndarms mit Schwellung der Peyerschen Haufen in Betracht, eine Erscheinung, die ich auch bei anderen Versuchstieren beobachtete. Der Agglutinationstiter des erhaltenen Serums betrug 1000.

In den folgenden Tabellen bedeute: — = keine Agglutination. + = Agglutination nach 2 Stunden makroskopisch sichtbar. # = Agglutination bereits beim Einbringen der Bakterien makroskopisch sichtbar.

Tabelle I.
Ei-Serum. Agglutinationstiter 4000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | | | |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| S | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| T | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Eg | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pi | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pg | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Da | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Du | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| I | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| N | + | + | + | + | + | + | + | + | — |

Generated on 2019-09-14 21:11 GMT / http://hdl.handle.net/2027/osu.32435070754429 Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.
Eg-Serum. Agglutinationstiter 3000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | | |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 | 3000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — | — |
| S | — | — | — | — | — | — | — | — |
| T | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Eg | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pi | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pg | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Da | ## | ## | ## | + | + | + | + | + |
| Du | ## | ## | ## | + | + | + | + | + |
| I | ## | ## | ## | + | + | + | + | + |
| N | ## | ## | ## | + | + | + | + | + |

Tabelle III.
Pi-Serum. Agglutinationstiter 2000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — |
| S | + | + | + | + | + | + | + |
| T | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | + | + | + | + | + | + | + |
| Eg | — | — | — | — | — | — | — |
| Pi | + | + | + | + | + | + | + |
| Pg | + | + | + | + | + | + | + |
| Da | — | — | — | — | — | — | — |
| Du | — | — | — | — | — | — | — |
| I | — | — | — | — | — | — | — |
| N | — | — | — | — | — | — | — |

Tabelle IV.
Pg-Serum. Agglutinationstiter 5000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | |
|-------|--------------|-----|-----|-----|------|------|------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 | 5000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — |
| S | + | + | + | + | + | + | + |
| T | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | + | + | + | + | + | + | + |
| Eg | + | + | + | + | + | + | + |
| Pi | + | + | + | + | + | + | + |
| Pg | + | + | + | + | + | + | + |
| Da | — | — | — | — | — | — | — |
| Du | — | — | — | — | — | — | — |
| I | — | — | — | — | — | — | — |
| N | — | — | — | — | — | — | — |

Tabelle V.
Da-Serum. Agglutinationstiter 8000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | | | |
|----------------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 | 5000 | 8000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| S | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| T | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| E _g | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| P _i | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| P _g | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Da | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Du | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| I | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| N | + | + | + | + | + | + | + | + | — |

Tabelle VI.
Du-Serum. Agglutinationstiter 10 000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | | | | |
|----------------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|--------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 | 5000 | 8000 | 10 000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| S | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| T | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| E _g | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| P _i | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| P _g | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Da | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Du | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| I | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| N | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Tabelle VII.
I-Serum. Agglutinationstiter 10 000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | | | | |
|----------------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|--------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 | 5000 | 8000 | 10 000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| S | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| T | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ei | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| E _g | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| P _i | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| P _g | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Da | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Du | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| I | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| N | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Tabelle VIII.
N-Serum. Agglutinationstiter 1000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 |
| C | — | — | — | — | — | — |
| S | — | — | — | — | — | — |
| T | — | — | — | — | — | — |
| Ei | — | — | — | — | — | — |
| Eg | — | — | — | — | — | — |
| Pi | — | — | — | — | — | — |
| Pg | — | — | — | — | — | — |
| Da | + | + | + | + | + | + |
| Du | + | + | + | + | + | + |
| I | + | + | + | + | + | + |
| N | + | + | + | + | + | + |

Tabelle IX.
T-Serum. Agglutinationstiter 10 000.

| Stamm | Verdünnungen | | | | | | | | | |
|-------|--------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|--------|
| | 50 | 100 | 200 | 500 | 800 | 1000 | 2000 | 5000 | 8000 | 10 000 |
| C | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| S | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| T | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Ei | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Eg | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pi | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pg | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Da | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Du | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| I | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| N | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Versuchsergebnisse.

Zu Tabelle I: Die Rattenbacillen stehen dem damals zur Serumgewinnung verwendeten *Bac. enteritidis* Gärtner sehr nahe. Der heute wohl veränderte Bacillus aus dem gleichen Institut hat seine ihm damals anhaftenden Eigentümlichkeiten bezüglich der Agglutination verloren¹⁾ und das früher durch ihn bereitete Serum agglutiniert nur mehr die ihm nahe verwandten Rattenbacillen.

Zu Tabelle II: Der zur Serumgewinnung verwendete *Bac. enteritidis* Gärtner war nahe verwandt mit den Rattenbacillen, hat aber ebenso, wie der Enteritisstamm sich inzwischen so verändert, daß er von dem früher durch ihn gewonnenen Serum nicht mehr agglutiniert wurde.

Zu Tabelle III: *Bac. suipestifer* und Ei stehen der Paratyphus B-Gruppe sehr nahe, was auch früheren Versuchen entspricht, hingegen finden sich keine Beziehungen zwischen Paratyphus B- und der Ratten-Gruppe.

Zu Tabelle IV: *Bac. suipestifer* und beide Enteritis Gärtner-Stämme stehen ähnlich dem vorigen Versuch der Paratyphus B-Gruppe

1) Vgl. auch Seligmann und Sobernheim 62.

sehr nahe; hingegen finden sich keine Beziehungen zwischen Paratyphus B- und der Rattengruppe.

Zu Tabelle V: Da die Rattenbacillen Du, I und N nicht voll vom Da-Serum agglutiniert werden, muß an eine kleine Abweichung des Danysz-Bacillus von der Rattengruppe gedacht werden, die auch an anderer Stelle (Koffeinagar, Zitronensäure) zutage tritt.

Zu Tabelle VI—VIII: Alle Rattenbacillen wurden bis zur vollen Titerhöhe agglutiniert, sonst keiner der Versuchsstämme.

Zu Tabelle V—VIII: Die letzten 4 Versuche zeigen, daß durch ein Rattenbacillenserum, ganz gleich welcher Abstammung nur Rattenbacillen, hingegen kein anderer Bacillus der untersuchten Paratyphusstämmen agglutiniert werden, ein Ergebnis, das, falls es nicht durch noch umfassendere Untersuchungen umgestürzt oder erweitert werden sollte, zur Diagnostizierung der Rattenbacillengruppe führen kann.

Zu Tabelle IX: Der hier nur in Anbetracht der Bahrschen (1), oben erwähnten Aufstellung, daß ein Typhusserum auch Bacillus Neumann und Danysz agglutiniert habe, angestellte Versuch entspricht den allgemeinen Ansichten über die Sonderstellung des Bac. typhosus. Ich kann Bahrs (1) Beobachtung nicht bestätigen und betrachte die oben gefundene Agglutination von S und Eg bis 50 bzw. 100 als Nebenagglutination.

Als Gesamtergebnis dieser Agglutinationsversuche ist also vor allem die Sonderstellung der Rattengruppe durch eines der Rattenbacillensera, wie auch durch die beiden auf Enteritis Gärtner nicht mehr wirkenden Enteritis Gärtner-Sera hervorzuheben, während abgesehen von den keine sichere Deutung zulassenden Enteritis Gärtner-Seraversuchen sich keine Beziehungen der Rattengruppe zu Enteritis Gärtner ergaben, keinesfalls aber durch die Agglutination Beziehungen zwischen Paratyphus B und den Rattenbacillen gefunden wurden.

A n h a n g.

Der pathologisch-anatomische Befund — kein Milztumor, nur geringe Rötung im Dünndarm — bei den untersuchten Impftieren gab keine Anhaltspunkte zur Unterscheidung.

Der Abtötungsgrad für alle untersuchten Bakterienstämme lag bei 10 Minuten Erhitzungsdauer zwischen 50° und 60° C.

Schlusfolgerungen.

1) Morphologisch und kulturell bestehen zwischen den Bakterien der Enteritis Gärtner-, der Paratyphus B und der Rattenbacillengruppe als Unterabteilungen der Schottmüllerschen (56, 57) Paratyphusgruppe keine einschneidenden Unterschiede, die mit den eben genannten Einteilungen zusammenfallen. Insbesondere wurde in „bernsteinsaurer Ammoniak-Cibils-Aschelösung ohne zuckerhaltige Energiequelle und in Arabinose“ keine Sonderstellung eines Enteritis-Gärtner-Bacillus und in Traubensäure keine Sonderstellung des Ratinbacillus [Bahr, Raebiger und Grosso (2)] beobachtet.

2) Die von Bahr, Raebiger und Grosso (2) hervorgehobene Beweglichkeit und das Fehlen von Keulenformen bei den Paratyphus-Bacillen nach dem Wachstum auf Coffeinagar konnte ich bestätigen, fand

diese Eigenschaften aber auch beim *Danysz-Bacillus*, der sich sonst als ein echter Vertreter der Rattengruppe erweist.

3) In Uebereinstimmung mit der bisher anerkannten Paratyphus-B-Gruppe zeigte sich für die beiden bei meinen Versuchen verwendeten Stämme dieser Bezeichnung, in Dulcitol und Zitronensäure eine geringere Reaktionsstärke, als bei den anderen Paratyphusstämmen, eine Erscheinung, die aber bei Zitronensäure auch für den *Danysz-Bacillus* zutrif.

4) Bezüglich des Eintritts und der Stärke der Reaktion zeigte sich bei mehreren Versuchen, so in Lackmusmolke, Malachitgrünagar nach Buchholz, Dulcitol und Xylose, bezüglich der Art der Reaktion in Traubensäure und Zitronensäure und auch bei Beurteilung der Agglutination zusammengefaßt folgende Gruppenbildung der von mir untersuchten Bakterien in der *Coli-Typhusgruppe*.

I. Gruppe: *Bacterium coli*.

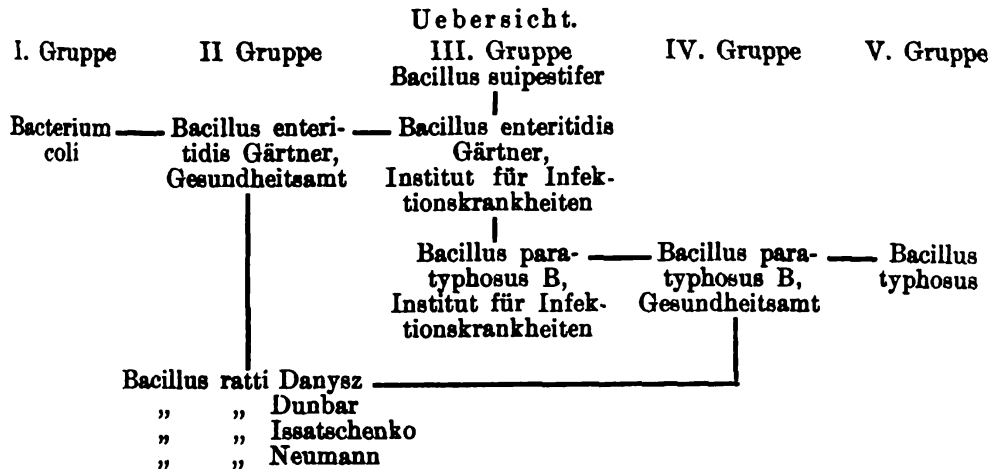
II. Gruppe: *Bacillus enteritidis* Gärtner aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt mit den 4 Bacillen der Rattengruppe (*Bacillus ratti* Danysz, Dunbar, Issatschenko und Neumann). Durch den *Bacillus enteritidis* Gärtner aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt wird diese Gruppe mit der folgenden verbunden, während *Bac. Danysz* auch zu Gruppe IV Beziehungen zeigt.

III. Gruppe: *Bacillus enteritidis* Gärtner aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin, *Bacillus paratyphosus* B aus demselben Institut und *Bacillus suipestifer*. Der eben genannte *Bacillus paratyphosus* B nähert sich der folgenden Gruppe.

IV. Gruppe: *Bacillus paratyphosus* B aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, der nahe Beziehungen zur V. Gruppe aufweist.

V. Gruppe: *Bacillus typhosus*.

Folgende Uebersicht soll diese Gruppierung bildlich darstellen.



5) Bei der Agglutination zeigte sich, daß je eines der Rattenbacillenserum nur die 4 Stämme der Rattengruppe: *Danysz*, *Dunbar*, *Issatschenko* und *Neumann*, diese aber vollständig agglutinierte. Das gleiche Ergebnis, nämlich die Agglutination der Rattengruppe mit Ausschluß aller anderen Stämme lieferten auch die untersuchten *Enteritis-Gärtner-Sera*. Hingegen agglutinierten *Paratyphus-B-Sera* niemals die Rattenbacillen. Es besteht nach den angeführten Versuchen also die Möglichkeit, mittels eines Rattenbacillenserums die Zugehörigkeit zur Rattengruppe festzustellen.

6) Eine sichere Unterscheidung der Rattenbacillen untereinander ist weder morphologisch, noch kulturell, noch durch die Agglutination möglich. Nur der Danysz-Bacillus wich insofern etwas von den anderen Rattenbacillen ab, als er auf Koffeinagar, wie auch die beiden Paratyphus-Bacillen seine Beweglichkeit nicht einbüßte und keine Evolutionsformen bildete.

Literatur.

- 1) Bahr, Ueber die zur Vertilgung der Ratten und Mäuse benutzten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 263.)
- 2) —, Raebiger u. Grosso, Vergleichende Untersuchungen über den Bacillus paratyphosus B, den Bacillus enteritidis Gärtner und den Ratinbacillus. Mit Nachtrag 1910. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 5. 1908—1909. p. 295.) — Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtnergruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. p. 231.)
- 3) Barsiekow, Beiträge zur Differentialdiagnose des Typhusbacillus. (Wien. klin. Wochenschr. 1901. p. 823.) Zit. nach Neufeld, Typhus (Kolle-Wassermann). Bd. 2. 1903. p. 204.
- 4) Bock, Untersuchungen über Bakterien aus der Paratyphusgruppe. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 24. 1906. p. 238.)
- 5) Böhme, Weiterer Beitrag zur Charakterisierung der Hogcholera(Paratyphus)-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52. 1905. H. 1.)
- 6) Bongert, Bakteriologische Diagnostik der Tierseuchen. 1908.
- 7) — Mäusetyphus. (Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1903. p. 742.)
- 8) Bonhoff, Ueber die Identität des Löfflerschen Mäusetyphusbacillus mit dem Paratyphus B-Bacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. 50. 1904. p. 222.)
- 9) Broll, Zum Wachstum der oviden Bakterien in Form von längeren Stäbchen und Fäden. (Arch. f. Hyg. Bd. 50. 1904. p. 222.)
- 10) Bronstein, Zur Frage der Rattenvertilgung mittels des Danysz-Bacillus. (Dtsche med. Wochenschr. 1911. p. 577.)
- 11) Bruns u. Kayser, Ueber die Verwendbarkeit des Agglutinationsphänomens zur klinischen Diagnose und Identifizierung von Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43. 1903. p. 401.)
- 12) Buchholz, Zur kulturellen Unterscheidung der Typhus-, Paratyphus-, Coli-Bakterien untereinander. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 220.)
- 13) Danysz, Un microbe pathogène pour les rats. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 14. 1900. p. 193.)
- 14) v. Drigalski, Ueber eine durch Genuß von Pferdefleisch veranlaßte Massenvergiftung. (Festschr. z. 60. Geburtstag v. Rob. Koch. 1903. p. 409.)
- 15) — u. Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. p. 283.)
- 16) — — u. Jürgens, Mitteilungen über eine Paratyphusepidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. 1902.)
- 17) Endo, Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1904. p. 109.)
- 18) van Ermengem, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Kolle-Wassermann. Bd. 2. 1903. p. 637.)
- 19) Escherich u. Pfaundler, M., Bacterium coli commune. (Kolle-Wassermann. Bd. 2. p. 334.)
- 20) Fischer, Zur Aetiologie der Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1902.)
- 21) Flügge, Mikroorganismen. 3. Aufl. 1896. p. 360.)
- 22) Friedberger, Die allgemeinen Methoden der Bakteriologie. (Kolle-Wassermann. Bd. 1. 1903. p. 397.)
- 23) Fürth, Ueber den Wirt des Leuchsschen Malachitgrünagars zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. p. 81.)
- 24) Gärtner, Ueber die Fleischvergiftungen in Frankenhausen am Kyffhäuser und den Erreger derselben. (Breslauer ärztl. Zeitschr. 1888. No. 21 u. 22.) (Zit. aus van Ermengem. 18.)
- 25) Gotschlich, Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. (Kolle-Wassermann. Bd. 1. 1903. p. 29.)
- 26) — Nachträge zur allgemeinen Morphologie und Biologie der Bakterien. (Kolle-Wassermann. Erg.-Bd. II. 1907. p. 1.)

- 27) Grimm, Einige Bemerkungen zu Herrn Issatschenkos Arbeit: Untersuchungen über einen für Ratten pathogenen Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902. p. 459.)
- 28) — Eine neue Infektionskrankheit der Ratten. (Petersburger Veterinärbote. 1905. No. 7.) (Auszug aus Ellenberger-Schütz. 1905. p. 19.)
- 29) Heim, Bakteriologie. 3. Aufl. 1906.
- 30) Herford, Das Wachstum der zwischen *Bacterium coli* und *Bacterium typhi* stehenden Spaltpilze auf dem Endoschen Fuchsinagar. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 24. 1906. p. 62.)
- 31) Heuser, Zur Frage nach der Pathogenität der beim Menschen, bei Tieren und in gesund aussehenden Fleischwaren nachgewiesenen Bakterien der Enteritisgruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65. 1910. p. 8.)
- 32) Jensen, Om Paratyphusbacillerner Forhold. (Verhalten der Paratyphusbacillen.) (Ugeskrift for Laeger. 1904. p. 369. — Wochenschr. f. Aerzte. 1904. p. 369.)
- 33) Joest, Die Beziehungen des Schweinepesterreger zu den anderen Bakterien der Hogcholeragruppe, mit besonderer Berücksichtigung der Fleischvergifter. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 15. 1905. p. 295.)
- 34) Issatschenko, Ueber einen neuen, für Ratten pathogenen Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 23. 1898. p. 873.)
- 35) — Untersuchungen mit dem für Ratten pathogenen Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. 1902. p. 26.)
- 36) Kayser, Zur Bakteriologie des Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. p. 154.)
- 37) Kitt, Bakterienkunde. 1908.
- 38) Kolle, Ueber Paratyphus und den Wert der Immunitätsreaktionen für die Erkennung des Paratyphusbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52. 1906. p. 287.)
- 39) — u. Hetsch, Bakteriologie und Infektionskrankheiten. 1906.
- 40) Korte, Ein Beitrag zur Kenntnis des Paratyphus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44. 1904. p. 243.)
- 41) Kutscher, Paratyphus. (Kolle-Wassermann. Erg.-Bd. 1. 1908. p. 665.)
- 42) — u. Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 52. 1906. p. 301.)
- 43) Langkau, *Bac. paratyphosus* B, *Bac. suipestifer* und *Bac. enteritidis* Gärtzer im Vergleich zu den Erregern der Kälberruhr. [Inaug.-Diss.] Berlin 1909.
- 44) Lebram, Ueber Agglutination von Typhusbacillen durch spezifisches Gärtner-Serum. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64. 1909. p. 411.)
- 45) Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbacillen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 2139.)
- 46) Leuchs, Ueber Malachitgrünnährböden zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. Bd. 32. 1906. p. 1330.)
- 47) Lentz, Beiträge zur Differentialdiagnose des Paratyphus. (Sitz.-Ber. d. Fr. Ver. f. Mikrobiol. Berlin. 1906. Beiheft zu Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. p. 63.)
- 48) Mandelbaum, Veränderung zweier Nährböden (Rosolsäure- und Blutagar) durch säure- bzw. alkalibildende Bakterien. (Münch. med. Wochenschr. Bd. 56. 1909. p. 2475.)
- 49) Mühlens, Dahm u. Fürst, Untersuchungen über Bakterien der Enteritisgruppe Typus Gärtner und Typus Flügge, insbesondere über die sogenannten Fleischvergiftungserreger und die sogenannten Rattenschädlinge. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908—1909. p. 1.)
- 50) Neufeld, Typhus. (Kolle-Wassermann. Bd. 2. 1903. p. 204.)
- 51) De Nobele, Du séro-diagnostic dans les affections gastro-intestinales d'origine alimentaire. (Zit. n. van Ermengem. 18.)
- 52) Oldecop, Eine Modifikation des Rothberger-Schefflerschen Neutralrotnährbodens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. p. 120.)
- 53) Poppe, Beitrag zur vergleichenden Biologie des *Bac. suipestifer* und des *Bac. paratyphosus* B. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1903—1909. p. 42.)
- 54) Raebiger, Ratin. (Jahresber. d. bakt. Inst. d. Landw.-Kammer d. Prov. Sachsen. 1905—1906; Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906. p. 798.)
- 55) Rothberger, Differentialdiagnostische Untersuchungen auf gefärbten Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 24. 1898. p. 513.)
- 56) Schottmüller, Ueber eine das Bild des Typhus bietende Erkrankung, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1900. p. 511.)
- 57) — Weitere Mitteilungen über mehrere das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen (Paratyphus). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901. p. 368.)

- 58) Schottmüller, Zur Aetiologie der akuten Gastroenteritis (Cholera nostras). (Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 294.)
- 59) Seiffert, Studien zur Salmonellagruppe (Paratyphus B-Gruppe). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63. 1909. p. 273.)
- 60) Shibayama, Ueber Pathogenität des Mäuse typhus bacillus für den Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 979.)
- 61) Smidt, Zur Charakterisierung der Hogcholera-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905. p. 24.)
- 62) Sobernheim u. Seligmann, Beobachtungen über die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften von Bakterien. Untersuchungen an der Enteritis-Gruppe. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. p. 351.)
- 63) Trautmann, Der Bacillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung und die verwandten Bakterien der Paratyphus-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 45. 1903. p. 139.)
- 64) — Bakterien der Paratyphus-Gruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 54. 1906. p. 104.)
- 65) Trommsdorff, Ueber Pathogenität des Löfflerschen Mäuse typhus bacillus beim Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 2092.)
- 66) — Ueber den Mäuse typhus bacillus und seine Verwandten. (Arch. f. Hyg. Bd. 55. 1906. p. 279.)
- 67) Uhlenhuth u. Hübner, Verbreitung der Bakterien der Paratyphus B- und Gärtner-Gruppe und ihre Beziehungen zur gastro-intestinalen Form der Fleischvergiftungen. (Med. Klinik. Bd. 4. 1908. p. 1823.)
- 68) Wiener, Ueber den Bacillus Danysz. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32. 1902. p. 464.)
- 69) — Die Mäuse- und Rattenplage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 32. 1902. p. 562.)
- 70) Wladimiroff u. Komensky, Versuche an Haustieren mit der ratten-tötenden Bakterie Neumanns (Ratin). (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1907. p. 25.)
- 71) Xyländer, Der Rattenbacillus als Rattenvertilgungsmittel. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 28. 1908. p. 145.)
- 72) — Ueber die Verwendung von Bakterien zur Rattenvertilgung. (Zeitschr. f. Milch- u. Fleischhyg. Bd. 18. 1908. p. 240.)
- 73) — Ratin I und II, sowie über die Stellung des Ratinbacillus zur Gärtner-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. p. 455.)

Nachdruck verboten.

Das Schicksal der Milzbrandkeime in der Stalljauche.

Von Dr. med. vet. **Gottfried Roth**, Inkwil bei Bern.

Die Aetiologie des Milzbrandes ist durch viele hervorragende Forscher ergründet worden; trotzdem finden sich immer noch ungelöste Fragen, die für die erfolgreiche Bekämpfung dieser Seuche von großer Bedeutung sind. Insbesondere ist noch die Verschleppung der Milzbrandkeime durch feste und flüssige Exkremente in Form des Stalldüngers einer Untersuchung bedürftig, speziell unter den Verhältnissen, wie sie in Zentral-europa gegeben sind.

An meinem Wohnort in Bern und in weiter Umgebung gehört zu jedem Stall ein wasserdichter Kellerraum, die „Jauchegrube“, welche den Harn und einen Teil des Kotes der Tiere aufnimmt, und welcher von Zeit zu Zeit auch sogenannte „Gülle“ zugeleitet wird. Als Gülle bezeichnet man hierzulande ein in meist offenen Gruben im Freien sich sammelndes Gemisch von Regenwasser und Abfallwässern, zu welchem sich meist auch noch der vom Düngerhaufen abfließende Saft gesellt.

In angemessenen Zwischenzeiten wird der Inhalt der Jauchegrube, die „Stalljauche“, auf Felder und Wiesen ausgefahren. Der hohe Düngwert dieses Materials braucht nicht besonders erwähnt zu werden.

Erkrankt nun ein Tier an Milzbrand, so fließen die milzbrandbakterienhaltenden Ausscheidungen, zum Teil wenigstens, in die Jauchegrube. Sehr oft wird das kranke Tier vor oder nach dem Verenden in die Stalle abgestochen, und mit dem Blut gelangt dann eine Unmasse von Milzbrandstäbchen in die Jauchegrube. So drängt sich bei jedem Milzbrandfall die Frage nach dem Schicksal der Milzbrandkeime in der Stalljauche auf.

In der Zusammensetzung sind die Stalljauchen je nach der Art und dem Mengenverhältnis ihrer Komponenten verschieden, jedoch ist allen die Eigentümlichkeit gemein, daß sie stark alkalisch reagieren und von einer überaus großen Zahl von Bakterien belebt sind.

Die Temperatur der Stalljauche ist abhängig von der Jahreszeit, immerhin ist sie nicht so schroffen Wechsellagen ausgesetzt wie die Lufttemperatur. In kalter Winterszeit fand ich Temperaturen von 2—7° C; im Sommer bei einer Mittagstemperatur von 30° C und mehr im Schatten solche von 16—19° C.

Zum Vornherein läßt sich vermuten, daß die stark alkalische Reaktion der Jauche auf das Fortkommen der Milzbrandkeime ungünstig einwirkt, deshalb stellte ich auch bei jedem Versuch den Alkaleszenzgrad der betreffenden Jauche fest.

Obwohl, wie v. Lingelsheim (1) gezeigt hat, die verschiedenen Alkalien ungleich stark anthraxbakterizid wirken, konnte ich doch von der zeitraubenden Bestimmung der Art der Alkaleszenz absehen und mich mit der Feststellung der Gesamtalkaleszenz begnügen, wozu mir Herr Dr. Liechti, Vorstand der schweizer. agrikulturchemischen Anstalt Liebefeld bei Bern, in zuvorkommender Weise folgendes Verfahren empfahl:

10 ccm Stalljauche werden mit 100 ccm destilliertem Wasser verdünnt, und hierauf wird aus einer gradierten Bürette so viel Halbnormalschwefelsäure zugesetzt, bis die Reaktion, mit Lackmuspapier geprüft, neutral ist. Die Verdünnung mit Wasser ist notwendig, um die intensive Farbe der Jauche abzublenden.

Als Alkaleszenzgrad einer Jauche benenne ich im folgenden die Anzahl Kubikzentimeter Halbnormalschwefelsäure, deren es bedarf, um 10 ccm Jauche zu neutralisieren.

A. Versuche mit Milzbrandstäbchen.

Erste Versuchsreihe.

Erbsengroße Leberstückchen einer eine Stunde vorher an Milzbrand umgestandenen Maus wurden in sterile Reagenröhrchen gebracht und mit Stalljauche überschichtet. Die nicht von Jauche bedeckte Wand des Röhrchens wurde in der Flamme erhitzt, um allfällig hier haften gebliebene Milzbrandstäbchen zu vernichten. Hierauf wurden die Röhrchen mit sterilem Wattebausch geschlossen und bei 6, 12 und 37° C aufgestellt.

Zur Untersuchung, die nur eine mikroskopische war, wurden in gewissen Zeitabständen die Organstücke mit dem Platindraht herausgenommen, kleine Partikel mit einem Glasstab abgedrückt und auf Objektträger gestrichen.

Es wurden 5 Jaucheproben verwendet; ihr Alkaleszenzgrad war:

| | |
|----------|--------|
| Jauche a | = 1,45 |
| „ b | = 0,65 |
| „ c | = 3,58 |
| „ d | = 0,4 |
| „ e | = 0,5 |

α bei 37° C.

Erste Untersuchung: nach 17 Stunden.

In allen Jaucheproben lassen sich Milzbrandstäbchen nachweisen; vereinzelte zeigen deutliche Quellung, besonders scheint die Kapsel verbreitert, in Probe c ist diese Quellung besonders stark ausgeprägt.

Viele Milzbrandstäbchen färben sich im Thioninpräparat ausgesprochen rot, indes die Jauchebakterien schön blau gefärbt sind. Das Protoplasma der Milzbrandbacillen zeigt vielerorts körnige und schollige Anordnung.

Zweite Untersuchung: nach 4 Tagen.

Es läßt sich keine Spur von Milzbrandstäbchen nachweisen.
 β und γ bei 12 und 6° C.

Erste Untersuchung: nach 24 Stunden.

In allen Proben ist die Mehrzahl der Milzbrandstäbchen unverändert. Daneben zeigen sich einige gequollene, im Thioninpräparat rotgefärbte Milzbrandbacillen. Bei den Proben von 6° ist der Zerfall etwas weniger vorgerückt als bei 12°.

Zweite Untersuchung: nach 4 Tagen.

Es können keine Milzbrandbacillen nachgewiesen werden.

Ergebnis.

Die Milzbrandbacillen fallen in der Stalljauche einem raschen Zerfall anheim. Nach 4 Tagen läßt sich mikroskopisch kein Milzbrand mehr nachweisen. Der Zerfall ist um so rascher, je höher innerhalb der Grenzen von 6—37° C die Temperatur ist.

Zweite Versuchsreihe.

Erbsengroße Milzstückchen einer 24 Stunden vorher als Milzbrand umgestandenen Kuh wurden kurz nach der Sektion in Jauche f mit dem Alkaleszenzgrad 1,25 gebracht. Die Milz war durchaus frei von Fäulniserscheinungen. Die Technik war dieselbe wie in der ersten Versuchsreihe.

α bei 37° C.

Erste Untersuchung: nach 2 Stunden.

Viele Zerfallsformen mit Quellung und körniger Gruppierung des Protoplasmas, Rotfärbung im Thioninpräparat.

Die anfangs von 2 zu 2 Stunden fortgesetzte Untersuchung zeigt fortschreitenden Zerfall. Das Protoplasma der Milzbrandbacillen ordnet sich körnig und schollig an, blaßt immer mehr ab, bis schließlich nur noch eine helle Lücke von der Kontur der Milzbrandfäden, gleichsam die Hülle des Bacillus anthracis, zurückbleibt.

Nach 3 Tagen lassen sich noch Spuren von Milzbrandstäbchen nachweisen.

Die letzte Untersuchung wurde nach 4 Tagen vorgenommen und es ließen sich dabei keine Spuren von Milzbrandstäbchen mehr nachweisen.

β und γ bei 12 und 6° C.

Es zeigen sich analoge Erscheinungen wie bei 37°, jedoch schreitet der Zerfall bedeutend langsamer vor, und zwar bei 6° langsamer als bei 12°.

Nach 4 Tagen lassen sich noch deutlich Milzbrandstäbchen, wenn auch nur als Zerfallsformen, nachweisen.

Nach 6 Tagen sind noch schattenhafte, in ihrer Kontur jedoch deutlich auf Milzbrandketten hinweisende Fäden zu erkennen, die sich im Gram-Präparat teilweise noch als strichförmig angeordnete Körner zeigen.

Die bisherigen Untersuchungen waren ausschließlich mikroskopische, und mit Recht mag man einwenden, daß der mikroskopische Befund die Anwesenheit vereinzelter Milzbrandkeime nicht mit genügender Sicherheit feststellen kann, insbesondere deshalb nicht, weil in der überaus mannigfaltigen Bakterienflora der Stalljauche sich viele milzbrandähnliche Keime finden.

Deshalb führte ich weitere Versuche aus und kombinierte die mikroskopische Untersuchung mit der kulturellen. Die Schwierigkeit, die Milzbrandkeime aus der üppigen Flora der Jauchebakterien herauszuzüchten, läßt sich leicht und zuverlässig überwinden durch das bekannte „Straßburger Verfahren“. Engler (2) unterwirft die verschiedenen Modifikationen dieses Verfahrens einer eingehenden Besprechung.

Ich ging folgenderweise vor:

Gleichzeitig mit der Entnahme des zur mikroskopischen Untersuchung verwendeten Materials werden kleine Partikel auf unglasierte kleine Tonstücke gestrichen. Diese Tonstücke werden in Reagenströhrchen ge-

bracht und einige Tropfen destillierten Wassers zugesetzt. Das Reagensröhrchen wird mit einem Wattebausch geschlossen und 3—4 Tage bei 30° C aufgestellt. Im gewöhnlichen Straßburgerverfahren beträgt die Temperatur 20°.

Temperatur und Nährverhältnisse sind nun derart, daß Milzbrandstäbchen zur Sporulation übergehen, indes die Jauchebakterien sich in einem ihrer Entwicklung nicht zusagenden Medium befinden.

Nach 3—4 Tagen wird das Röhrchen ca. $\frac{1}{4}$ Stunde lang auf 70° erhitzt, die nicht ins Wasserbad getauchte Partie des Röhrchens wird in der Flamme erhitzt. Die Milzbrandsporen ertragen die Temperatur von 70° ohne Schaden zu nehmen, indes die Mehrzahl der Jauchebakterien dabei zugrunde geht.

Das so behandelte Tonstücklein wird in eine sterile Petri-Schale gebracht, mit Agar übergossen und in den Brutschrank gestellt.

Nach 14 Stunden wird die Platte nach Milzbrandkolonien abgesucht; bei negativem Ergebnis wird dieses Absuchen von Stunde zu Stunde wiederholt.

Das Wachstum der Milzbrandbacillen auf Agar ist ein sehr charakteristisches; trotzdem können, wie Fiscoeder und Kitt (3) erwähnen, Verwechslungen mit ganz ähnlich wachsenden harmlosen Saprophyten vorkommen, zudem wachsen die Milzbrandbacillen manchmal auch atypisch in etwas variierenden Figuren. Deshalb ist man oft genötigt, verdächtige Kolonien durch den Tierversuch auf ihre Pathogenität zu prüfen.

Das frühzeitige Absuchen der Platten ist angezeigt, da die später einsetzende üppige Vegetation der Jauchebakterien, welche durch das Erhitzen nicht vollständig auszuschalten sind, die Milzbrandkolonien überwuchert.

Dritte Versuchsreihe.

Der Alkaleszenzgrad der Jaucheprobe betrug:

Jauche g = 0,9

„ h = 7,1

Zur Verwendung kamen erbsengroße Milzstückchen eines kurz vorher an Milzbrand eingegangenen Meerschweinchens.

Die erste Untersuchung: nach 6 Stunden ergab sowohl bei 37°, 12° als auch bei 6° C Degenerationsformen neben normal aussehenden Milzbrandstäbchen.

Die Kultur ergab überall Wachstum von Milzbrandkolonien.

Zweite Untersuchung: nach 30 Stunden

α bei 37° C.

In Jauche g lassen sich keine Milzbrandkeime nachweisen, in h aber finden sich noch zahlreiche gequollene, im Thioninpräparat rotgefärbte, körnig und schollig zerfallende Milzbrandfäden.

Die Kultur ergab weder bei h noch bei g Wachstum von Milzbrand.

β und γ bei 12 und 6° C.

In diesen Proben lassen sich sowohl mikroskopisch als auch kulturell Milzbrandbacillen nachweisen.

Dritte Untersuchung: nach 54 Stunden.

Es läßt sich noch Milzbrand in Jauche h und g bei 6° C nachweisen; dasselbe ist der Fall bei der

Vierten Untersuchung: nach 102 Stunden.

Die letzte Untersuchung: nach 14 Tagen ließ nirgends mehr Milzbrand erkennen.

Die folgende Tabelle gibt das Wachstum von Milzbrandkolonien auf Agar an.
+ = Milzbrand, — = kein Milzbrand.

| | Nach 6 Std. | Nach 30 Std. | Nach 54 Std. | Nach 102 Std. | Nach 14 Tag. |
|-------|-------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| 37° C | + | — | — | — | — |
| 12° „ | + | + | — | — | — |
| 6° „ | + | + | + | + | — |

In ihrem Einwirken auf den Milzbrandbacillus zeigten Jauche h und g keine nennenswerte Verschiedenheit, trotzdem man erwarten sollte, daß die Jauche h, die einen beinahe 8mal so hohen Alkaleszenzgrad besitzt als Jauche g, stärker anthraxbakterizid wirken sollte. Dieses Verhalten kann auf der Art der Alkaleszenz beruhen; andererseits aber drängt sich die Vermutung auf, die stark alkalische Reaktion sei nicht der einzige anthraxbakterizide Faktor der Stalljauche.

Dabei muß noch bemerkt werden, daß die Jauche h einer sehr kleinen Grube entnommen wurde, welche die Abgänge von 10 Stück Großvieh aufnimmt, und deshalb jede Woche entleert werden muß. Die Zahl der Jauchebakterien, die Menge ihrer Stoffwechselprodukte, sowie die der verschiedenen Zersetzungsprodukte muß hier eine geringere sein als in Jauche g, welche 3 Monate in der Grube gelegen hatte.

In neuerer Zeit haben Schipp (4) und K. Stein (5) nachgewiesen, daß Kadaverjauche hochgradig anthraxbakterizide Eigenschaften besitzt. Man könnte nun in meinen vorgenannten Versuchen den Zerfall der Milzbrandstäbchen als eine Folge der Organfäulnis betrachten.

Dagegen ist einzuwenden, daß das Material meist direkt nach dem Tode verwendet wurde, und daß schon sehr früh, z. B. schon nach 2-stündigem Liegen in Stalljauche, Zerfallsformen nachgewiesen wurden, zu einer Zeit also, wo es noch sehr fraglich ist, ob Organfäulnis sich schon derart bemerkbar macht. Uebrigens gelangen die Milzbrandstäbchen stets in Form von Blut in die Jauche, wobei sich immer etwas Kadaverjauche bildet.

Um die Organfäulnis möglichst vollständig auszuschalten, ging ich folgendermaßen vor:

Milzbrandbacillenhaltiges Blut von frisch verendeten Meerschweinchen wird in dünner Schicht auf unglasierte Tonstückchen gestrichen und in Reagensröhrchen mit Jauche überschichtet. Die nicht von Jauche benetzte Wand wird in der Flamme erhitzt. Von Zeit zu Zeit wird ein Tonstückchen aus der Jauche herausgenommen, mit destilliertem Wasser abgespült, in bekannter Weise zur Sporenbildung gestellt und zu Agarplatten verarbeitet. Zudem wird aus der Nähe des Tonstückchens 1 ccm Jauche abgesogen, mit dem 10-fachen Volumen destillierten Wassers verdünnt. In dieser Verdünnung werden Tonstückchen getränkt, die dann zur Sporenbildung gestellt und auf Milzbrandkeime untersucht werden.

Vierte Versuchsreihe.

Der Alkaleszenzgrad der Jauchen betrug:

Jauche i = 1,9

„ k = 1,4

„ l = 1,0

„ m = 1,2

Die Röhrchen wurden aufgestellt bei 19° C. In folgender Tabelle bezeichnet + = Wachstum von Milzbrandkolonien auf Agar.

| | i | k | l | m |
|-----------------|---|---|---|---|
| Nach 24 Stunden | — | + | + | + |
| „ 48 „ | — | — | — | + |
| „ 96 „ | — | — | — | — |

Fünfte Versuchsreihe.

Die Jaucheproben hatten folgenden Alkaleszenzgrad:

| | |
|----------|-------|
| Jauche n | = 0,6 |
| „ o | = 1,3 |
| „ p | = 1,0 |
| „ q | = 0,5 |

Es wurden untersucht:

- I. Proben von unveränderter Jauche,
- II. „ „ sterilisierter Jauche (20 Minuten bei 120°),
- III. „ „ neutralisierter Jauche,
- IV. „ „ sterilisierter und zugleich neutralisierter Jauche.

Nach 7-tägigem Stehen bei 19 und 6° C ließen sich nirgends mehr Milzbrandkeime nachweisen mit Ausnahme von Gruppe IV, wo in 2 von den 4 Jaucheproben, in Jauche n und o, sich zahlreiche lebensfähige Milzbrandkeime fanden (bei 19° in Form von Sporen).

Durch gleichzeitiges Neutralisieren und Ausschalten der thermolabilen Bestandteile kann also gewissen Stalljauchen die Fähigkeit, Milzbrandstäbchen abzutöten, entzogen werden.

Bei den bisherigen Versuchen gelangte immer sporenfrees Material zur Untersuchung. Bei der bekannten großen Resistenz der Milzbrandsporen ist zu erwarten, daß sie der anthraxbakteriziden Einwirkung der Stalljauche länger zu widerstehen vermögen als die Milzbrandstäbchen.

B. Versuche mit Milzbrandsporen.**Erste Versuchsreihe.**

Es wurden Tonstückchen im Milzsaft eines kurz vorher an Milzbrand umgestandenen Meerschweinchens getränkt und zur Sporulation bei 30° C aufgestellt. Die nach 3 Tagen vorgenommene Untersuchung auf Sporen war positiv. Die Tonstückchen wurden hierauf in Reagensröhrchen gebracht und mit Stalljauche überschichtet. Die nicht von Jauche berührte Wand des Röhrchens wurde in der Flamme erhitzt, um hierhaften gebliebene Sporen abzutöten. Von Zeit zu Zeit wurde ein Tonstückchen herausgenommen, mit destilliertem Wasser abgespült, $\frac{1}{4}$ Stunde lang auf 70° C erhitzt und zu Agarplatten verarbeitet.

Der Alkaleszenzgrad der Jauche betrug 1,45.

Folgende Tabelle zeigt das Wachstum von Milzbrandkolonien auf Agar.

+ = Milzbrand.

| | 37° | 18° | 7° |
|------------|-----|-----|----|
| Nach 1 Tag | + | + | + |
| „ 2 Tagen | + | + | + |
| „ 28 „ | + | + | + |
| „ 98 „ | + | + | + |

Zweite Versuchsreihe.

Die Technik war dieselbe wie in der ersten Versuchsreihe. Zur Verwendung kamen 8 Jaucheproben mit folgendem Alkaleszenzgrad:

| | |
|----------|--------|
| Jauche s | = 1,2, |
| „ t | = 1,8, |
| „ u | = 1,1, |
| „ v | = 1,5, |
| „ w | = 1,6, |
| „ x | = 0,8, |
| „ y | = 2,2, |
| „ z | = 1,5. |

Die Proben wurden bei 37 und 18° C aufgestellt. Das Resultat war bei 18° dasselbe wie bei 37° C. In folgender Tabelle bedeutet + = Wachstum von Milzbrandkolonien auf Agar.

| | s | t | u | v | w | x | y | z |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nach 2 Tagen | + | + | + | + | + | + | + | + |
| „ 58 „ | + | + | + | + | + | + | + | + |
| „ 88 „ | + | + | + | + | + | + | + | + |
| „ 150 „ | + | + | + | + | + | + | + | + |

Ergebnis.

1) Die Stalljauche besitzt hochgradig anthraxbakterizide Eigenschaften, so daß sie Milzbrandstäbchen in wenig Tagen vernichtet; Milzbrandsporen dagegen werden auch durch monatelanges Liegen in Stalljauche nicht getötet.

2) Die anthraxbakteriziden Eigenschaften der Stalljauche nehmen mit steigender Temperatur zu (Versuche bei 6—37° C).

3) Anthraxbakterizide Faktoren der Stalljauche sind:

- a) der hohe Alkaligehalt,
- b) thermolabile Bestandteile,
- c) thermostabile Bestandteile.

4) Werden die thermolabilen Bestandteile ausgeschaltet und wird gleichzeitig die alkalische Reaktion durch die neutrale ersetzt, so kann bei geeigneter Temperatur der Milzbrandbacillus in solcher Jauche Sporen bilden.

Ist man also vor die Frage gestellt, was mit einer mit Milzbrandkeimen verseuchten Stalljauche vorzunehmen sei, so muß man unterscheiden, ob der Milzbranderreger in seiner Wuchs- oder aber als Dauerform in dieselbe gelangt ist. In ersterem Falle ist die Verwendung der Jauche zu Düngzwecken gestattet, in letzterem Falle dagegen nicht.

Die rationelle Viehseuchenpolizei muß also dahin streben, Milzbrandstäbchen, die mit den Abgängen milzbrandkranker Tiere auf den Stallboden gelangt sind, in die Stalljauche zu bringen, bevor die Sporenbildung vollzogen ist.

Milzbrandbacillenführende Abgänge sind: Blutiger Ausfluß aus den natürlichen Körperöffnungen, bluthaltiger Harn und Kot und das den kranken oder verendeten Tieren entzogene Blut.

Blutiger Ausfluß aus den natürlichen Körperöffnungen stellt sich meist erst in der Agonie oder postmortal ein. Der Harn ist, wie Wyssokowitsch (6) gezeigt hat, erst gegen das tödliche Ende hin bacillenführend. Da der Milzbrand zumeist eine hämorrhagische Enteritis hervorruft, so gehen sicher mit dem bluthaltigen Kot Milzbrandkeime ab. Blut aber tritt erst dann in den Darminhalt über, wenn dieser Gewebsläsionen aufweist, so daß bluthaltiger Kot erst gegen das tödliche Ende der Krankheit hin zur Entleerung kommen kann.

Aber nicht nur Milzbrandstäbchen finden sich im Darminhalt, sondern auch Milzbrandsporen. Obleich im allgemeinen angenommen wird, es bilden sich im Innern des Tierkörpers keine Sporen, so äußern sich doch viele Forscher dahin, daß sich im Darmkanal milzbrandkranker Tiere Milzbrandsporen bilden.

Kitt (7) sagt, Fäkalien milzbrandkranker Tiere seien zumeist reichlich mit bacillenhaltigem Blut vermischt, und es sei vielleicht auch nicht von der Hand zu weisen, daß schon im Darmkanal des lebenden, an Milzbrand erkrankten Wiederkäuers sich Milzbrandsporen bilden, da die

alkalische oder neutrale Reaktion des Darminhaltes, die Temperaturverhältnisse und die Anwesenheit von Sauerstoff der Sporenbildung die Bedingungen bieten.

Flügge (8) äußert sich folgendermaßen:

„Beim Darmmilzbrand werden Massen von Dejektionen mit Sporen auf die Weide gebracht.“

Der Beweis zu dieser Behauptung wird jedoch nicht erbracht.

Nach Brotzu (9) erzeugen die Milzbrandbacillen im Darmkanal des Hundes, nach Piana (9) auch im Vogeldarm Sporen.

Nach den Untersuchungen von Cinca und Frenca (10) enthält der Darmkot milzbrandkranker Hammel und Schweine stets Milzbrandsporen, so daß auch bei faulen Kadavern durch Herauszüchten der Sporen im Darmkanal die Diagnose auf Milzbrand gestellt werden kann.

Oppermann (11) untersuchte den Darminhalt von an Milzbrand eingegangenen Kaninchen auf Milzbrandkeime und fand, daß der Kot von an Fütterungsmilzbrand umgestandenen Kaninchen in den meisten Fällen Milzbrandsporen enthält.

Bei einem an Impfmilzbrand umgestandenen Kaninchen, das nach dem Tode uneröffnet 82 Stunden bei 20–22° C gelegen hatte, fand er vereinzelt Sporen im Blinddarm.

Auch mir gelang der Nachweis von Milzbrandsporen im Darmkanal bei Impfmilzbrand.

Erster Versuch.

Der gesamte Darmkanal einer 1 Stunde vorher an Impfmilzbrand verendeten Maus wurde während 20 Minuten auf 80° C erhitzt und zu 16 Agarplatten verarbeitet. Dabei zeigten sich in 4 Platten von der Wand des Dickdarms aus wachsende Milzbrandkolonien. Vom Darminhalt aus wuchs kein Milzbrand.

Eine mit den betreffenden Kolonien geimpfte Maus ging nach 18 Stunden an Milzbrand zugrunde.

Zweiter Versuch.

Ein Stück Dickdarm eines an Impfmilzbrand umgestandenen Meerschweinchens wurde in obiger Weise auf Sporen untersucht. In einer Platte zeigte sich eine milzbrandähnliche Kolonie, die sich aber beim Verimpfen auf eine Maus als nicht pathogen erwies; hier konnte also der Nachweis von Milzbrandsporen nicht erbracht werden.

Es ist also erwiesen, daß Milzbrandstäbchen im Darmkanal kleiner Tiere Sporen bilden können, und ohne Zweifel wird sich der Darm der großen Haustiere in dieser Hinsicht nicht wesentlich anders verhalten. Bei dem akuten Verlauf der Krankheit aber dürfte es nur in den seltensten Fällen zur Ausscheidung der Sporen kommen; kann doch die Sporenbildung, die im günstigsten Falle 16 Stunden benötigt, erst dann beginnen, wenn infolge anatomischer Veränderungen Blut in den Darminhalt übergetreten ist.

Auch die folgende Erfahrungstatsache zeigt, daß man berechtigt ist, daran zu zweifeln, daß Milzbrandsporen vom kranken Tiere ausgeschieden werden.

Im Kanton Bern kommt sporadischer Milzbrand bisweilen vor, Enzootien aber sind selten. Die sporadischen Fälle sind fast alle auf die Verfütterung von importiertem Sesam zurückzuführen, während Enzootien davon herrühren, daß milzbrandkranke Tiere oft in der Tenne, deren Boden meist aus Holzbrettern besteht, notgeschlachtet werden. In den Fugen des Bretterbodens kann verspritztes Blut bei nicht peinlich durchgeführter Desinfektion bei Sommerwärme Anlaß zu Sporenbildung geben. Werden diese Sporen später als Staub aufgewirbelt, so können sie En-

zootien hervorrufen. Eine Verseuchung der Grundstücke durch Dünger, speziell durch Stalljauche, aber ist in hiesiger Gegend nicht nachgewiesen, obwohl die Stalljauche ohne hinreichende Desinfektion oft genug als Düngemittel zur Verwendung gelangt.

Ueber die Desinfektion und Verwendung der Stalljauche bei Milzbrandfällen fehlen in der schweizerischen Viehseuchengesetzgebung Vorschriften; das jeweilige Vorgehen geschieht nach einem eingelebten Usus:

1) Ist das Tier im Stalle abgestochen worden und ist dabei viel Blut in die Jauche gelangt, so wird dieselbe mit einem Desinfektionsmittel versetzt und an unschädliche Stellen, z. B. in eine Kiesgrube oder in den Wald, gebracht.

2) Ist das Tier nicht im Stalle abgestochen worden oder ist dabei nur wenig Blut in die Jauche geflossen, so wird dieselbe, nachdem sie mit einem Desinfektionsmittel versetzt worden ist, zur Düngung von Hackfrüchten verwendet. Dieses Grundstück darf erst nach 3 Jahren wieder zum Grasbau benutzt werden.

Als Desinfektionsmittel wird mit Vorliebe rohe Schwefelsäure gewählt. Die Menge beträgt gewöhnlich 20—40 Liter. Daß diese Menge zur Desinfektion nicht genügt, geht aus folgender Berechnung hervor:

Der durchschnittliche Alkaleszenzgrad der von mir untersuchten 25 Jaucheproben ist 1,515, d. h. 1 cbm dieser Jauche bedarf zur Neutralisation 2,13 Liter roher Schwefelsäure. Nach v. Lingelsheim (1) wirkt reine Schwefelsäure tödend auf Milzbrandstäbchen in einer Konzentration von 0,5 Proz., d. h. dieser mit 2,13 Liter roher Schwefelsäure neutralisierten Jauche müßten zur Abtötung der Milzbrandstäbchen pro Kubikmeter noch 5 Liter reine oder 5,24 Liter rohe Schwefelsäure zugesetzt werden. Um in einer Jauche von durchschnittlichem Alkaligehalt Milzbrandstäbchen abzutöten, bedarf es also eines Zusatzes von 7,37 Liter roher Schwefelsäure pro Kubikmeter Jauche. Daraus ersieht man, wie außerordentlich große Mengen roher Schwefelsäure zur Desinfektion der Stalljauche notwendig sind, besonders wenn man bedenkt, daß Jauchegruben bis zu 50 und mehr Kubikmeter Inhalt keine Seltenheit sind.

Die in praxi angewendeten Mengen dieses Desinfektionsmittels vermögen meist nur den hohen Alkaleszenzgrad der Stalljauche herabzusetzen, d. h. dieselbe eines ihrer anthraxbakteriziden Faktoren zu berauben.

Diese Desinfektion wird auch als eine problematische betrachtet, denn derart behandelte Jauche wird nur unter Einschränkungen zur Verwendung zugelassen. Sie wird, wie oben gesagt, zur Düngung von Hackfrüchten verwendet.

Vorausgesetzt aber, es finden sich in so behandelter Jauche noch lebensfähige Milzbrandkeime, so würde auch letztere Maßnahme wenig geeignet sein, dieselben unschädlich zu machen. Haftet doch den Hackfrüchten stets eine beträchtliche Menge Erde an, die auch durch die Zubereitung zur Fütterung bei weitem nicht vollständig entfernt wird.

Auch ist die Verwendung der Grundstücke zum Grasbau 3 Jahre nach der Düngung mit verseuchter Jauche gewiß noch mit Gefahren verbunden. Nach Sirena und Scagliosi (12) zwar halten sich Milzbrandsporen in der Erde nur 3 Jahre lang lebensfähig; nach allgemeiner Ansicht aber viel länger.

Daß ein solches Vorgehen nicht dazu führt, die betreffenden Aecker in Seuchenherde zu verwandeln, hat seinen Grund darin, daß Milzbrandsporen, wie schon gesagt, vom lebenden Tier nicht ausgeschieden werden,

milzbrandstäbchenhaltige Ausscheidungen und Blut aber unter den anthraxbakteriziden Einfluß der Stalljauche kommen bevor sich Sporen gebildet haben, oder durch die Stalldesinfektion unschädlich gemacht werden.

Andererseits aber ist die Möglichkeit der Verschleppung von Milzbrandkeimen durch die Stalljauche nicht unbedingt von der Hand zu weisen. Kein Zweifel kann gegen die Tatsache aufkommen, daß in der in einer Grube gesammelten Jauche eine Sporenbildung ausgeschlossen ist. Aber milzbrandbacillenhaltiges Material kann auf jauchefreie Stellen verspritzt werden, z. B. an die Wand der Jauchegrube oder auf einen auf der Jauche schwimmenden Körper. Bei genügendem Wärmegrad und Feuchtigkeit können sich hier Sporen bilden. Auch kann bei zu spät einsetzender Stallreinigung und Desinfektion die Sporenbildung schon abgeschlossen sein.

Als untere Grenze für die Sporenbildung bezeichnen Lehmann und Neumann (13) 12° ; Kitt (14) sagt, daß bei $12-16^{\circ}$ C, ferner bei $34-40^{\circ}$ nur ausnahmsweise Sporenbildung stattfindet.

Die Angaben der Zeit, die bei bestimmten Temperaturen zur Sporenbildung nötig ist, weichen etwas voneinander ab.

Nach Weil (14) bilden sich Sporen:

| | | | |
|--------------------|----|----|---------|
| bei 18° C | in | 50 | Stunden |
| " 24° C | " | 36 | " |
| " 31° C | " | 16 | " |

Nach R. Koch (15):

| | | | |
|---------------------|----|-------|---------|
| bei $30-40^{\circ}$ | in | 24 | Stunden |
| " $25-30^{\circ}$ | " | 35-40 | " |
| " 23° | " | 48-50 | " |
| " 21° | " | 72 | " |
| " 18° | " | 5 | Tagen |
| " 16° | " | 7 | " |

Um die Sporenbildung nach einer bestimmten Zeitdauer mit Sicherheit auszuschließen, ist es angezeigt, die geringere Stundenzahl anzunehmen.

Für die Praxis werden folgende Angaben genügen:

Die Sporenbildung ist beendet

bei $12-20^{\circ}$ C nach ca. 2 Tagen

" $20-25^{\circ}$ C " " $1\frac{1}{2}$ "

bei höherer Temperatur bis zu 43° C im günstigsten Fall nach 16 Stunden.

Sind dem Tierarzt bei der Desinfektion diese Normen gegenwärtig, dann muß es ihm möglich sein, falls er nicht zu spät gerufen wird, den ausgetretenen Milzbrandstäbchen die Sporenbildung zu verunmöglichen.

Ein Gebot der Klugheit ist es, die abgesetzten Faeces mit dem Kadaver zu beseitigen und die Stalldesinfektion unverzüglich vorzunehmen. Die Jauche ist alsobald mehrmals tüchtig umzurühren, um milzbrandstäbchenhaltiges Material in innigen Kontakt mit derselben zu bringen. Ferner ist angezeigt, die Jauchegrube so hoch mit Gülle nachzufüllen, daß die beim Umrühren benetzten Wände von Jauche bedeckt werden, um allenfalls hier haften gebliebene Milzbrandbacillen unter den Einfluß der Jauche zu bringen. Die nicht von Jauche gespülte, bei der Einflußöffnung gelegene Wandpartie, die durch das in die Grube eintretende infizierte Material beschmutzt worden ist, muß tüchtig gereinigt und mit Kalkmilchanstrich versehen werden.

Will man der Jauche ein Desinfektionsmittel zusetzen, so wird sich, wie die Viehseuchengesetzgebung des Deutschen Reiches (16) vorschreibt,

ein Zusatz von Kalkmilch empfehlen. Auf jeden Fall sind alkalisch reagierende Desinfektionsmittel den Säuren vorzuziehen.

Die so behandelte Jauche soll noch ca. 14 Tage in der Grube liegen bleiben und kann nachher zur Düngung verwendet werden.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Guillebeau für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung derselben, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) v. Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 201.
- 2) Engler [Inaug.-Dissert.] Bern 1910.
- 3) Kitt, Bakterienkunde. 1908. p. 274.
- 4) Schipp [Inaug.-Dissert.] Gießen 1906.
- 5) Stein [Inaug.-Dissert.] Gießen 1910.
- 6) Wyssokowitsch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 3.
- 7) Kitt, Bakterienkunde. 1908. p. 278.
- 8) Flügge, Die Mikroorganismen. 1886. p. 598.
- 9) Zitiert nach Hutyra und Marek, Pathologie. u. Therapie der Haustiere. Bd. 1. 1910. p. 4.
- 10) Ebenda. Bd. 1. 1910. p. 21.
- 11) Oppermann, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 32. 1906. p. 41.
- 12) Zitiert nach Hutyra und Marek, Pathologie u. Therapie der Haustiere. Bd. 1. 1910. p. 5.
- 13) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der spezifischen bakteriologischen Diagnostik. Teil 2. 1907. p. 403.
- 14) Kitt, Bakterienkunde. 1908. p. 273.
- 15) Kolle und Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganismen.
- 16) Instruktion des Bundesrates v. 27. Juni 1895. Anweisung für das Desinfektionsverfahren bei ansteckenden Krankheiten der Haustiere. § 11.

Nachdruck verboten.

Notes de Parasitologie.

[Laboratoire d'Histoire naturelle médicale et Parasitologie de l'Université de Jassy, Roumanie.]

Par N. Leon, Jassy.

Avec 2 figures.

Parasitisme accidentel. J'ai trouvé dans un appendice vermi-forme d'un cadavre de femme de la salle de dissection un myriapode dont le corps était intact et non attaqué par les sucs digestifs. Le cas étant relativement rare, j'ai cru intéressant de le signaler. Il est probable que l'animal a été introduit avec les aliments, comme il est encore arrivé dans d'autres occasions décrites par R. Blanchard. Le corps du myriapode (fig. 1) est relativement allongé et mince, d'environ 35 millimètres de longueur, avec environ quarante paires de pieds. Les antennes sont filamenteuses, la couleur du corps est marron clair. D'après les caractères externes ce semble être un *Geophilus longicornis*.

Simulium reptans. Ce simulide, je l'ai souvent trouvé tant dans les régions pellagreuses que dans celles qui ne le sont pas. Son appareil buccal est constitué de même manière que celui du *Simulium columbaczense* que j'ai décrit dans le Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 51.

H. 6. Dans ces derniers temps, Sambon a émis l'opinion que cet insecte serait l'agent de transmission de la pellagre.

Cette hypothèse ne me paraît pas vraisemblable parce que la pellagre est une maladie dont souffre seulement la population rurale besoigneuse. Si cet insecte en était en effet la cause, il s'en suivrait que la pellagre, comme le paludisme, infesterait toutes les classes sociales, puisque le *Simulium* ne choisit pas, il pique, comme les anophèles, non seulement la population rurale mais encore les habitants des villes.

Les anophèles et leurs larves. Quand j'ai examiné au mois de juillet 1911 le contenu du tube digestif des larves d'*Eschua*, des marais du Delta du Danube, j'ai toujours trouvé chez la plupart des fragments de larves d'anophèles en très grandes quantités.

Partant des expériences de Gerhardt, Baccelli, Tomasi-Crudelli, Celli etc. qui ont démontré que si l'on injectait quelques gouttes de sang d'un individu atteint de malaria à un individu sain, il se reproduit bientôt chez ce dernier le type de la fièvre du premier, Montori de Francisco proteste contre le fait que les anophèles seraient le seul agent de propagation du paludisme. Il se demande pourquoi il serait impossible au *Culex* ou à un autre insecte piqueur de faire ce que fait l'anophèle.

Pourquoi la trompe d'un *Culex* ne pourrait-elle produire le même effet que l'aiguille de seringue de Pravaz? Puisqu'elle aussi s'enfonce dans la peau d'un homme atteint de malaria et a trempé dans le sang qui contenait des parasites.

Pour nous rendre compte jusqu'à quel point cette objection est fondée, je me suis laissé piquer par plusieurs *Culex* et punaises et je les ai examinés aussitôt qu'ils ont cessé de me sucer, et je trouvai que la quantité de sang de leur bouche était tellement minimale qu'elle est vite séchée pendant les journées chaudes de juillet. Il ne peut donc être question de faire une comparaison entre la quantité de sang qui reste sur le rostre d'un insecte après qu'il a sucé et la quantité de sang injectée par Gerhardt, Baccelli etc. pour démontrer la transmissibilité directe de la malaria. Le sang qui reste sur la bouche des insectes suceurs étant insuffisant, l'inoculation de l'hématozoaire ne peut être produite que par de la salive injectée par des anophèles.

Myiase. Notre cas de myiasis décrit dans les *Archiv. de Parasitol.* (2) a paru si extraordinaire que le professeur Karol Sajo de l'Uni-

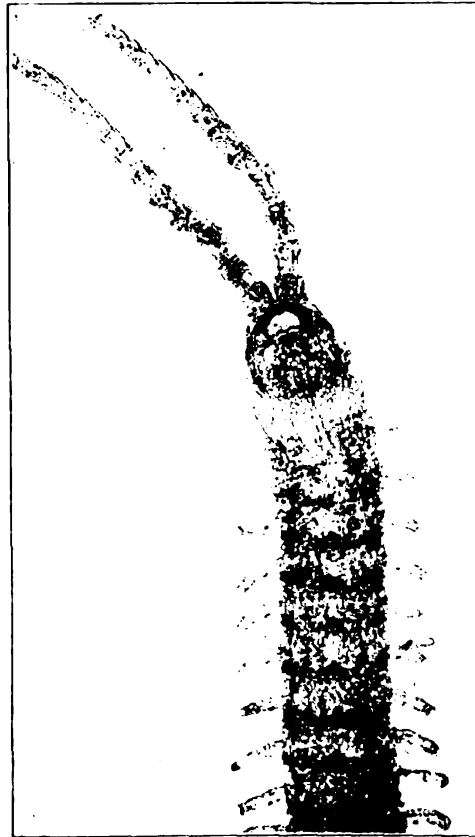


Fig. 1. Myriapode trouvé dans l'appendice d'un cadavre humain.

versité de Budapest a écrit dans la revue allemande «Prometheus» un article intitulé „Die vermeintlichen Zahnwürmer“.

L'auteur de l'article dit que l'on trouve aussi en Hongrie, à la campagne, l'habitude des fumigations dans la bouche pour les maux de dents et les abcès aux gencives. On y croit que ce sont des vers qui produisent ces abcès et que les fumigations les font sortir de la bouche. Ces vers ne seraient que les funicules des semences de hyoscyamus à l'aide desquelles elles adhèrent au placenta. Il est vrai que les funicules se détachent et qu'un homme du peuple pourrait leur trouver une certaine ressemblance avec de petits vers, mais ils ne pourront jamais être confondus avec des larves par des personnes qui ont vu des larves d'insectes.

Dans le village de Posesti, département de Prahova, on m'amena un jour une femme du peuple, d'environ 35 ans, avec un abcès à la gencive et dans cet abcès il y avait des larves de mouche. J'ai enlevé les larves qui étaient au nombre de quatre. Je les ai mises dans un vase de verre sur un morceau de viande et j'ai fermé le vase avec un morceau de toile peu serrée pour y empêcher l'introduction des mouches. Trois des larves sont mortes tandis que de la quatrième larve il est sorti une mouche. C'était le *Sarcophaga Wohlfahrti*. Le retard provenu dans le développement provient probablement du changement de milieu dans lequel elle s'est développée.

J'ai encore eu cette année un cas de myiase produit par la larve de ce diptère dans l'oreille d'un enfant. Il m'a été envoyé par le Docteur Imer vol de l'hôpital des enfants «Caritatea». Un autre cas s'est présenté à notre chien: il a été probablement mordu par un autre chien à la partie inférieure de l'oreille gauche. Cela a passé d'abord inaperçu; quand je l'ai remarqué j'ai retiré de la plaie cinq larves de *Musca vomitoria* (fig. 2).

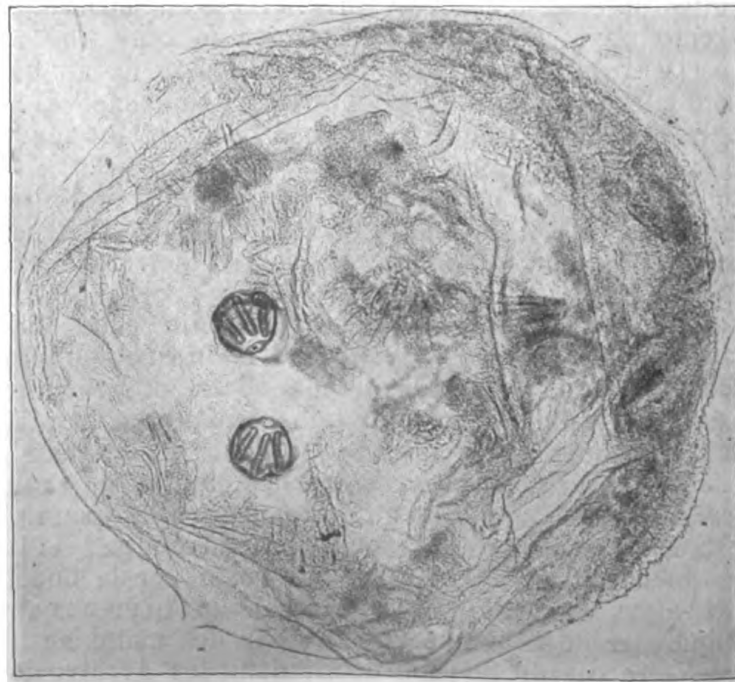


Fig. 2. Extrémité anale de la larve de *Musca vomitoria*.

Les cercaires dans nos espèces de Limnaeus. On parle dans presque tous les traités de parasitologie et d'helminthologie de la distomatose des herbivores. En France elle est connue sous le nom de Douve, Cachexie aqueuse, Pourriture, Bête pourrie, Mal de foie, Foie donné, Douvette, Jaunisse etc.; en Allemagne, Leberfäule, Leberegelkrankheit, Egelfäule, Leberegelseuche, Anbrüchigkeit; en Angleterre, Rot, Rot dropsy; en Italie, Bisciucola, Marciupe; en Hollande, Hot ougans etc. Il n'en est pas dit un seul mot en Roumanie quoiqu'elle y soit fréquente et y soit même connue sous le nom populaire de galbaza.

Les distomiens de cette maladie sont si communs que sitôt que nous en avons besoin, nous les trouvons dans le foie de bestiaux à l'abattoir. C'est ce qui m'a amené à examiner nos espèces de *Limnaeus* des cercaires que l'on n'a pas encore trouvés chez nous. Dans le cours du mois de juillet 1911 sur deux de quinze exemplaires de *L. truncatulus* des marais du Delta du Danube, j'ai trouvé un grand nombre de cercaires faciles à reconnaître par leur forme caractéristique ovale et aplatie avec une ventouse buccale et une autre ventrale qui se remue à l'aide de la queue. Il sont visibles à l'œil, surtout quand ils sont nombreux.

Oeufs de *T. solium* et de *T. echinococcus* transportés par des mouches. J'ai isolé des œufs d'un segment de *Taenia solium* récemment obtenu, je les ai mélangés avec du miel dilué dans de l'eau et j'en ai laissé se nourrir un certain nombre de mouches; j'ai examiné ensuite les matières fécales déposées par ces mouches et j'ai trouvé les œufs de *Taenia* intacts.

J'ai renouvelé cette expérience avec des œufs isolés de segments adultes frais de *T. echinococcus* et le résultat a été le même.

Ces expériences me font croire que les mouches peuvent servir de véhicule d'infection de la ladrerie et de l'échinococcose; quand une mouche a sucé des matières fécales d'homme ou du chien dans lesquelles se trouvent des œufs de *T. solium* ou du *T. echinococcus*, elle peut très facilement les déposer avec ses matières fécales à elle sur les substances qui servent de nourriture à l'animal. J'ai fait des expériences analogues avec le *Bothriocephalus* (4).

***Bothriocephalus latus*.** J'ai trouvé deux fois chez des chiens dans l'intestin grêle un *Bothriocephalus latus*, l'un de deux mètres de long et l'autre de deux mètres trente.

Relativement à l'étude du *Bothriocephalus* il a été fait dans notre laboratoire une thèse de doctorat par M^{me} Leon (6) qui, se basant entre autres sur vingt-sept observations, dont sept complètement étudiées aussi au point de vue hématologique, conclut, contrairement aux avis des différents auteurs (Reyher, Runberg etc.), que les porteurs de *Bothriocephalus* de Roumanie n'accusent pas de symptômes cliniques ni hématologiques d'anémie pernicieux.

Depuis plus de douze ans nous poursuivons l'action des *Bothriocephalus* chez les personnes, chez lesquelles ils se trouvent, chez nous dans le pays, j'ai souvent reçu à mon laboratoire des *Bothriocephalus* provenant de personnes qui n'ont jamais présenté de symptômes d'anémie pernicieux, comme l'affirment les médecins eux-mêmes, d'autant plus que la plupart sont des personnes connues de Jassy, que nous voyons tous les jours et qui jouissent de la plus parfaite santé. Certaines de ces personnes ont en même deux *Bothriocephalus* simultanément ou consécutivement trois.

Ascaris Mystax. J'ai trouvé pour la seconde fois à Jassy cet helminthe chez l'homme. En 1909 j'en ai trouvé deux exemplaires chez un enfant et cette année-ci on m'a envoyé toujours de l'hôpital d'enfants «Caritatea» trois exemplaires des selles d'un enfant d'Israélite.

La femelle est longue de 10 centimètres et les deux mâles de 5 à 6 centimètres. L'examen microscopique ne laisse aucun doute que ces vers soient des *A. Mystax*, ils présentent d'un côté et de l'autre de la partie antérieure, les deux crêtes aliformes caractéristiques.

Trichocephalus. Tous les auteurs ne sont pas d'accord sur la manière dont se nourrissent les *Trichocephalus*. Les uns croyaient qu'ils se nourrissent de chyme ou de matières fécales. Askanazy, en 1896, a été le premier qui a admis la nutrition hématique et a traité le parasite avec du ferrocyanure de potasse et de l'acide chlorhydrique. Il a constaté que son intestin se colore en bleu foncé, réaction appelée bleu de Prusse. Il en conclut que les pigments ferrugineux de l'intestin du ver proviennent du sang que le *Trichocephalus* doit sucer des vases des parois intestinales. On lui a objecté qu'il y a aussi du fer dans les matières fécales de sorte que l'argumentation d'Askanazy n'est pas restée définitive.

D'autres auteurs prétendent que ce parasite ne peut se nourrir de sang à cause de l'étroitesse de son orifice buccal. Guiart et Charles Garin (1) ont trouvé à l'autopsie de typhiques deux *Trichocephalus* gorgées de sang.

A la dissection d'un chien faite aux travaux pratiques pour démontrer les mouvements des différents helminthes, j'ai trouvé huit *Tr. depressusculus* sur la surface de la muqueuse dans le coecum. Ils étaient tous vivants, enfoncés par leur extrémité antérieure effilée dans la paroi de l'intestin, tandis que par la partie enflée ils restaient libres dans l'intestin. Leur intestin était gorgé de sang. Je les ai retirés de l'intestin du chien qui était encore chaud, je les ai bien lavés dans de l'eau distillée; j'ai préparé l'intestin de l'un d'eux, je l'ai rompu sur une lame de verre; il en a coulé une goutte de sang dont on voyait qu'elle avait été fraîchement sucée, le microscope montrant que les globules étaient encore intacts. Ce fait confirme l'opinion de Guiart et Garin que la nutrition des *Trichocephalus* est hématique.

Index bibliographique.

- 1) Garin, Charles, L'entérite trichocéphalienne. Paris (A. Maloine) 1911.
- 2) Leon, N., Quelques cas de Miyase observés en Roumanie et leur traitement par les paysans. (Arch. de parasitol. T. 1. 1898.)
- 3) — —, Notes de Parasitologie Roumaine. (Ibid. T. 3. 1900.)
- 4) — —, Contribution à l'étude des parasites animaux de Roumanie. (Bull. d. méd. et natural. Jassy 1908. No. 9 et 10.)
- 5) — —, Contribution à l'étude des parasites animaux de Roumanie. (Anuarul jubilar al Universit. dir Jasi. Jassy 1911.)
- 6) Leon, Lucia N., Contributiuni la studiul *Bothriocephalus* dir Romania. [Thèse.] Jassy 1911.

Digitized by Google



1



2



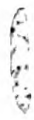
3



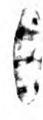
4



5



6



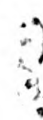
7



8



9



10



11



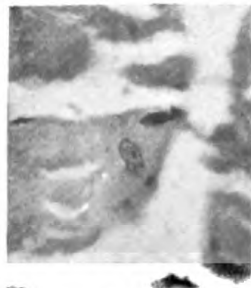
12



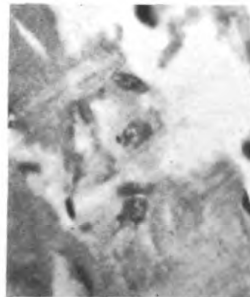
13



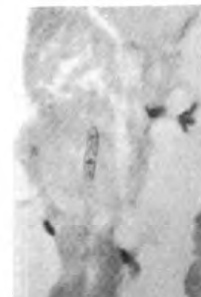
14



15



16



17

Dorcich ad nat. del.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Nachdruck verboten.

Studien über Sarkosporidien.

Von **L. v. Betegh** und **P. Dorcich**, Fiume.

Mit 1 Tafel.

Sowohl bezüglich des Entwicklungsganges der in den Muskelfasern schmarotzenden Sarkosporidien als auch der Art und Weise ihrer Einwanderung in die Muskelfasern sind unsere Kenntnisse noch ziemlich lückenhaft. Die Erforschung dieser Fragen ist noch ein dankbares Gebiet, denn mit der Klarstellung derselben wäre auch die jetzige systematische und noch viel mehr die Speciesfrage näher präzisiert. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird diese letztere schon in der nächsten Zukunft manche Aenderungen erleiden müssen. Die Lösung dieser Frage ist aber nur dann als sicher zu betrachten, wenn es gelingt, absolut sarkosporidienfreie Tiere mit diesen Protozoen zu infizieren und nach bestimmtem Zeitraume nach der erfolgten Infektion durch systematische Untersuchung der Muskelfasern zu prüfen. Aber eben hinsichtlich der Infektionsmöglichkeit waren bis vor kurzer Zeit die Meinungen verschieden. Wir wußten, daß in mancher Tiergattung diese Protozoen stationär sind. Aber die nachweisbaren Formen derselben in den einzelnen Tiergattungen stellen schon sehr weit fortgeschrittene Entwicklungsstadien dar. Bei diesen können höchstens die Strukturfeinheiten erforscht werden. Die Vorstufen der früheren Entwicklung sind bis dato noch mangelhaft untersucht. Diese Fragen sind also nur durch systematische Fütterungs- und Infektionsversuche endgültig lösbar.

Nach ähnlichen Prinzipien sind schon Untersuchungen gemacht worden, welche sehr wertvoll sind. Der erste, der solche Versuche gemacht, ist Szentkirályi; die Resultate waren jedoch negativ. Positive Resultate erzielten dagegen mehrere Forscher. Es muß an erster Stelle Smith erwähnt werden, der mit *S. muris* experimentierte. Seine Versuche stellten aber eher die Möglichkeit fest, daß man experimentell die Sarkosporidiose zustande bringen kann. Er legte weniger Gewicht auf die eingehendere Erforschung der feineren Einzelheiten des Entwicklungsganges, sondern trachtete eher, durch die positiven Resultate seiner sonst wertvollen Untersuchungen die Aufmerksamkeit der Forscher darauf zu lenken. Und das gelang ihm unzweifelhaft, denn infolge der Zutageförderung dieser Tatsachen unternahmen auch andere Forscher die Wiederholung ähnlicher Versuche. So konnten Koch und Negri die Smithschen Beobachtungen bestätigen. Desgleichen wurden diese durch die klassischen Versuche Negri's bestätigt und ergänzt. Die eben erwähnten Autoren verwendeten Mäuse zu ihren Versuchen. Dagegen erforschte Negri diese Frage von einem neuen Standpunkte aus. Er untersuchte die Frage, wie sich andere Tiergattungen gegenüber der experimentellen Sarkosporidiose verhalten. Zu diesem Zwecke verwendete er Meerschweinchen, welche, wie bekannt, noch nie mit Sarkosporidiose behaftet gefunden worden sind. Es gelang ihm, experimentell durch Infektion die Sarkosporidiose zu erzielen. Aehnlich sind auch die Resultate von Erdmann, dem die Infektion der Mäuse mit *S. tenella* gelang.

Die Möglichkeit der experimentellen Sarkosporidiose ist somit als unzweifelhaft erwiesen zu betrachten. Auf Grund dieser Tatsachen war Gegenstand neuer Untersuchung, ob die Sarkosporidiose der Säugetiere auf Vögel übertragbar ist. Bekanntlich sind in den Vögeln Sarkosporidien auch schon vorgefunden worden. So fand Kühn, Rivolta, Stiles, v. Rátz, v. Betegh in Vögeln Sarkosporidien. v. Betegh hat in 13 Jahren dreimal allgemeine Sarkosporidiose bei der Hausente gefunden. v. Rátz beschreibt in der umfangreichen und ausführlichen Monographie dieser Protozoen aus der Muskulatur der Henne eine neue Art, *S. Horváthi* Rátz. Es ist die Möglichkeit vorhanden, daß die Sarkosporidien im Organismus der Vögel ihre Lebens- und Entwicklungsbedingungen vorfinden.

Die Versuche, welche wir zu machen beabsichtigten, waren von verschiedenem Standpunkte aus interessant. Es handelte sich einerseits

25*

um eine, auf biologischer Basis von den Säugetieren von Grund auf verschiedene Tiergattung, deren Normaltemperatur auch höher ist als diejenige der Säugetiere, in welchen die Sarkosporidien vorwiegend schmarotzen. Und andererseits schien uns die Lösung der Frage auch vom Standpunkte der Art sehr wichtig. Denn im positiven Falle unserer Versuche ist die Berechtigung der jetzigen Arzteinteilung zum mindesten fraglich, was übrigens auch schon von Negri betont wurde. Wir rechneten a priori mit den erwähnten biologischen Schwierigkeiten und haben uns zu einer langdauernden Fütterungsinfektion entschlossen. Bei jeder Gelegenheit verabreichten wir den Tieren viel Infektionsmaterial. Es wurden viele Cysten, welche sofort nach der Schlachtung der Schafe aus den Oesophagen herausgeschnitten wurden, fein zerhackt und den Tieren, die vorher einige Stunden gehungert hatten, ohne anderes Futter vorgelegt. Die Tiere wurden jedesmal in Käfige eingesperrt und dort so lange gelassen, bis sie allen vorgelegten Infektionsstoff konsumiert hatten. Dann wurde ihnen auch anderes Futter — Mais, Hafer, Gras und Abfälle — gereicht. Das Zerhacken der Cysten hatte nur den Zweck, die Sporozoiten frei zu machen.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir einen Hahn und 2 Enten. Wir nahmen gleichzeitig 2 Kontrollenten in Beobachtung.

I. Versuch (Hahn).

Infektionsmaterial wurde verabreicht am:

- 10. 3. 10 einige Cysten,
- 12. 3. 10 "
- 20.—24. 3. 10 " täglich viele Cysten,
- 1. 4. 10 viele Cysten,
- vom 2. 4. bis 1. 6. 10 in verschiedenen kurzen Zeiträumen viele Cysten.

Am 16. 6. 10 wurde das Tier getötet. Bei der Obduktion war der makroskopische Befund negativ. Es wurden minutiös die Muskel der Brust, Flügel, Füße, Magen und Herz untersucht.

II. Versuch (graue Ente I).

Sie bekam am:

- 6. 4. 10 viele Cysten,
- 7. 4. 10 "
- 26. 4. 10 viele Cysten,
- vom 27. 4.—30. 8. 10 in verschiedenen Zeitabständen bedeutende Mengen von Infektionsmaterial.

Am 24. 9. 10 wurde die Ente getötet. Der makroskopische Befund negativ.

III. Versuch (graue Ente II).

Sie wurde an denselben Tagen mit derselben Menge Infektionsmaterial gefüttert wie Ente No. I. Sie wurde auch am 24. 9. 10 getötet. Der Befund war makroskopisch ebenfalls negativ. Am selben Tage wurden die Kontrollenten auch getötet, gleichfalls mit negativem Befunde.

Von den erwähnten Tieren wurden verschiedene Muskelstücke in Alkohol fixiert und gehärtet. Einbettung in Paraffin. Die Schnitte 5 μ dick. Färbung nach Giemsa mit nachstehender Modifikation: Xylol, Alkohol, Wasser. Zu 2—3 Tropfen Giemsa-Lösung 15—20 Tropfen Methylalkohol. Färbung einige Minuten. Abwaschen der Farbe mit Aethylalkohol. Die Schnitte haben einen rötlich-violetten Ton. Kurze Nachfärbung mit Löfflers Methylenblau. Entwässern, Xylol, Kanada. Die Muskelfasern rot-rotviolett, Kerne und Parasiten dunkelblau.

In allen 3 Fällen konnten wir eine allgemeine Sarkosporidiose der Muskulatur nachweisen. Die meisten fanden wir in der Muskulatur der Enten und auch hier in bedeutender Menge im Magen (Ventriculus muscularis). In den Muskeln dieser Tiere fanden wir die

kleinste bis jetzt überhaupt sicher nachgewiesene Entwicklungsform dieser Protozoen (Fig. 1) mit $3,6 \mu$ Breite und 4μ Länge. Die Struktur dieser Gebilde ist wenig kompliziert. Sie sind von einer feinen, dünnen und strukturlosen Membran umgeben. Die Sporoblasten führen kleine Sporozoiten, in welchen Teilungsvorgänge nachweisbar sind. In diesen Sporoblasten sind intensiv gefärbte Körnchen zu sehen, welche von einem lichterem, ganz homogenen Hofe umgeben sind (Fig. 4, 5, 16). Zwischen zwei solchen kleinen Gebilden ist eine äußerst dünne Wand nachzuweisen, wodurch eine gewisse Zelleinteilung entsteht (Fig. 4, 5, 7, 10, 11—13). Die Sporozoiten sind teils ganz homogen, teils fein granuliert (Fig. 1, 7, 8, 12, 13). Das Chromatin ist meistens im zentralen Teile der Sporozoiten zu sehen als mehr oder weniger segmentierte, oder gelappte, oder körnige Substanz. Die kleinsten Sporoblasten sind rundlich oder ovoid (Fig. 1, 2). Wenn mehr als drei Sporozoiten nachweisbar sind, dann entsteht die ovale resp. längliche Form (Fig. 3—14, 15, 17). Die Enden sind eher abgerundet als zugespitzt. Wenn mehrere Chromatinkörnchen vorhanden sind, kann man schon eine gewisse Regularität in der Anordnung beobachten. Die Sporoblasten sind dann immer länglich, die Konturen der einzelnen Sporozoiten genauer und präziser. Bei größeren Exemplaren findet man die Chromatinkerne abwechselnd bald auf der einen, bald auf der anderen Seite der Schläuche, wodurch Doppelreihen entstehen (Fig. 13, 14). Die Struktur dieser Gebilde ist vollkommen gleich derjenigen, welche Negri beschrieben und abgebildet hat. Diese Sporoblasten sind länglich und haben $10-20-30 \mu$ Länge. Im mittleren Teile sind sie etwas breiter als an den Polen (Fig. 7, 9). Sie sind vorwiegend im mittleren Teile der Muskelzelle zu sehen (Fig. 17); die kleineren dagegen näher der Peripherie der Zelle (Fig. 15, 16). Ihre Einwanderung in die Muskelzelle ist höchstwahrscheinlich eher eine passive als eine aktive, zufolge des gegenseitigen Druckes der Fasern aufeinander. In den Fasern ist keine Spur einer Reaktion nachzuweisen. Die Form der Sporoblasten fanden wir abhängig von dem Drucke der Fasern. Je ausgesprochener der Druck infolge der Kontraktion, desto länglicher ist die Form der Sporoblasten. Im Magen der Enten fanden wir die größeren Sporoblasten ausnahmslos länglich und an beiden Spitzen etwas zugespitzt (Fig. 6, 14). In der anderen Muskulatur sind sie etwas plumper (Fig. 15, 16). Wir wollen hier noch bemerken, daß in der Muskulatur in manchem Gesichtsfelde (Okular 4, homog. Immersion) 3—4 Sporoblasten zu sehen waren.

Wir wollen noch einiges über den Zweck der langdauernden Fütterungsinfektion mitteilen. Dadurch, daß die Tiere während einer langen Zeit mit infiziertem Material gefüttert wurden, wollten wir bezwecken, daß sich die eventuell entwickelnden Sporoblasten gut entwickeln, ferner daß durch Infektion verschiedenen Alters die verschiedensten Entwicklungsstadien zu Gesichte zu bekommen wären. Die Resultate unserer Versuche, obwohl wir daran etwas zweifelten, sind sehr überraschend, und wir haben unser Ziel vollkommen erreicht. Es ist uns inzwischen eine Sache auffallend gewesen. Die größten Sporoblasten hatten ca. 30 bis 35μ nach einer Infektionsdauer von etwa 4 Monaten. Die Sporoblasten gleichen Alters der Negrischen Versuche sind bedeutend größer. Es ist nicht ausgeschlossen, ja sogar wahrscheinlich, daß die Entwicklungsbedingungen im Vogelkörper für die Sarkosporidien der Säugetiere bedeutend ungünstiger sind als im Organismus des Meerschweinchens

oder der Maus. Vielleicht kann in dieser Hinsicht die höhere Normaltemperatur der Vögel auch beträchtlich beigetragen haben.

Die klassischen Versuche von Negri und Smith werden durch die unsrigen in unzweifelhafter Weise bestätigt. Bei diesem Stande der Tatsachen ist nun wahrhaftig die Berechtigung der bisherigen Species-einteilung eine fragliche geworden. Wir sehen, daß z. B. die *S. tenella* im Körper der Maus, des Meerschweinchens, des Huhnes, der Ente sich gleich entwickelt wie im Schafe. Ob sich verwertbare Unterschiede hinsichtlich der Strukturfeinheiten, der Form, Größe, in den in den verschiedenen Tiergattungen experimentell darstellbaren Entwicklungsformen dieser Protozoen nachweisen lassen, bleibt einstweilen dahingestellt. Aus unseren Angaben ist die Annahme berechtigt, daß es sich um geringwertige Unterschiede handelt. Es ist nun außer Zweifel, daß sich die Sarkosporidien im Organismus verschiedener Tiergattungen — Säugtiere, Vögel, Kaltblüter — ansiedeln können und daß die in denselben vorkommenden Sarkosporidien vielleicht eine Art sind, welche in vielen Tiergattungen vorkommen. Die endgültige Beantwortung dieser Frage ist Gegenstand der zukünftigen Untersuchungen. Wir setzen unsere Untersuchungen fort und werden trachten, die Struktur der jetzt bekannten sogenannten Arten vergleichend zu untersuchen. Durch Wiederholung der Experimente wollen wir die weitere Entwicklung der Sporoblasten von der oben beschriebenen primitivsten Struktur bis zu denjenigen Formen verfolgen, welche die bekannten Cystenformen darstellen.

Literatur.

- Szentkirályi, A Miescher-féle tömlök. Die Miescherschen Schläuche. Kolozsvár 1881.
 Smith, The Journ. of experim. Med. 1901.
 Koch, Verhandl. d. V. Intern. Kongr. 1901.
 Negri, Compt. rend. Soc. Biol. T. 30.
 —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47; ibid. Bd. 47. H. 5; ibid. Bd. 55. H. 5.
 Erdmann, ebenda. Bd. 53. H. 5.
 Kühn, Mitteil. d. Landw. Inst. Halle. 1865.
 Rivolta, Parasiti vegetali. p. 390. Zit. n. v. Rätz.
 Stiles. U. S. A. Dept of Agric. Bur. of Anim. Ind. 1893.
 v. Rätz, Allattani Közlemények. T. 8. 1909. H. 1—2.
 v. Betegh, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1909.
 Teichmann, Handb. d. path. Protozoen. 3. Lieferung. 1912. p. 345—360.

Nachdruck verboten.

Ein Verderber des Wasserbären *Macrobiotus lacustris* Duj., *Macrobiotophthora vimariensis* (Reukauf).

Von E. Reukauf, Weimar.

Mit 10 Abbild. im Text nach Mikrophotogrammen und Zeichnungen des Verfassers.

In einem an Macrobioten (Bärtierchen) stark angereicherten Springbrunnenbassin des Belvederer Parks bei Weimar fand ich im Jahre 1909 in *Macrobiotus lacustris* Duj. einen an *Empusa* erinnernden Pilz, der noch nicht bekannt sein dürfte, und den ich, da er einer besonderen Gattung anzugehören scheint, *Macrobiotophthora vimariensis* benennen will. Er trat nur in der genannten Art auf; keine der drei anderen

in Gemeinschaft mit dieser dort vorgefundenen *Macrobiotus*-Formen war jemals damit behaftet.

Abbildung 1 zeigt uns ein Tier, das mit Infektionskörpern geradezu vollgefropft ist. Diese können wohl bei oberflächlicher Betrachtung mit

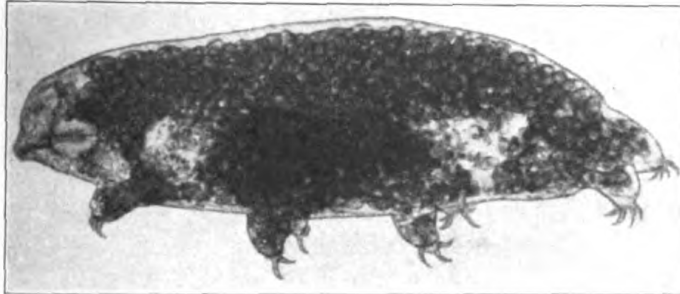


Fig. 1.

den den Macrobioten eigentümlichen, frei in der Leibeshöhle liegenden Fettkörpern verwechselt werden, enthüllen aber bald ihre wahre Natur, wenn man ein infiziertes Tier isoliert und weiter beobachtet. Dann zeigt sich vielleicht schon am nächsten Tage, daß die Infektionskörper zu Pilzschläuchen auswachsen, welche die Oberhaut des Tieres durchbohren (Abbildung 2) und schließlich den Kadaver in ähnlicher Weise mit einem zarten Schleier umhüllen, wie es *Achlya* mit im Wasser liegenden Insektenleichen tut (Abbildung 3). Fettzellen weist das in Fig. 1 abgebildete Tier, das aber in diesem Zustande noch leben kann, gar nicht mehr auf; sie sind offenbar von den Infektionskörpern aufgezehrt. Der Tod der infizierten Tiere tritt gewöhnlich erst dann ein, wenn die Infektionskörper auskeimen und die Schläuche die Oberhaut durchbrechen.

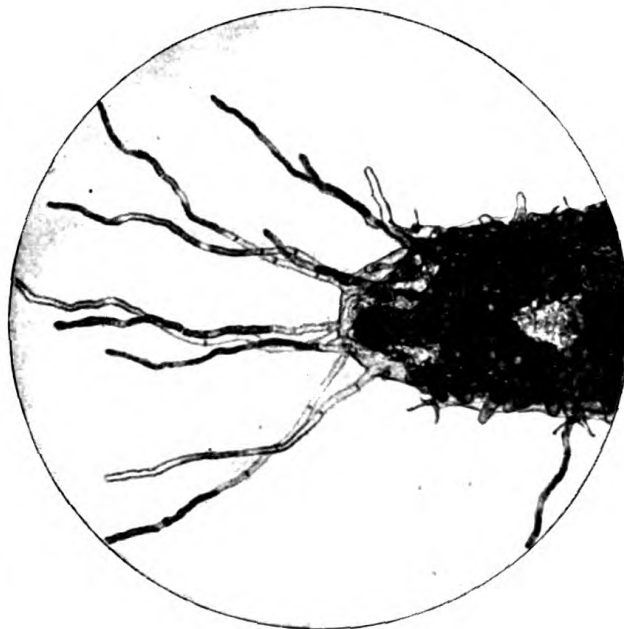


Fig. 2.

Die im Innern der Tiere durch Teilung sich vermehrenden länglichen Infektionskörper werden durch Abbildung 4 veranschaulicht. Sie sind farblos, zeigen feinkörnigen Inhalt und zuweilen auch größere oder kleinere Vakuolen und runden sich nach dem Ausdrücken im Wasser ab. Die daraus hervorwachsenden, meist einfachen, hin und wieder aber auch geteilten Schläuche (Abbildung 5) sind septiert und zeigen immer nur den letzten Abschnitt mit Plasma gefüllt. Auch in ihnen kommen größere Vakuolen vor.

Die Schläuche schnüren an ihren Enden eiförmige Konidien (Fig. 6) oder dickwandige Sporen ab (Fig. 7). Erstere treiben dann neue Schläuche aus (Abb. 8), die, wenn sich Gelegenheit bietet, in gesunde Tiere eindringen, oder sie bilden nach Entwicklung eines kurzen Promycels

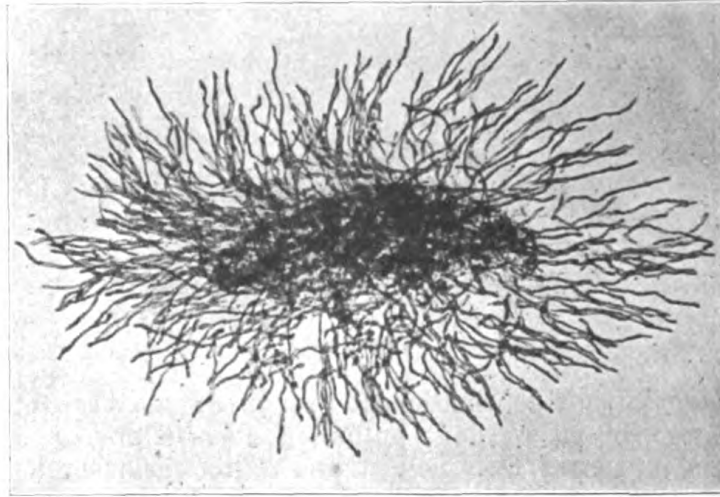
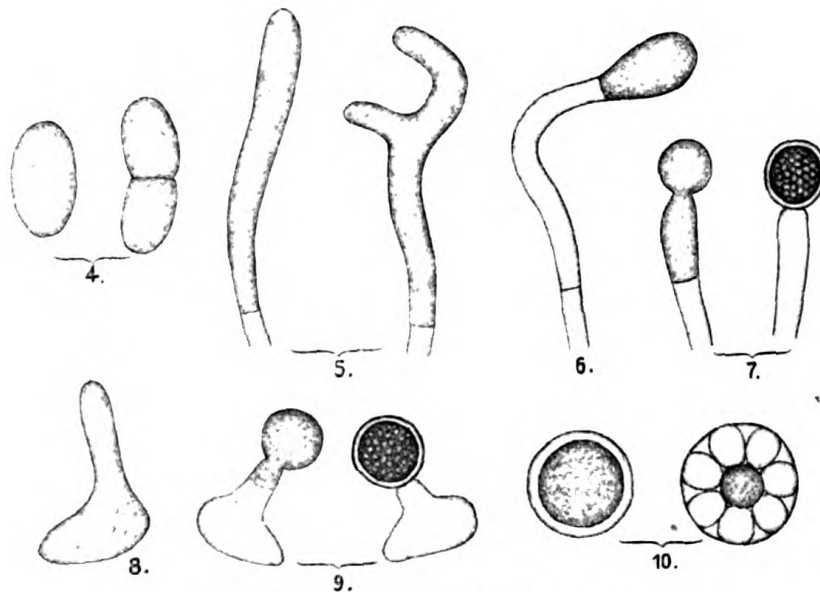
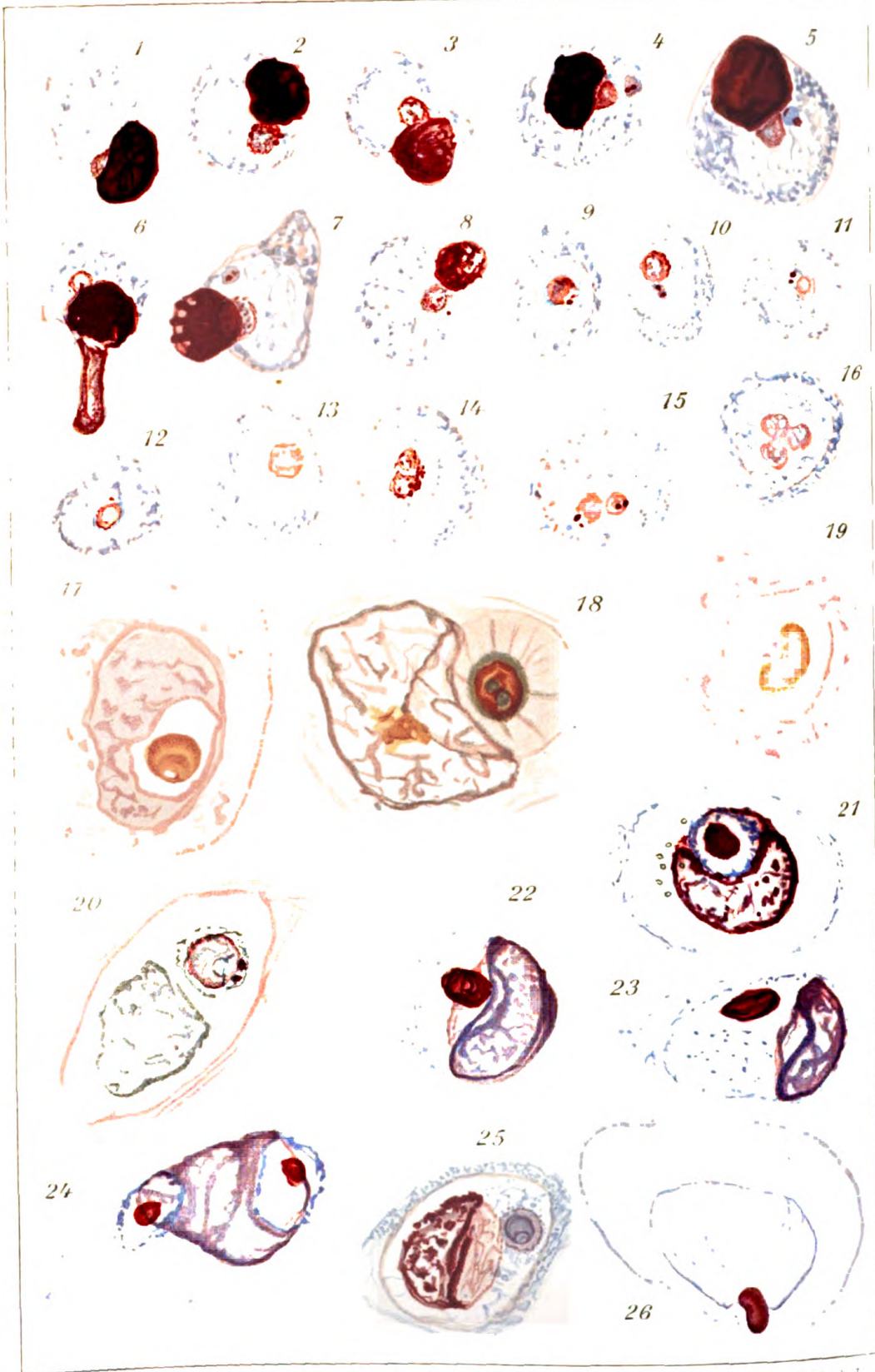


Fig. 3.



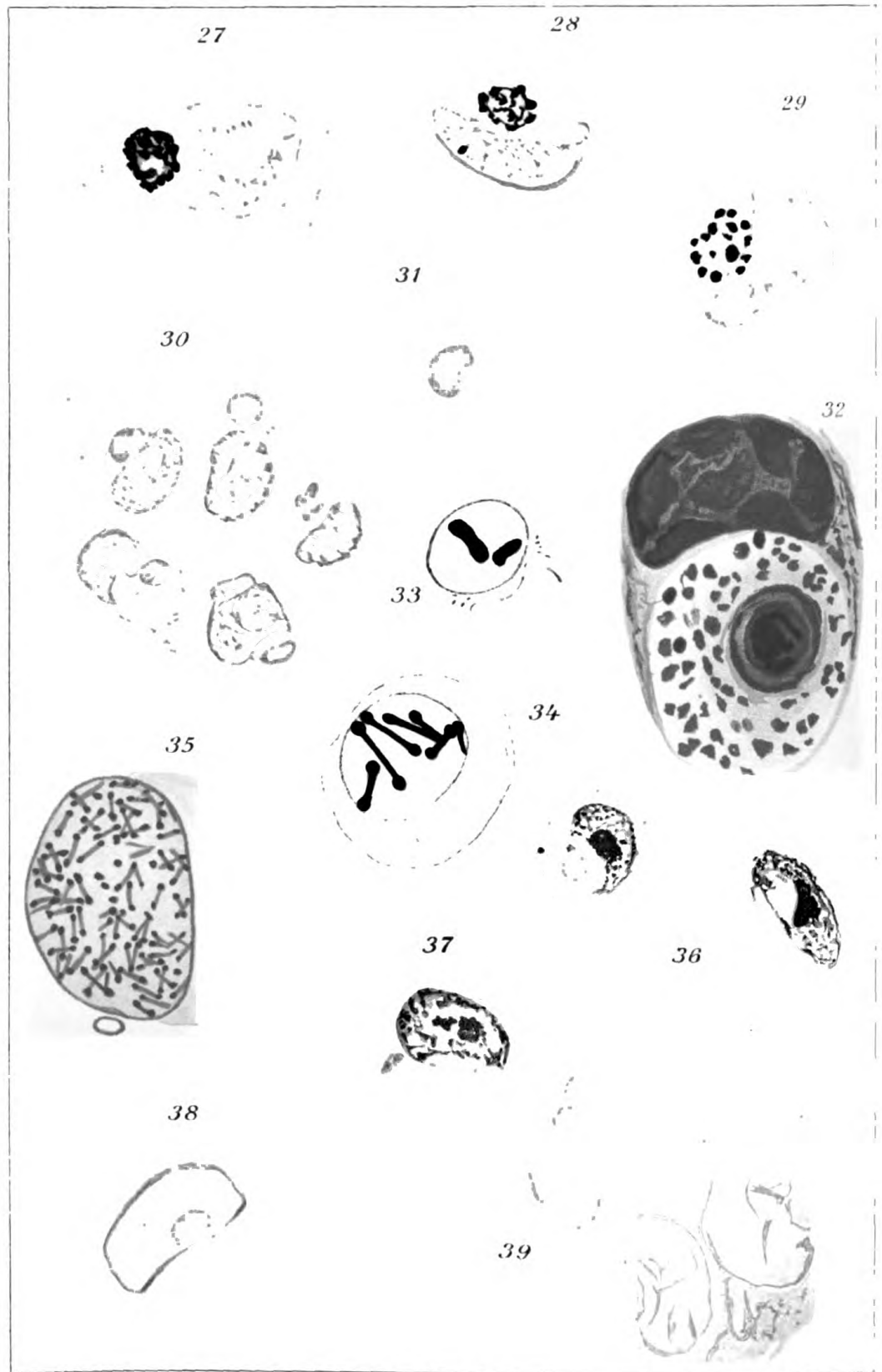
Erklärung der Abbildungen.

- 1) Stark infiziertes Exemplar von *Macrobiotus lacustris*. Vergr. 125:1.
- 2) Vorderende eines stark infizierten Tieres mit auswachsenden Pilzschläuchen. Vergr. 150:1.
- 3) Kadaver von *Macrobiotus lacustris* mit Mycelhülle. Vergr. 75:1.
- 4) Infektionskörper aus dem Innern eines Tieres.
- 5) Enden von aus den Infektionskörpern hervorgegangenen Schläuchen.
- 6) Schlauchende mit sich abschnürender Konidie.
- 7) Schlauchenden mit Sporenbildung.
- 8) Auskeimende Konidie.
- 9) Konidien mit Sporenbildung.
- 10) Zweifelhafte Infektionskörper aus encystierten Tieren im Durchschnitt. Vergr. bei 4—10 = 600:1.



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. A. G. Schöler in Jena



Verlag von Gustav Fischer in Jena

Tafel 2

gleichfalls dickwandige Sporen (Fig. 9), die wohl der Erhaltung der Art über Trockenperioden hinweg sowie der Weiterverbreitung in Schlammteilchen dienen.

Auch in encystierten Tieren habe ich mehrfach die oben beschriebenen Infektionskörper vorgefunden. Daß auch die in Abbildung 10 wiedergegebenen, gleichfalls einigemal in — abgestorbenen — Cysten angetroffenen Gebilde zu dem Pilze gehören, ist wohl zu bezweifeln.

An keiner andern als der eingangs bezeichneten Fundstelle für *Macrobiotus lacustris* habe ich bisher den übrigens nur im Winter und Frühjahr beobachteten Pilz weiter angetroffen.

Nachdruck verboten.

Ueber die mögliche Umwandlung von Strukturen zu Pseudoparasiten, Chlamydozoenkörpern etc. in Erythrocyten und anderen Zellen¹⁾.

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

Von Dr. V. Schilling, Torgau, Oberarzt, komm. zum Institut.

Mit 2 farbigen Tafeln.

In einigen früheren Mitteilungen²⁾ habe ich meine Vorstellung von der Struktur der kernlosen Säugetiererythrocyten bereits ausführlich niedergelegt³⁾. Das Wesentliche besteht in der Auffassung des scheinbar unstrukturierten Erythrocyten als einer kompliziert gebauten Zelle. Ich habe im Gegensatz zu der vorherrschenden Ansicht von der bläschenartigen Form, die sich allein in Membran und Endosoma gliedert (Weidenreich), wieder eine sehr viel kompliziertere Struktur wenigstens für jugendliche Zellen annehmen zu müssen geglaubt, weil sonst eine Reihe von pathologischen Veränderungen der Erythrocyten unerklärbar blieben. Wenn auch der Nachweis dieser pathologisch leicht sichtbaren Bestandteile am normalen Erythrocyten nur schwer oder nicht immer gelang, so bin ich doch durch Methoden, deren Schilderung hier zu weit führen würde, zu der festen Ueberzeugung gekommen, daß Grundlagen oder resp. Reste davon auch in jedem scheinbar homogenen Erythrocyten noch vorhanden sind.

Kurz zusammengefaßt erscheint mir ein vollständiger Säugetiererythrocyt aus folgenden Bestandteilen zu bestehen:

a) Dem „Plättchenkern“, einem modifizierten Kern, der äußerst leicht als Blutplättchen abgestoßen wird. Die Beziehung zu den gekernten Vorstufen ist noch nicht sicher, immerhin scheint morphologisch eine direkte physiologische Umwandlung der Kerne zum Blutplättchen möglich.

b) Dem „Glaskörper“, einer die ganze sogenannte Delle einnehmenden achromatischen Substanz, die normal nicht scharf vom Proto-

1) Auszug aus zwei Vorträgen in der Biologischen Abteilung des Hamburger Aerztlichen Vereines am 14. Nov. 1911. Der Text ist wesentlich gekürzt und bereits früher Mitgeteiltes nur zusammengefaßt erwähnt. Von den zahlreichen Demonstrationen konnte auf den Tafeln nur ein sehr kleiner Bruchteil beigegeben werden.

2) Verhandl. d. Anat. Ges. 25. Vers. Leipzig 1911.

3) Weitere Mitteilungen über die Struktur des vollst. Säugetiererythrocyten. (Anat. Anz. Bd. 40. 1911. H. 11 u. 12.)

plasma gesondert erscheint, pathologisch oder artifiziiell aber leicht als meist eirunder kompakter, sehr quellbarer Körper scharf isoliert dargestellt werden kann.

c) Dem „Kapselkörper“, einem kleinen champignonköpfchenförmigen Gebilde, normal achromatisch oder vom Tone des Hämoglobins, das dem Glaskörper ein- oder angefügt ist und sehr enge Beziehungen zeigt zu

d) dem „Mikrozentrum“, bestehend aus zwei oder mehr stark lichtbrechenden Centriolen mit Verbindung (Centrodese) und Grundplättchen.

Die Teile b—d würden ein Archoplasma der Histologen vorstellen und mit dem Zentralapparat und den verschiedenen Zonen der Sphäre identifiziert werden können (oben l. c. 2).

Dazu kommt

e) der eigentliche „Hämoglobinteil“, der anscheinend auch strukturiert und Träger des flüssigen Hämoglobins ist. Die sonst schwer sichtbare Struktur tritt deutlicher in jugendlichen Erythrocyten durch Auflagerung basophiler Protoplasmasubstanzen hervor (vital darstellbare Netzstruktur resp. Polychromasie).

f) Eine membranartige, wahrscheinlich aber auch noch zusammengesetzte Außenschicht.

Nicht alle diese Strukturen stellen natürlich etwas absolut Neues dar, sondern sind teilweise auch von anderen Autoren bereits beschrieben, doch ist hier nicht der Platz, um darauf ausführlich eingehen zu können¹⁾.

Von diesen Bestandteilen interessiert bei dem vorliegenden Thema der „Plättchenkern“ nur indirekt, insofern er und alle übrigen Kernreste sorgfältig von den zu schildernden Gebilden auszuschließen sind. Weiter kommen die Netzstrukturen auch nur als Vergleichsbilder mit dem protoplasmatischen Teile anderer Zellen in Frage. Das für unsere Ausführungen Wichtigste ist das Archoplasma.

Nach der Bilderfolge 1—16 der Tafel ist das Verhältnis der Formbestandteile zueinander gut erkenntlich. Die Präparate stammen von einem Falle schwerster Anämie bei Malaria, also von menschlichem Blute. Die experimentelle Darstellung genau identischer Formen bei verschiedensten Versuchstieren mit schwerer Anämie ist leicht gelungen; Malariaparasiten sind absolut von der Verwechslung ausgeschlossen.

Die Methode besteht in der Behandlung des unfixierten trockenen Ausstriches mit alter, sehr reifer Manson-Lösung, wodurch eine Hämolyse bei oft guter Erhaltung sämtlicher färbbarer Bestandteile erreicht wird. Die Lösung wird nach einiger Zeit unter Mikroskopkontrolle durch sehr dünne Osmiumlösung ersetzt, es wird gut nachgespült und mit Giemsa-Lösung nachgefärbt.

Fig. 1—8 der Tafel zeigt sehr deutlich ein durch Farbe und Form wohl vom Kern unterschiedenes Gebilde, das in einer hellen Zone („Glaskörper“) liegt und nach Austreten des Kernes in der Zelle zurückbleibt (Fig. 9—16). Sämtliche Erythrocyten sind polychromatisch und erscheinen in dieser Methodik zart netzig strukturiert und oft mit scharfer roter Randlinie gesäumt. Wir haben also ein ziemlich vollständiges Bild der oben geschilderten Struktur, allerdings von pathologischem Material, und nicht absolut gut erhalten vor uns.

1) Genaue Literaturangaben finden sich in einer größeren speziellen Arbeit über die Erythrocyten (Folia haematologica) im Druck.

Die Deutlichkeit dieser übrigens im gewöhnlichen Giemsa-Trockenpräparat nur durch hellere Stellen und einige matte rötliche Pünktchen angedeuteten Gebilde beruht neben der Präparation auf einem Umstande, auf den ich bereits an anderer Stelle hingewiesen habe¹⁾.

Gerade das Mikrozentrum und der Kapselkörper scheinen in ganz hervorragendem Maße die Fähigkeit der morphologischen und chemischen Veränderlichkeit zu besitzen; sie scheinen wachsen und sich vervielfältigen zu können (Fig. 14—16); sie werden durch Auftreten chromatischer und plastinoider Bestandteile besser färbbar.

Allerdings ist damit für Erythrocyten noch nicht gesagt, daß auch die kleineren Reste dieser Gebilde im normalem Erythrocyten noch diese Verwandlung durchmachen, obgleich einige hier nicht ausführbare Beobachtungen dafür sprechen könnten; sicher aber geht dieser Vorgang bei der Neubildung der jungen Formen vor sich.

Diese Umwandlung kann, wie erwähnt, so weit fortschreiten, daß die nur mit recht schwierigen Methoden erreichbaren Strukturen plötzlich leicht darstellbar werden²⁾ und im Giemsa-Präparat auftauchen. Dabei pflegen zuerst die schon längst bekannten Centriolen³⁾ als kleine rote Randkörper sichtbar zu werden, dann entwickeln sich erst undeutlich blaue Plastinhöfe, schließlich tritt das ganze Gebilde als ein blau oder sogar schwach chromatisch färbbares Kügelchen mit dunklerem Zentrum auf in einer Form, wie wir es lange vorher bereits durch hämolytische und andere Methoden an derselben Stelle gewinnen konnten. Ich glaube mich nicht zu täuschen, wenn ich annehme, daß einige dieser Gebilde als Parasiten beschrieben sind und habe dafür unter anderem die Seidelinschen Gelbfiebererreger und die Theilerschen Anaplasmen namhaft gemacht (s. u. l. c. 1).

Mit der Feststellung dieser Strukturbestandteile lag natürlich der Gedanke nahe, auch in anderen Zellen nach ihnen zu forschen und eventuell ähnliche Vorgänge der Veränderung festzustellen. Diesem theoretischen Vorsatze stellten sich aber Schwierigkeiten entgegen, die wenigstens erwähnt werden müssen. Bedurften die sehr subtilen Methoden bereits bei den Erythrocyten schon einer gewissen Individualisierung für jedes neue Material und hier wieder für jedes neue Präparat, da die Frische des Materiales, verschiedene chemische Reaktion des Blutes und der Gewebsteile und endlich die große Empfindlichkeit der verwandten Azurlösungen von sehr bedeutendem Einfluß auf das Gelingen der Methoden sind, so mißlang die einfache Uebertragung der Methoden auf anderes Material, vor allem Epithelelemente, oft vollkommen. Ich bin daher genötigt gewesen, meinem Befunde weniger auf die Aehnlichkeit chemischer Farbreaction, obgleich sie im großen wohl besteht, als mehr auf die örtliche und gestaltliche Analogie aufzubauen. Diese Methode hat einerseits den Vorteil, eine große Menge der nachher noch zu definierenden sehr verschieden großen und färbbaren Gebilde unter dem einheitlichen Gesichtspunkt der gleichen Gestalt und Anordnung zusammenfassen

1) Vortr. v. d. Tropenmed. Gesellsch. Dresden 1911; Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Verhandl. Beih. mit Tafel. 1912.

2) Hierher gehören wahrscheinlich die Schmauchschen Körperchen bei der Katze, teilweise höchstwahrscheinlich auch die Ehrlich-Heinzschen hämoglobinämischen Innenkörper u. a. Nicht identisch sind die Howell-Jollyschen Kernreste, die „Kernkugeln“.

3) Beschrieben von Dehler, Nissle u. a. als Centren, Stigmata, Chromatinstäubchen (Weidenreich) etc.

zu können, birgt andererseits aber die Fehlerquelle, daß in der Tat nur substantiell etwa identische, anatomisch aber ganz verschiedene Gebilde zusammengezwungen werden. Wie sehr die Form auf der Substanz beruhen und wie weit sie dabei typisch entwickelt sein kann, darauf hat unter anderen Albrecht in seinen „Myelinfiguren“ hingewiesen, die ihn zu der Hypothese veranlaßten, überhaupt die Erscheinungsform der Erythrocyten auf den reichen Myelingealt ihrer Membran ursächlich zurückzuführen. Man muß also auf den Einwurf gefaßt sein, daß gerade diese erwähnten, sonst so variablen „Kapselkörper“ ihre typische, stets wiederkehrende „Kapselform“ nicht einer lebendigen Strukturbildung, sondern mehr einer notwendigen physikalischen Form infolge ihrer substantiellen Zusammensetzung verdanken. Und in der Tat ist nach dem Verhalten in der Vitalfärbung und gegen Umfärbungen ein hoher Lipoidgehalt sehr wahrscheinlich. Diesem berechtigten Einwurfe ist aber entgegenzuhalten, daß wir diese morphologisch ähnlichen Gebilde unter oft sehr analogen experimentellen und pathologischen Bedingungen mit größter Konstanz an derselben genau zu bestimmenden Stelle in der Zellstruktur auftreten sehen, daß auch ihre feinere Zusammensetzung und die Vorgänge bei ihrem Wachstum durchaus ähnlich zu sein scheinen und daß wir endlich eine Reihe von weniger bekannten und vereinzelt gefundenen normalen Zellstrukturen absonderlicher Art in den Rahmen dieser Betrachtung mit hineinziehen zu können glauben.

Es ist mir nicht möglich, das gesamte vor Ihnen demonstrierte Material hier eingehend zu erklären, zumal es hier nur auf das Gemeinsame in allen diesen Befunden ankommt.

Die beste Anwendung der oben ausgeführten Vermutungen schien mir sofort für die sogenannten, ihrer Struktur und Bedeutung nach noch nicht ganz geklärten „Chlamydozoen“-Einschlüsse (v. Prowazek) der ultravisiblen Erreger gegeben. Eben die morphologische und ätiologische Aehnlichkeit dieser Gebilde wurde ja der Grund, sie trotz ihrer mannigfachen Verschiedenheit unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zusammenzufassen ¹⁾.

Ich habe mich in der Hauptsache bei dem Studium dieser Einschlüsse auf die sogenannten „Guarnieri“-Körper der vaccinierten Kaninchencornea wegen ihrer experimentellen Erreichbarkeit und ihrer klaren Formen beschränkt, natürlich aber eine Reihe andere herangezogen, die ich jedoch hier übergehe ²⁾.

Die Erscheinungsform dieser Guarnieri-Körper ist im feucht fixierten Schnittpräparat die eines kleinen, mit verschiedensten Methoden

1) Bezüglich der sehr mannigfachen Theorien über die Entstehung und Bedeutung dieser Einschlüsse sei auf das v. Prowazeksche Handbuch der pathogenen Protozoen. Bd. 2. Chlamydozoa hingewiesen. Es scheint, daß z. B. Ferroni und Massari eine Mitwirkung des Archoplasmas, jedoch in anderem Sinne angenommen haben, während die Centrosomen allein mehrfach herangezogen wurden, ebenfalls jedoch in anderem Sinne.

2) Korrekturzusatz: v. Prowazek neigt nach neueren Mitteilungen dazu, die gesamten Chlamydozoen-Einschlüsse in zwei Ordnungen zu teilen. Obgleich der Einschluß bei beiden als Reaktionsprodukt der Zelle zu gelten hat, in dem bestimmte Entwicklungsstadien der ultravisiblen Erreger intracellulär auftreten, so scheinen doch erhebliche morphologische Verschiedenheiten in den beiden Gruppen zu bestehen, die den Begriff des „Chlamydozoen“-Einschlusses nicht ganz so einheitlich mehr erscheinen lassen. Diese Ausführungen dürften also keineswegs mehr auf alle „Chlamydozoen“-Einschlüsse ohne weiteres angewendet werden.

intensiv färbbaren, oft sehr deutlichen „Kapselkörpers“ (Fig. 17—20, 25, 26, 30). Charakteristisch ist an diesem die scharfe, membranartige Umgrenzung einer weniger gefärbten, meist homogenen Innenmasse und die champignonköpfchenartige Form, sowie eine vakuolenartige helle Stelle in der Delle (Fig. 17, 20, 25). Dieses Körperchen liegt in einer mehr oder weniger großen sicher bei der Fixierung stark veränderten hellen Zone, die jedoch gegen eigentliche Schrumpfungshöfe oft deutlich abgegrenzt erscheint, mithin substantiell bestehen muß (Glaskörper?). Beide Teile liegen für gewöhnlich dem Kerne unmittelbar an (Fig. 17, 18, 27—29), den sie durch ihre zentrale Stellung in der Zelle exzentrisch verlagern und meist zu einer Art Kappe deformieren. An den besten Präparaten (besonders bei Biondi-, Mallory- und Eisenhämatoxylinfärbungen) findet man dazu noch unmittelbar an der Delle des Einschlußkörperchens eine sehr kleine Platte mit zwei oder mehr meist äußerst scharfen und winzigen Pünktchen, die ich nach ihrer Position als Zentriolen ansehe (Fig. 17—20, 26, 30); eine Radiärstreifung des hellen Hofes ist nicht selten deutlich (Fig. 18, 19). Ob die Körnchen auch in dem „Kapselkörper“ zu liegen vermögen, weiß ich nicht mit Bestimmtheit anzugeben; dunkle Mittelpunkte kommen vor; manchmal liegen die Körnchen direkt auf dem Körper.

Die Aehnlichkeit der erhaltenen Bilder (Fig. 18—20, 25), mit denen der Erythrocyten (Fig. 1—16) ist in die Augen springend. Auch das häufige Vorkommen mehrerer „Guarnieri-Körper“ dieser Form, meist zwei polar gestellter (Fig. 24), läßt sich durch direkte Beobachtung der bekannten Teilungsformen (Hückel) erklären und findet seine Parallele bei den Erythrocyten (Fig. 14—16); die kleineren zahlreichen „Guarnieri“-Körper besonders in den oberflächlichen Zellen sind sichtlich Zersplitterungen. Es bleibt bei der Strukturauffassung dieser Gebilde nur zweifelhaft, ob bereits präformierte Verdoppelungen (beginnende Zellteilung!) in den augenscheinlich in stärkster Vermehrung begriffenen kranken Epithelien vorlagen oder ob die bereits befallenen Strukturen sich noch zu teilen vermochten. Wenigstens findet auch diese Erscheinung ihre Parallelen bei den unten zu erwähnenden physiologischen Einschlüssen.

Die Möglichkeit lag vor, und sie ist verschiedentlich von den Autoren vertreten, daß diese Gestalt der Einschlüsse eine Fixierungsform vorstellt. Beschrieben wird eine in die Zelle fest eingefügte netzige Struktur an osmierten Klatschpräparaten (Ewing). Vitalfärbungen mit metachromosierenden Azur II-Lösungen (Fig. 21—24, 26, 30) geben aber gerade die Ansicht der Feuchtfixationen und erst nach langer Einwirkung die Netzform.

Sehr eigenartig war das Bild der „Guarnieri“-Körper des 3. Tages nach der Vaccination in Eisenhämatoxylinfärbung mit Bordeauxrotvorbehandlung (Fig. 27—29). Die sonst meist kompakten schwarzen Klumpen zeigten oft sehr schön die Auflösung zu netzigen und körnigen Strukturen, die über einem rosadifferenzierten rundlichen Körper ausgespannt resp. zerstreut angeordnet waren. Ein ähnliches Bild gewährten auch nicht völlig durchgefärbte Giemsa-Färbungen, bei denen eine rötliche zarte Struktur den blauen Innenkörper überzog.

Auf diese eigenartigen Körnchen- und Fadenbildungen um einen schwerer darstellbaren Innenkörper herum habe ich bereits bei den von mir für sehr „chlamydozoenähnlich“ gehaltenen **Kurloff-Körpern**¹⁾ hin-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911.

gewiesen. Diese machen anscheinend eine ganz ähnliche Entwicklung durch (Fig. 31), setzen dieselbe aber weit über die der Guarnieri-Körper hinaus fort und ähneln in ihren größeren Formen morphologisch sehr den Körperchen, die bei *Molluscum contagiosum*¹⁾ gefunden werden. Besonders auffallend ist weiter eine Darstellung mit Neutralrot-Vitalfärbung unter Deckglas im peripheren Blute, wobei ein kernartiger Innenkörper auftritt, mit schneller und vorsichtiger Abhebung des Deckglases, Trocknung und Nachbehandlung mit Giemsa-Aceton-Schnellfärbung (s. Fig. 32). Der Innenkörper zeigt die gehöhlte Kapselkörperform, wie sie auch beim Epithelioma contagiosum der Tauben schön erhalten werden kann (s. auch Fig. 25); seine wirkliche Existenz beim Kurloff-Körper ist mir aber noch nicht ganz sicher. Im Vitalpräparat mit Azur II gelangt anscheinend der Innenkörper nicht zur Darstellung, dafür erscheinen aber die Granulationen in sehr auffallenden Nadel- und Hantelformen usw., über die ich berichtet habe (s. l. c. und Fig. 33—35). Diese Kurloff-Körper würden also über die eigenartigen Prozesse in den Zelleinschlüssen interessante Aufschlüsse geben können, wenn sie in der Tat in diese Reihe gehören, was bisher noch nicht sicher ist. Ich habe sie jedoch angeführt, weil auch sie große Berührungspunkte zeigen mit den zum Schluß zu besprechenden normalen oder physiologischen Zelleinschlüssen, die als Strukturen beschrieben werden.

Bezüglich der in Fig. 1—16 gezeigten Entstehung von der Kernperipherie aus als halbmondförmige Erhebung bis zur Selbständigwerdung als Körper besitzen die seit Meves näher bekannten **Idiozome der Samenzellen** (Fig. 36—39) ganz merkwürdige Aehnlichkeit mit den „Kapselkörpern“. Auch bei diesen finden wir die engsten Beziehungen zum Mikrozentrum, die Meves zu dem Namen „Centrotheka“ veranlaßten, obgleich die Zentren auch an- oder nebenliegend gefunden wurden. Wir finden ebenfalls einen vakuolenartigen hellen Hof und einen dunkleren, allerdings blasserer Innenkörper; gerade in Vitalfärbungen mit Azur II (Fig. 38, 39) gelang mir die Darstellung in einer ganz dem Giemsa-Ausstrichpräparat entsprechenden Form bei frischen Meerschweinhoden (Fig. 36, 37). Selbst die Verdoppelung dieser Bildungen und bipolare Stellung war auffindbar. Weiter scheinen mir die von M. Heidenhain²⁾ beschriebenen kapselförmigen Bildungen um die Idiozome im Hoden von Proteus eine höchst bemerkenswerte Aehnlichkeit mit den Guarnieri-Körpern (Fig. 27—29) aufzuweisen. Der Uebergang dieser „Körbe“ zu isolierten Pseudochromosomen und Archoplasma-Schleifen, der beschrieben wird, wobei sich der Innenkörper schwer darstellbar erhält, findet sich auch dort und erinnert in manchen Details an die Vorgänge auch in den Kurloff-Körpern. Weiter hat van der Stricht³⁾ in wiederholten Mitteilungen auf die Struktur der sogenannten **Dotterkerne** hingewiesen, die

1) Korrekturzusatz: Ganz neuerdings gelang es verschiedenen Herren am Institute gleichzeitig anlässlich eines frischen Falles von *Molluscum contagiosum* durch Behandlung mit Vitalfarbstoffen und besonders schön im Dunkelfeld unzweifelhaft das Vorhandensein von feinen, sehr gleichmäßigen, enorm zahlreichen Körnchen in dem Einschluss selbst nachzuweisen, was bei Kurloff-Körpern nur ganz ausnahmsweise und noch nicht mit absoluter Sicherheit möglich war. Daneben blieb aber immer noch eine grobbalkige Grundsubstanz nachweisbar, die kaum anders denn als Zellreaktionsprodukt aufzufassen wäre.

2) Anat. Anz. Bd. 18. 1900. p. 513 m. mehreren Abbild.

3) v. d. Stricht und D. Hollander, Anat. Anz. Bd. 21. Suppl. 1901. m. Abbild.

er mit den Heidenhainschen Archoplasmagebilden identifiziert und aus Resten der ehemaligen Sphäre ableitet. Diese Beispiele ließen sich um viele vermehren; es sei nur noch an die letzte Arbeit Axel Wallgreens¹⁾ über die Struktur der normalen Plasmazellen erinnert, in der er Centriolen und Idiozom im bekannten hellen Hof kernanliegend aufs deutlichste feststellen konnte²⁾.

Die Entstehung aller dieser Gebilde, die sich also im großen und ganzen als Archoplasmastrukturen zusammenfassen lassen würden, aus dem Kerne ist ja für die Chlamydozoonkörper vielfach behauptet; besonders sollen sie ausgewanderte Nukleolen enthalten. Schon v. Prowazek stellt demgegenüber fest, daß diese neben ihnen erhalten bleiben. Dennoch ist es nicht ganz ausgeschlossen, daß diese Strukturen ursprünglich karyogen sind, etwa wie die Nebenkerne der Protozoen, mit denen sie gewisse Aehnlichkeiten zeigen können. Es sind dann aber wohl keine einfachen Degenerationen und keine flüssigen Kernderivate, sondern anscheinend lebende und wachsende Strukturen. Wieweit diese nun von sezernierten und für die Zelle toten Bestandteilen umgeben sind, resp. in welchem Augenblicke sie sich besonders pathologisch in solche umwandeln könnten, entzieht sich natürlich der Beurteilung. Diese Ausführungen stellen überhaupt noch nichts Abgeschlossenes und Fertiges vor; sie bilden nur die Grundlage für eine Hypothese, die vielleicht zur weiteren Aufklärung über die berührten komplizierten Themata beitragen könnte: es erscheint möglich, daß sich unsichtbare oder nur in der Anlage vorhandene Zellstrukturen, besonders des Archoplasmas, unter pathologischen Einflüssen zu leichter darstellbaren Formen zu entwickeln vermögen in einer ähnlichen Weise, wie sie physiologisch für spezielle Zellarten bereits bekannt ist.

Es lag mir daran, zu zeigen, daß auch in der Pathologie die Zellbestandteile nicht einfach mit Kern und Protoplasma allein erschöpft sind, daß es eine große Menge uns noch wenig wegen der Unzulänglichkeit unserer Methoden bekannter Strukturen und Veränderungen in den Metazoenzellen gibt und daß keineswegs jeder fremdartige Einschluß nun notwendig ein direktes Erzeugnis von Parasiten zu sein braucht³⁾.

Ich habe die Frage, ob die Erreger bei der Vaccine und den anderen Chlamydozoonkrankheiten nun notwendig gerade in den Einschlüssen sein müssen, nicht weiter berührt; man kann in vielen in der Tat Körnchen etc. massenhaft, auch mit Vitalfärbung feststellen (s. auch ob. Korrekturzusatz); Körnchen sind allerdings auch in den rein toxisch erzeugten Einschlüssen der Erythrocyten z. B. darstellbar und die Unterscheidung gegen die mannigfachen Granulationen, wie sie in Zellen vorkommen könnten, sind morphologisch natürlich nicht möglich; so einwandfrei also die „ultravisiblen“ Erreger sich frei in Exsudaten etc. darstellen lassen, so schwierig wird die Bestimmung im Gewebe selbst. Das aber scheint mir keine zu kühne Schlußfolgerung, daß man in

1) Ziegl. Beitr. Bd. 51. 1911. m. Taf.

2) Korrekturzusatz: Ganz zuletzt gelang mir die Darstellung durchaus ähnlicher Strukturen in Promyelocythen mit Giemsa-Färbung, die ich auf der Tagung der Anatomischen Gesellschaft München 1912 demonstrieren und mit v. Berenberg-Gosslers „Gitterkapseln“ (Anat. Anz. Bd. 40. 1912) in Urgeschlechtszellen wenigstens morphologisch identifizieren konnte (s. Verhandlungsberichte, Anat. Anz., im Druck).

3) Die neueren Chromidien- und Chondriokontenlehren dürften zahlreiche Berührungspunkte mit den behandelten Strukturen haben, doch geht ihre Darstellung noch so weit auseinander, daß eine Erörterung hier zu weit führen würde.

der Deutung der gröberen Bestandteile dieser Einschlüsse als direkte Entwicklungsformen von filtrierbaren Virusarten, wie sie Lindner¹⁾ jüngst versucht hat, sehr vorsichtig sein muß, und daß es keineswegs gesichert erscheint, daß derartige Einschlüsse nur durch den Einfluß von „ultravisiblen“ Erregern in annähernd ähnlicher Form entstehen könnten.

Die gemeinsame, ähnliche Anordnung und Struktur bedingende Ursache könnte eben in der Entstehung aus gleichen Zellteilen, besonders dem Archoplasma im weiteren Sinne, zu suchen sein.

Hamburg, 14. Dezember 1911.

Tafelerklärung.

Fig. 1—16. Anämie bei Malaria (Mensch). Methode s. i. Text.
Strukturbilder von Erythrocyten mit pathologisch entwickelten Archoplasmen.

- Fig. 1—6. Beziehung zum Kern in Normoblasten.
Fig. 7—8. Austritt des Kernes.
Fig. 9—12. Centriolen, Kapselkörper, Glaskörper und Netzstruktur polychromatischer kernloser Erythrocyten.
Fig. 13—16. Ausgewählte Vergrößerungs- und Vervielfältigungsformen.
Fig. 17—30. Guarneri-Körper der vaccinierten Kaninchencornea vom 2. und 3. Tage in verschiedenen Methoden.
Fig. 17—19. Mallory-Schnittfärbung (davon 19 Schnitt außerhalb des Kernes). Sublimat-Alkoholfixierung.
Fig. 20. Dgl. Biondi-Färbung.
Fig. 21—24. Vitale Azur II-Färbung.
Fig. 24. Bipolare Doppelbildung.
Fig. 25. Stark differenzierte Giemsa-Färbung, gehöfte Form. Schnitt-Sublimat-Alkoholfixierung.
Fig. 26. Oberflächliche Corneazelle mit kleinem, sehr deutlichem Einschluß. Vitale Azur II-Färbung.
Fig. 27—29. Strukturierte Formen (3. Tag). Bordeaux-Eisen-Hämatoxylin; Sublimat-Alkoholfixierung.
Fig. 30. Zusammenhängende Zellgruppe mit schwach metachromasierter vitaler Azur II-Färbung.
Fig. 31—35. Kurloff-Körper des erwachsenen Meerschweinchens.
Fig. 31. Milzausstrich. Mallory-Färbung. Sehr junger Kurloff-Körper.
Fig. 32. Blut. Großer Kurloff-Körper. Neutralrot-Vital-Vorfärbung; Nachfärbung des getrockneten Präparates mit Giemsa's Aceton-Schnellfärbung.
Fig. 33—35. Vitale Azur II-Färbung im peripheren Blute; verschiedene Stadien.
Fig. 36—39. Idiozome in Spermatoocyten.
Fig. 36—37. Feucht fixiertes Tupfpräparat; Sublimat-Alkoholfixierung, Giemsa-Färbung.
Fig. 38—39. Skizze nach Vitalfärbung mit Azur II bei beginnender Metachromasie. (39 zeigt in einer der häufigen zusammenhängenden Teilungsformen die regelmäßige Anordnung an den 3 Kernen und gewisse Beziehungen zum Hauptnucleolus [auch in Fig. 38]).

Vergrößerungen.

Sämtliche Figuren sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat in Tischhöhe in den Umrissen gezeichnet. Tubuslänge 161 mm; Zeiss Apochromat 2 mm, Apertur 1.3. Kompensationsokular.

Okular 4 (Fig. 29, 30).

Okular 8 (Fig. 1—16, 20—28).

Okular 12 (Fig. 17—20, 31, 33—35, 36—39).

Okular 18 (Fig. 32).

(Die großen Unterschiede in den Vergrößerungen erklären sich aus dem Umstande, daß die Einzelbilder aus größeren Serien stammen).

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 50. p. 23. Mikrobiol. Vereinigung. 1911.

*Nachdruck verboten.***Die primäre Toxizität der Antieißsera¹⁾.**

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien.]

Von Priv.-Doz. Dr. **R. Doerr** und Dr. **F. Weinfurter**.

Die krankhaften Erscheinungen, welche man bei aktiver und passiver Anaphylaxie beobachtet, werden durch Reaktionen zwischen Eiweißantigenen und ihren Antikörpern ausgelöst; darüber besteht heute kein Zweifel mehr, wenn auch zugegeben werden muß, daß der Mechanismus der Schädigung, welche der Tierkörper durch solche Reaktionen erfährt, zurzeit noch nicht restlos oder auch nur befriedigend geklärt ist. Nimmt man aber diesen Satz als erwiesen an, so muß man folgerichtig auch andere Phänomene unter den Begriff der Anaphylaxie subsumieren, selbst wenn sie durch eine vom Typus anaphylaktischer Experimente abweichende Versuchsanordnung zustande kommen, sobald sich zeigen läßt, daß das kausale Moment in einer Eiweißantieißreaktion zu suchen ist, und daß ihre Symptomatologie mit den Charakteren von sicher anaphylaktischen Prozessen in allen wesentlichen Punkten übereinstimmt.

Wie Doerr und Moldovan beweisen konnten, erscheinen diese Bedingungen realisiert bei der pathogenen Wirkung solcher Normal- und Immunsera, deren Antikörper gegen die Zellen oder das Serumeiß der Tiere gerichtet sind, welchen man sie injiziert. Die Differenz gegenüber dem gewohnten Versuchsschema der Anaphylaxie besteht nur darin, daß man hier nicht den Organismus auf aktivem oder passivem Wege antikörperhaltig macht und dann von außen Antigen zuführt, sondern daß in diesen Fällen das Versuchstier selbst das Antigen in seinem Blute enthält und daß der normale oder immunisatorisch erzeugte Antikörper jene Komponente darstellt, durch deren Einspritzung die Abwicklung des anaphylaktischen Vorganges ermöglicht wird. Dieser Auffassung haben sich auch Friedberger, Friedemann, H. Pfeiffer, Graetz, Zinsser u. a. angeschlossen.

Viel schwerer verständlich sind die akuten Giftwirkungen solcher Immunsera, welche mit dem Eiweiß oder den Zellen des vergiftbaren Tieres keine Reaktion geben, zumindest nicht im vitro-Versuch in Form einer Präzipitation oder Hämolyse. Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich ausschließlich mit diesen Phänomenen; bevor wir jedoch auf unsere Ergebnisse näher eingehen, dürfte es sich empfehlen, die bereits festgestellten Tatsachen sowie die von verschiedenen Autoren geäußerten Ansichten kurz zu rekapitulieren.

Friedberger und Hartoch fanden zuerst, daß Antihammelsera vom Kaninchen bei intraperitoneal injizierten normalen Meerschweinchen Komplementschwund erzeugen, und Hartoch ergänzte diese Angabe dahin, daß die intravenöse Einspritzung unter anaphylaktischen Symptomen shockartig tötet. Später wurde dieses Thema von Friedberger, Doerr und Moldovan, Biedl und Kraus, Kraus und Müller, Friedberger und Castelli, Graetz, v. Dungern und Hirschfeld, Friedberger und Mita experimentell bearbeitet, wobei

1) Diese Untersuchungen wurden mit den Mitteln der Trenkle-Stiftung pro 1911 ausgeführt.

eine Reihe von neuen und bedeutungsvollen Einzelheiten ermittelt werden konnte.

Anfangs hatte es den Anschein, als ob nur präzipitierende und hämolytische Antihammelsera vom Kaninchen für Meerschweinchen pathogen wären. Verwendete man zur Immunisierung der Kaninchen andere Antigene, so blieb ihr Serum ungiftig oder richtiger es wirkte auf Meerschweinchen nicht stärker als das normaler Kaninchen (Doerr und Moldovan, Biedl und Kraus, Kraus und Müller, Graetz). Die Beschränkung der primären Toxizität auf den Spezialfall der Antihammelsera erwies sich jedoch in der Folge als unzulässig, da auch Antipferdesera, Antityphus- und Antibierhefesera vom Kaninchen bei intravenöser Injektion von gesunden Meerschweinchen einen akuten und letalen Shock auszulösen vermochten (Friedberger und Castelli, Friedberger und Mita). Auch unsere Versuche bringen eine Bestätigung und Erweiterung dieser Beobachtungen. In den älteren Angaben steckte aber doch insofern ein wahrer Kern, als sich die Immunisierung mit Eiweißantigenen vom Hammel ohne Frage optimal eignet, um primär toxische Antisera zu erhalten, während andere Antigene nur ausnahmsweise positive Resultate lieferten, und zwar erst nach der Zufuhr großer Mengen oder oft wiederholter Injektion mittlerer Quantitäten; auch war die erzielte Toxizität stets sehr gering im Vergleiche zu den minimalen Dosen Antihammelserum, welche ausreichten, um normale Meerschweinchen innerhalb von wenigen Minuten zu töten (Friedberger und Castelli, Friedberger und Mita, Graetz, Doerr und Moldovan). Wir kommen darauf noch zurück und wollen hier nur noch erwähnen, daß auch das Serum von Enten und Hühnern durch die Behandlung dieser Tiere mit Hammeleiweiß eine erhöhte Giftigkeit für Tauben erwirkt (Joachimoglu).

Merkwürdig war ferner folgendes Verhalten: stellt man die vier möglichen Kombinationen

- 1) Mit Hammelantigen behandelter Serumspender: Kaninchen, mit dessen Serum injiziertes Tier: Meerschweinchen,
- 2) Mit Hammelantigen behandelter Serumspender: Kaninchen, mit dessen Serum injiziertes Tier: Kaninchen,
- 3) Mit Hammelantigen behandelter Serumspender: Meerschweinchen, mit dessen Serum injiziertes Tier: Kaninchen,
- 4) Mit Hammelantigen behandelter Serumspender: Meerschweinchen, mit dessen Serum injiziertes Tier: Meerschweinchen,

zusammen und führt sie praktisch durch, so treten nur im ersten Falle Vergiftungssymptome auf, und zwar schon nach sehr kleinen Dosen Immunserum. Bei 2 und 3 waren die Resultate völlig negativ, was man allerdings mit Friedberger durch die Analogie begründen könnte, daß Kaninchen auch auf typisch anaphylaktische Vorgänge inkonstant und viel schwächer als Meerschweinchen reagieren. Nun erweisen sich aber auch Meerschweinchenantisera für Meerschweinchen (Fall 4) fast stets als ungiftig, und selbst dort, wo in ganz vereinzelt Ausnahmen schwerere Symptome zu konstatieren waren, konnten sie erst durch mehrere Kubikzentimeter hervorgerufen werden; hier versagten alle Erklärungsversuche.

Symptome und Obduktionsbefund der mit Kaninchenimmunserum akut vergifteten Meerschweinchen waren im allgemeinen identisch mit den Erscheinungen echter Anaphylaxie (Friedberger, Doerr und Moldovan, Graetz), Atropin hatte auch hier eine gewisse, von der angewendeten Menge toxischen Serums abhängige Schutzwirkung (Doerr und Moldovan, Friedberger und Castelli, Mita), die Intoxikation

war meist¹⁾ von intensivem Komplementschwund begleitet (Friedberger und Hartoch, Doerr und Moldovan) und hinterließ einen refraktären Zustand im Sinne einer Antianaphylaxie sowohl gegen die erneute Injektion des betreffenden toxischen Antiserums (Friedberger, Doerr und Moldovan) als auch gegen echt anaphylaktische Reaktionen (Friedberger). Subkutane Applikation von Hammelhämolysin erzeugte beim Meerschweinchen Hautnekrosen (Doerr und Moldovan).

Durch Erhitzen auf 65° C wird die Giftigkeit der Kaninchenantisera fast völlig zerstört, durch Erwärmen auf 56° C nur in geringem Grade abgeschwächt (Friedberger und Castelli, Doerr und Moldovan). Behandlung mit Jodlösung reduziert in hohem Maße ihrer Fähigkeit, in vitro Komplement zu binden und in vivo akute Symptome herbeizuführen (v. Dungern und Hirschfeld).

Es sind mehrere Hypothesen formuliert worden, um die primäre Toxizität der Kaninchenantisera für Meerschweinchen zu erklären, welche meist die Tendenz erkennen lassen, das Phänomen in das Gebiet der Anaphylaxie einzureihen.

Friedberger und Castelli, Doerr und Moldovan fanden Immunsera atoxisch, wenn man den Antikörper mit dem homologen Antigen ausfällt. So kann man einem Hammelhämolysin vom Kaninchen durch einmalige Adsorption mit Hammelerythrocyten den Ambozeptor und gleichzeitig die Toxizität entziehen; die Giftwirkung geht hierbei auf die ambozeptorbeladenen Erythrocyten über. Mit heterologen (Meerschweinchen- oder Pferde-) Erythrocyten ließ sich dagegen Hammelhämolysin nicht entgiften, aber nur dann nicht, wenn bloß einmal adsorbiert wurde; wiederholte man die Prozedur einigemal, so verlor das Immunserum gleichfalls die Toxizität, die dann in den gesammelten Erythrocytensedimenten konzentriert schien (Doerr und Moldovan). Desgleichen kann man die Giftigkeit der Immunsera vermindern, wenn man sie gemischt mit Antigen einführt oder das Antigen präventiv injiziert (Friedberger und Castelli). Ferner geben Doerr und Moldovan an, daß die Toxizität eines Hammelhämolysins durch Zusatz eines zweiten Kaninchenserums, welches entsprechende Antiambozeptoren enthielt, neutralisiert werden konnte. Alle diese Tatsachen machten einen gewissen Zusammenhang der toxischen Wirkung mit dem Antikörper wahrscheinlich; diese Vermutung gewann noch eine festere Stütze durch die Beobachtungen von Friedberger und Castelli, welche eine gesetzmäßige Abhängigkeit der Serumtoxizität von der jeweiligen Phase des Immunisierungsprozesses konstatierten. Nach diesen Autoren sinkt die Giftigkeit der Sera von wiederholt immunisierten Kaninchen nach jeder Antigenzufuhr (negative Phase), steigt dann rasch bis zu einem Maximum, um schließlich ganz allmählich wieder zu fallen, ein Verhalten, welches ja für die Antikörper typisch ist.

Es fragt sich nur, wie wir uns die Giftwirkung des Antikörpers vorstellen sollen. Hartoch dachte daran, daß es sich in solchen Fällen um ein Uebergreifen der Antikörperfunktion auf verwandte Antigene handeln dürfte. Immunisiert man ein Kaninchen z. B. mit Hammelserum, so bilden sich bekanntlich nicht nur Hauptpräzipitine für Hammeleiweiß, sondern eine ganze Reihe von Nebenpräzipitinen, unter denen sich auch eines für Meerschweincheneiweiß befinden könnte. Spritzt man ein der-

1) Eine wichtige Ausnahme von dieser Regel stellten Doerr und Moldovan für die aktiven Hammelhämolysine fest, die beim Meerschweinchen gar keine oder nur minimalste Komplementverarmung provozieren.

artiges Immunsorum einem Meerschweinchen ein, so mußte es wie ein Meerschweinchenpräzipitin wirken und die Deutung des Effektes wäre im Sinne eines anaphylaktischen Vorganges verständlich. Diese Erklärung kann aber deshalb nicht stimmen, weil schwach präzipitierende Antihammelsera für Meerschweinchen schon in relativ kleinen Dosen letal sind (Friedberger), oft in kleineren, als höherwertige Meerschweinchenpräzipitine oder Meerschweinchenhämolytine (eigene Versuche). Auch geben die Antihammelsera mit Meerschweincheiweiß oder -Blutkörperchen *in vitro* meist keine oder nur minimale Gruppenreaktionen, und endlich kann bei giftigen Antityphus- oder Antibierhefe-Sera ein Uebergreifen der Reaktion überhaupt nicht angenommen werden (Friedberger und Castelli).

v. Dungern und Hirschfeld meinen, der Träger der Giftwirkung müsse ein Antikörper sein, da die negative Phase der Toxizität nach jeder Antigenzufuhr (s. oben) nur durch die Absättigung eines solchen erklärt werden könne; er sei aber mit den bisher bekannten Antikörpern nicht identisch, sondern unbekannter Art.

Friedberger und Castelli stellten fest, daß die Toxizität zwar, wie bereits erwähnt, mit dem Antikörper der Immunsora zusammenhängt, andererseits aber doch wieder in weiten Grenzen davon unabhängig war, sofern man den Antikörpergehalt *in vitro* als Präzipitin oder lytischen Ambozeptor austitrierte. So konnten stärkere Hammelpräzipitine vom Kaninchen für Meerschweinchen weniger giftig sein, als schwach ausflockende Sera derselben Kategorie. Ferner prüften Friedberger und Castelli die Toxizität eines Kaninchenimmunsorums in verschiedenen Intervallen nach der letzten Antigenzufuhr, und fanden, daß sie bereits zu einer Zeit zu fallen beginnt, zu welcher die Präzipitine und hämolytischen Ambozeptoren noch eine weitere beträchtliche Zunahme erfahren. Friedberger und Castelli nehmen daher an, daß die giftig befundenen Sera neben Antikörper noch einen Rest von Antigen enthalten, welche beide im Immuntier (Kaninchen) koexistieren, ohne miteinander zu reagieren, vielleicht weil das Antigen eine veränderte, partiell abgebaute Beschaffenheit besitzt; erst im Körper des mit dem Immunsorum injizierten Meerschweinchens fände die Vereinigung beider und unter Intervention von Komplement die Bildung eines „anaphylaktischen Giftes“ statt.

Diese Theorie der „Antigenreste“ stieß aber auf lebhaften Widerspruch (v. Dungern und Hirschfeld, Friedemann). Führt man nämlich einem normalen oder vorbehandelten Kaninchen Antigen zu, so hält die Toxizität seines Serums sehr lange (60 Tage und darüber nach Friedberger) an, während keine Beweise dafür vorliegen, daß das Blut resp. Serum so lange antigenhaltig bleibt.

Daß Antigen und Antikörper eine gewisse Zeit nebeneinander im Blute vorkommen können, hatte zwar schon Moreschi aus den Resultaten der Komplementbindungsmethode geschlossen, und Friedberger beruft sich insbesondere noch auf eine neuere Arbeit von Hintze. Aus den Experimenten von Hintze läßt sich aber nur entnehmen, daß bei normalen Kaninchen, denen man ein einziges Mal relativ große Dosen von Pferdeserum oder Eidotter intravenös einspritzt, bestimmte Antikörper (Präzipitine, komplementbindende Ambozeptoren) bereits zu einer Zeit auftreten, wo die *in vitro*-Reaktionen auf Eiweißantigen noch positive Ausschläge geben; der Zeitraum, innerhalb dessen dies der Fall ist, beträgt aber nur 1—2 Tage, Antigen und Antikörper sind während dieses

Termins nur in Spuren vorhanden, und das Antigen verschwindet völlig, sobald die Menge des Antikörpers einigermaßen steigt. Um diese Beobachtungen als Argument für die Hypothese der Antigenreste zu verwenden, müßte man zeigen, daß das Serum während des Intervalles der Koexistenz tatsächlich toxisch ist, und daß es nur während dieser Periode giftige Eigenschaften hat; der erste Beweis steht indes aus, die zweite Hälfte der Forderung trifft nach den Beobachtungen von Friedberger nicht zu.

Da noch immer die Auffassung Anhänger findet, daß sich die anaphylaktischen Antigene und Antikörper von anderen Funktionen artfremder Proteine (z. B. Präzipitinogene und Präzipitine) unterscheiden, so könnte man verlangen, daß im vorliegenden Falle das Blut nicht mit Präzipitation und Komplementdeviation auf Antikörper und Antigenreste geprüft wird, sondern mit Hilfe des anaphylaktischen Experimentes selbst. Man müßte etwa einem Kaninchen Pferdeserum injizieren, nach verschiedenen Intervallen Blut entnehmen, und feststellen, ob und in welchen Dosen das abgeschiedene Serum 1) Meerschweinchen gegen Pferdeserum aktiv und 2) passiv anaphylaktisch macht. Derartige Versuche hat Hintze bei einmaliger Antigenezufuhr angestellt; sie sind indes viel zu lückenhaft, um den Schluß einer langen Koexistenz von Anaphylaktogenen und anaphylaktischem Reaktionskörper zu rechtfertigen, und stehen auch mit unseren eigenen Ergebnissen im Widerspruch. Zudem fehlt auch hier der Nachweis, daß das Serum während der Koexistenz toxisch war. Ebenso wenig kann die Arbeit von Jonesco-Mihaïesti zur Beurteilung der Frage herangezogen werden. Derselbe injizierte Kaninchen innerhalb von 12 bis 20 Tagen in 4-tägigen Abständen 40—70 ccm Pferdeserum und machte am 7.—14. Tage nach der letzten Einspritzung einen Aderlaß. Das Serum präparierte Meerschweinchen passiv gegen Pferdeserum, sensibilisierte aber auch in Mengen von 0,02—0,03 ccm derart aktiv, daß die Tiere nach 18—22 Tagen auf die Probe mit Exitus reagierten. Abgesehen von allem anderen, werden aber derartige Mengen von Antigen sonst gar nicht zur Immunisierung der Kaninchen verwendet, so daß wir auch hier keinen Aufschluß über eine längere Fortexistenz von Antigenresten und noch weniger über ihre Bedeutung für die primäre Toxizität der Immunsera erhalten.

Mit der Theorie der „Antigenreste“ läßt sich auch die Erscheinung schwer vereinbaren, warum gerade die Antihammelsera so oft und so intensiv giftig sind, während andere Antisera nur selten diese Wirkung zeigen und auch dann in viel schwächerem Ausmaße. Da Hintze beobachtete, daß verschiedene Antigene verschieden rasch aus der Blutbahn verschwinden, so meint Friedberger, daß dies auf einer Differenz in der Schnelligkeit des „parenteralen Antigenabbaues“ beruhe, und gab ursprünglich an, daß Antipferdesera z. B. bloß deshalb meist atoxisch gefunden werden, weil man sie zu einer Zeit gewinnt, zu der gerade dieses Antigen schon total abgebaut ist. Beim Antihammelserum tritt nach Friedberger und Nathan die Giftigkeit nach einmaliger Antigenezufuhr am 7. Tage auf und erreicht am 14. das Maximum, beim Antipferdeserum ist sie schon nach 3—4 Tagen nachweisbar; bei wiederholter Antigenezufuhr sind Antihammelsera am 2. Tage giftig und das Maximum der Toxizität fällt auf den 6. Tag, während die Giftigkeit von Antipferdeserum schon 9 Stunden nach der Einspritzung voll ausgebildet und nach 11 Stunden bereits reduziert sein soll. Hamburger und v. Reuss zeigten aber, daß sich verschiedene heterologe Blutsera im

Kaninchenorganismus ganz gleich verhalten, und daß nur Eiklar und Milch, parenteral einverleibt, in viel schnellerem Tempo aus der Zirkulation schwindet, als artfremdes Serumeiweiß. In neueren Versuchen von Friedberger und Mita hielt sich übrigens die Toxizität der Antipferdesera sehr lange nach der Zufuhr des Antigens und zeigte sogar im Laufe der Zeit eine unverkennbare Steigerung; auch wir konnten uns überzeugen, daß die Toxizität der Antipferdesera, wo sie überhaupt vorhanden ist, denselben Gesetzen des zeitlichen Ablaufes unterliegt wie die der Antihammelsera.

Schließlich sei erwähnt, daß Biedl und Kraus die Giftigkeit der Antisera auf die Toxizität der zu ihrer Herstellung benützten Antigene zurückführen, wobei sie sich auf die ältere Annahme stützten, daß nur Antihammel- und höchstens Antirinder-, nicht aber Antipferdesera auf Meerschweinchen wirken, und daß dementsprechend auch Hammel- und Rinderserum für Meerschweinchen primär toxisch ist, nicht aber Pferdeserum. Sie nehmen also an, daß der im Immunsorum steckende Antigenrest für die Giftigkeit verantwortlich zu machen sei, was aber nach Friedberger nicht zutrifft, da in seinen Versuchen im Antihammelkaninchenserum kaum der 1000. Teil der an sich toxischen Dosis von Hammeleiweiß enthalten sein konnte. Auch hat ja die Folgezeit primär toxische Antipferdesera kennen gelehrt; das stünde aber mit der Behauptung von Biedl und Kraus nicht im Widerspruch, da wir ja nicht wissen, ob Pferdeserum absolut bland für Meerschweinchen ist, oder ob nur relativ große Dosen ohne akute und grobe Störung vertragen werden. Es wäre immerhin denkbar, daß einer Toxizitätsskala der Antigene jene der betreffenden Antisera genau entspricht; auch das ist aber nach Friedberger und unseren Erfahrungen nicht der Fall.

Wir möchten nun vor allem unsere Versuchsreihen wiedergeben und in technischer Hinsicht einiges vorausschicken. Zur Toxizitätsbestimmung dienten ausschließlich normale, ungebrauchte Meerschweinchen von 180—200 g; deshalb wurde von einer Umrechnung der Dosis auf das Körpergewicht Abstand genommen. Als Serumpender kamen Kaninchen von 2000—3000 g zur Verwendung, welche ein- oder mehrmals intravenös mit Serumantigen oder gewaschenen Erythrocyten vorbehandelt waren. In verschiedenen Intervallen wurden Aderlässe von ca. 20 ccm aus der Ohrvene gemacht, das Blut 24 Stunden stehen gelassen, das abgeschiedene Serum abpipettiert und erst nach weiteren 24 Stunden auf seine Giftigkeit geprüft, und zwar durch intravenöse Injektion fallender Dosen in die linke Jugularis gleich schwerer Meerschweinchen. Diese Einhaltung eines 48-stündigen Intervalles zwischen Blutentnahme und Messung der Serumtoxizität betonen wir besonders und halten sie für notwendig. Moldovan hat nachgewiesen, daß frisches, defibriniertes Blut einige Zeit giftig bleibt, und zwar auch für dieselbe Tierspecies und Doerr zeigte, daß das Defibrinieren nicht nötig sei, sondern daß arteigenes, in Koagulation begriffenes Vollblut und Plasma, sowie Serum, welches sich soeben abgeschieden hat oder aus dem Blutkoagulum (mechanisch, durch Zentrifugieren) ausgepreßt wird, einen hohen Grad von Giftigkeit besitzt; erst nach mehreren Stunden ist diese Toxizität, welche auf dem Gehalte an Gewebiskoagulin (Cytosym) beruht, verschwunden, während die primäre Giftigkeit der Antisera wochen- und monatelang nach ihrer Abscheidung durch Gerinnung fortbesteht. Untersucht man daher ein Serum zu rasch nach dem Aderlaß, so kann man

mit dieser, auch arteigenen und normalen Seris anhaftenden pathogenen Wirkung in Kollision kommen und zu falschen Folgerungen verleitet werden. Manche Ergebnisse von Friedberger sind wohl nur durch Nichteinhaltung dieser Kautelen zu erklären¹⁾.

A. Toxizität, Antigenreste, Präzipitine und anaphylaktische Antikörper (passives Präparierungsvermögen) von Kaninchenimmenserum nach einmaliger Zufuhr verschiedener Antigene.

I. Hammelserum.

Kaninchen No. 497 erhält am 12. Dez. 1910 5,0 ccm Hammelserum iv. — Aderlässe am 14. Dez. (Ende des 2. Tages), 18. Dez. (6. Tag), 22. Dez. (10. Tag), 27. Dez. (15. Tag) und am 2. Jan. 1911 (21. Tag).

1. Aderlaß (2. Tag).

Toxizität: Meersch. 200 3,0 ccm S. 497 iv. \emptyset .

201 2,0 " " 497 " \emptyset .

Präzipitine: Nicht nachweisbar.

Reaktionskörper: Meersch. 70 3,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. iv. \emptyset .

Antigenreste: Serum 497 wird noch in 640-facher Verdünnung von einem starken Hammelpräzipitin (1:12 800) ausgeflockt.

Meersch. 203 erhält 2,0 S. 497 subk., nach 3 Wochen 0,2 H.-S. iv. † 5'.

" 204 " 0,5 " 497 " " 3 " 0,2 " " † 5'.

2. Aderlaß (6. Tag).

Toxizität: Meersch. 205 3,0 S. 497 iv. \emptyset .

Präzipitine: In Spuren (S. 497 gibt mit 40-fach verdünntem Hammelserum nach einigen Stunden Trübung).

Reaktionskörper: Meersch. 74 3,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. \emptyset .

Antigenreste: Präzipitables Hammeleiweiß in Spuren nachweisbar (das 10-fach verdünnte S. 497 gibt mit einem starken Hammelpräzipitin nach 2^h Trübung).

Meersch. 207 erhält 1,0 S. 497 subk., nach 23 Tagen 0,2 H.-S. iv. Deutliche protrahierte Symptome, überlebt.

Meersch. 208 erhält 1,0 S. 497 subk., nach 23 Tagen 0,25 H.-S. iv. Etwas Somnolenz, sonst \emptyset , überlebt.

3. Aderlaß (10. Tag).

Toxizität: Meersch. 209 3,0 S. 497 iv. Schwerste Dyspnoë, taumelt, fällt um, richtet sich nach 10' wieder auf und erholt sich.

Meersch. 210 2,0 S. 497 iv. Leichte Symptome.

Präzipitine: 1:100 +++ , 1:800 Trübung.

Reaktionskörper: Meersch. 81 3,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. † 5'.

" 82 2,0 " 497 " " 24^h 0,2 " Schwere Symptome, erholt sich bald.

Meersch. 83 1,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. \emptyset .

Antigenreste: Weder in Form präzipitabler Substanz noch als Anaphylaktogen nachweisbar. Meersch. 211 und 212 erhalten 2,0 und 1,0 S. 497 subk., nach 4 Wochen 0,5 H.-S. iv. und bleiben ohne alle Erscheinungen.

4. Aderlaß (15. Tag).

Toxizität: Meersch. 216 3,0 S. 497 iv. Leichte Symptome.

217 2,0 " 497 " \emptyset .

Präzipitine: 1:80 +++ , 1:100 ++ , 1:400 Trübung.

Reaktionskörper: Meersch. 85 3,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. Schwere Symptome, taumelt, erholt sich.

Meersch. 86 2,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. Reagiert ebenso.

Antigenreste: Nicht nachweisbar (Versuche wie beim 3. Aderlaß).

5. Aderlaß (21. Tag).

Toxizität: Meersch. 222 3,0 S. 497. Fast \emptyset .

Präzipitine: Bis 1:80 Trübung.

Reaktionskörper: Meersch. 90 3,0 S. 497 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. iv. Deutliche, aber leichte und protrahierte Symptome.

Antigenreste: Nicht nachweisbar.

1) Vgl. z. B. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 4. p. 678, 679.

Die Toxizität erreichte demnach gleichzeitig mit dem Präzipitin und dem anaphylaktischen Antikörper am 10. Tage das Maximum, war am 15. Tage deutlich vermindert, am 21. fast geschwunden. Zur Zeit der Koexistenz von Antigen und Antikörper (6. Tag) war sie nicht zu konstatieren. Die Antigenreste waren am 10. Tage nicht mehr nachweisbar.

II. Pferdeserum.

Kan. No. 85 erhält am 26. Aug. 1911 5,0 ccm Pferdeserum. Aderlässe am 28. Aug. (2. Tag), 30. Aug. (4. Tag), 1. Sept. (6. Tag), 5. Sept. (10. Tag), 9. Sept. (14. Tag).

1. Aderlaß (2. Tag).

Toxizität: Meerschw. 224 4,0 ccm iv. \emptyset .
225 3,0 " " \emptyset .

Präzipitine: Nicht nachweisbar.

Reaktionskörper: Meerschw. 226 3,0 S. 85, nach 24^h 0,25 Pferdes. \emptyset .
" 227 2,0 " 85, " 24^h 0,25 " \emptyset .

2. Aderlaß (4. Tag).

Toxizität: Meerschw. 228 3,0 S. 85 iv. \emptyset

Präzipitine: Nicht nachweisbar.

Reaktionskörper: Meerschw. 229 3,0 S. 85 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. \emptyset .
" 230 3,0 " 85 " " 24^h 0,25 " \emptyset .
" 231 2,0 " 85 " " 24^h 0,25 " \emptyset .

3. Aderlaß (6. Tag).

Toxizität: Meerschw. 232 3,0 S. 85 iv. Leichte Dyspnoë, erholt sich sofort, sonst \emptyset .

Präzipitine: Nicht nachweisbar.

Reaktionskörper: Meerschw. 233 3,0 S. 85 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. \emptyset .
" 234 3,0 " 85 " " 24^h 0,25 " \emptyset .

4. Aderlaß (10. Tag).

Toxizität: Meerschw. 235 3,0 S. 85 iv. Leichte Dyspnoë, sonst \emptyset .

Präzipitine: In Spuren (positive Schichtprobe).

Reaktionskörper: Meerschw. 236 3,0 S. 85 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. Deutliche, aber verspätete und protrahierte Reaktion.
Meerschw. 237 2,0 S. 85 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. \emptyset .

5. Aderlaß (14. Tag).

Toxizität: Meerschw. 238 3,0 S. 85 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:400 +++.

Reaktionskörper: Meerschw. 239 3,0 S. 85 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. Schwerste Symptome, fällt um, richtet sich wieder auf, bleibt aber lange Zeit somnolent.
Meerschw. 240 2,0 S. 85 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. Reagiert ebenso.

Das Antipferdeserum war also, trotzdem dieselbe Menge Serum zur Immunisierung verwendet wurde, wie bei Kaninchen No. 497 (Antihammel) zu gar keiner Zeit toxisch, auch nicht, wie man nach Friedberger erwarten sollte, am 2. oder 4. Tage, trotzdem reichliche Mengen von Antikörpern (siehe den 5. Aderlaß) gebildet wurden.

III. Antigenreste im Kaninchenserum nach Injektion von Pferdeserum.

Kaninchen No. 484 erhält am 15. März 1911 5,0 ccm Pferdeserum iv. Aderlässe am 17. März (2. Tag), 19. März (4. Tag), 22. März (7. Tag), 25. März (10. Tag), 30. März (15. Tag)

1. Aderlaß (2. Tag).

Meerschw. 701 2,0 S. 484 subk., nach 30 Tagen 0,5 Pferdes. iv. Schwerste Symptome, agonal, überlebt.
" 702 1,0 " 484 " " 30 " 0,5 " " † 5'.
" 703 0,5 " 484 " " 30 " 0,5 " " † 5'.

2. Aderlaß (4. Tag).

Meerschw. 704 2,0 S. 484 subk., nach 30 Tagen 0,5 Pferdes. iv. † 10'.
" 705 1,0 " 484 " " 30 " 0,5 " " Leichte, aber deutliche Symptome.
" 706 0,5 " 494 " " 30 " 0,5 " " Somnolent, fällt um, erholt sich, überlebt.

3. Aderlaß (7. Tag).

Meersch. 707 2,0 S. 484 subk., nach 30 Tagen 0,5 Pferdes. iv. Somnolent, fällt nach 10' um, erholt sich, überlebt.
 „ 708 1,0 „ 484 „ „ 30 „ 0,5 „ „ \emptyset .
 „ 709 0,5 „ 484 „ „ 30 „ 0,5 „ „ \emptyset .

4. Aderlaß (10. Tag).

Meersch. 710 2,0 S. 484 subk., nach 37 Tagen 0,5 Pferdes. iv. \emptyset .
 „ 711 1,0 „ 485 „ „ 43 „ 0,5 „ „ Etwas Dyspnoë, \emptyset .

5. Aderlaß (15. Tag).

Meersch. 712 2,0 S. 484 subk., nach 38 Tagen 0,5 Pferdes. iv. \emptyset .
 „ 713 1,0 „ 484 „ „ 43 „ 0,5 „ „ \emptyset .

Die Antigenreste nach der Injektion von 5,0 Pferdeserum verschwanden aus dem Blut ebenso rasch, wie die nach der Injektion von 5,0 Hammelserum (vgl. Kan. No. 497), was nicht für einen rascheren „Abbau“ von Pferdeeiweiß spricht. In diesem Sinne lassen sich auch die Versuche von Doerr und R. Pick, Hamburger und v. Reuss etc. verwerten.

B. Toxizität, Antigenreste, Präzipitine und anaphylaktische Reaktionskörper nach wiederholter Zufuhr verschiedener Antigene.

I. Hammelserum.

Kaninchen No. 61 bekam am 25., am 28. Okt. und am 2. Nov. 1910 je 2,0 ccm Hammelserum intravenös, am 30. Nov. abermals 1,0 ccm Hammelserum in eine Ohrvene und wurde am 2., 4., 6., 10., 20. und 30. Tage nach dieser letzten Injektion zur Ader gelassen.

1. Aderlaß (2. Tag).

Toxizität: Meersch. 300 2,0 iv. \dagger 8'. Verspätete schwere Symptome. Lungenödem. Obduktion: Lungen blaß, enorm gebläht und sehr ödematös. Thrombose des Herzens.

Meersch. 301 1,0 iv. \emptyset .

Präzipitine: Für 100-fach verdünntes Antigen nicht nachweisbar.

Reaktionskörper: Meersch. 200, 1,0 S. 61, nach 24^h 0,2 H.-S. \emptyset .
 „ 201, 1,0 „ 61, „ 24^h 0,1 „ \emptyset .

Antigenreste: Mit der Präzipitation nicht nachweisbar.

Meersch. 302 erhält 1,0 S. 61 subk., nach 3 Wochen 0,2 Hammelserum iv.

Verspätete deutliche Symptome, etwas somnolent, erholt sich bald und überlebt.

Meersch. 303 erhält 0,6 S. 61 subk., nach 3 Wochen 0,2 Hammelserum iv. \emptyset .

2. Aderlaß (4. Tag).

Toxizität: Nicht genau bestimmt, nur wirkte 1,0 iv., bei Meersch. 304 nicht tödlich, sondern erzeugte bloß starke Dyspnoë.

Präzipitine: 1:400 +++ , 1:800 ++ , 1:1600 + , 1:3200 Trübung.

Reaktionskörper: Meersch. 202, 1,0 S. 61 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. iv. \dagger 5'
 „ 203, 1,0 „ 61 „ „ 24^h 0,1 „ „ Leichte Sympt.
 „ 204, 1,0 „ 61 „ „ 24^h 0,05 „ „ \emptyset .

Antigenreste: Nicht nachweisbar.

Meersch. 305 mit 1,0 S. 61 subk. vorbehandelt, reagiert nach 23 Tagen auf 0,2 Hammelserum iv. gar nicht.

3. Aderlaß (6. Tag).

Toxizität: Meersch. 306 1,0 S. 61 iv. \dagger 7', Lunge blaß, stark gebläht, ödematös.

„ 307 0,8 „ 61 „ \dagger 6', typisch anaphylakt. Bef., ohne Oedem.

„ 308 0,6 „ 61 „ Leichte Symptome. Ueberlebt.

Präzipitine: 1:1000 +++ , 1:4000 + , 1:10 000 Trübung.

Reaktionskörper: Meersch. 205 1,0 S. 61 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. \dagger 5'.

„ 206 1,0 „ 61 „ „ 24^h 0,1 „ \dagger 5'.

„ 207 1,0 „ 61 „ „ 24^h 0,02 „ \dagger 5'.

„ 208 1,0 „ 61 „ „ 24^h 0,01 „ \emptyset .

„ 209 1,0 „ 61 „ „ 24^h 0,005 „ \emptyset .

Antigenreste: Meersch. 309 erhält 0,6 S. 61 subk., nach 23 Tagen 0,2 H.-S. iv.

deutliche, aber leichte Symptome (passive Anaphylaxie?).

Meersch. 310 0,6 S. 61 subk., nach 30 Tagen 0,2 H.-S. iv. \emptyset .

4. Aderlaß (10. Tag).

Toxizität: Meersch. 311 1,0 S. 61 iv. † 5', typisch anaphylaktischer Befund.
 " 312 0,8 " 61 " † 7', ebenso.
 " 313 0,6 " 61 " Dyspnoë, sonst \emptyset .
 Präzipitine: 1:2000 + + +, 1:4000 +, 1:10 000 Trübung.
 Reaktionskörper: Meersch. 210 1,0 S. 61 ip., nach 24^b 0,02 H.-S. † 5'.
 Meersch. 211 1,0 S. 61 ip., nach 24^b 0,01 H.-S. Protrahierte deutliche Symptome.
 Meerschweinchen 212 1,0 S. 61 ip., nach 24^b 0,005 H.-S. Leichte Dyspnoë.
 Antigenreste: Nicht nachweisbar.

5. Aderlaß (20. Tag).

Toxizität: Meersch. 314 2,0 S. 61 iv. † 5'.
 " 315 1,5 " 61 " † 7'.
 " 316 1,0 " 61 " \emptyset .
 Präzipitine: 1:20 + +, 1:40 \emptyset .
 Reaktionskörper: Meersch. 213 1,0 S. 61 ip., nach 24^b 0,4 H.-S. iv. Deutliche Symptome, fällt aber nicht um.
 Meersch. 214 1,0 S. 61 ip., nach 24^b 0,2 H.-S. iv. Reagiert ebenso.
 " 215 1,0 " 61 " " 24^b 0,5 " " \emptyset .

6. Aderlaß (30. Tag).

Toxizität: Meersch. 317 3,0 S. 61 iv. Symptome schwach, geht aber nach 3^a ein.
 Präzipitine: In Spuren nachweisbar.
 Reaktionskörper: Meersch. 216 1,0 S. 61 ip., nach 24^b 0,4 H.-S. iv. Leichte Sympt.
 " 217 1,0 " 61 " " 24^b 0,4 " " Ueberlebt.

Es zeigte sich also, daß die Antigenreste schon am 4. Tag nicht mehr vorhanden, daß dagegen die Toxizität mit Präzipitin und Reaktionskörper erst am 6.—10. Tag das Maximum erreichte, aber auch noch am 20. Tag ziemlich beträchtlich, und am 30. nachweisbar war. Die Dosis letalis betrug im Maximum 0,4 ccm pro 100 g Meerschweinchen.

II. Pferdeserum.

Kaninchen No. 26 genau nach demselben Schema wie Kaninchen No. 61, nur mit Pferdeserum behandelt, erhält am 30. Nov. 1910 die letzte Antigeninjektion (1,0 ccm) und wird am 2., 4., 6., 10., 20. und 30. Tag zur Ader gelassen.

1. Aderlaß (2. Tag).

Toxizität: Meersch. 320 2,0 S. 26. \emptyset .
 Präzipitine: 1:200 Spuren von Trübung.
 Reaktionskörper: Meersch. 20 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,2 ccm Pferdeserum. \emptyset .
 " 21 1,0 " 26 " " 24^b 0,2 " " \emptyset .
 " 22 1,0 " 26 " " 24^b 0,1 " " \emptyset .
 Antigenreste: Meersch. 321 0,6 S. 26 subk., nach 28 Tagen 0,3 Pferdeserum iv.
 Verspätete, deutliche Symptome, fällt nicht um, erholt sich bald.

2. Aderlaß (4. Tag).

Toxizität: Meersch. 322 2,0 S. 26 iv. \emptyset .
 Präzipitine: 1:1600 + + +, 1:4000 + +, 1:10 000 Trübung.
 Reaktionskörper: Meersch. 23 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,02 Pferdes. † 4'.
 " 24 1,0 " 26 " " 24^b 0,01 " † 2'.
 " 25 1,0 " 26 " " 24^b 0,005 " † 5'.
 " 26 1,0 " 26 " " 24^b 0,002 " Schw. Sympt.,
 Krämpfe, agonal, erholt sich.
 Antigenreste: Meersch. 323 und 324 erhalten je 0,6 S. 26 subk., nach 23 und 30 Tagen je 0,2 Pferdeserum iv. 323 zeigt angedeutete Symptome (passive Anaphylaxie), 324 nichts.

3. Aderlaß (6. Tag).

Toxizität: Meersch. 325 2,4 S. 26 iv. \emptyset .
 Präzipitine: 1:2000 + + +, 1:6000 + +, 1:10 000 Trübung.
 Reaktionskörper: Meersch. 27 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,01 Pferdeserum. † 5'.
 Meersch. 28 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,005 Pferdeserum. Schwerste Symptome, agonal.
 Meersch. 29 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,002 Pferdeserum. Deutliche Symptome.

Antigenreste: Nicht nachweisbar mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion, wenn man mit 0,6 ccm subk. präpariert und nach Ablauf von 4 Wochen mit 0,5 Pferdeserum iv. prüft (Meerschw. 326).

4. Aderlaß (10. Tag).

Toxizität: Meerschw. 327 2,4 S. 26 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:16 000 + + +, 1:32 000 + +.

Reaktionskörper: Meerschw. 30 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,01 Pferdes. iv. † 5'.

31 1,0 „ 26 „ „ 24^b 0,005 „ „ † 5'.

Meerschw. 32 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,002" Pferdeserum iv. Deutliche Symptome.

Antigenreste: Wie beim 3. Aderlaß.

5. Aderlaß (20. Tag).

Toxizität: Meerschw. 328 2,4 S. 26 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:1000 + + +, 1:2000 + +, 1:8000 Trübung.

Reaktionskörper: Meerschw. 33 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,1 Pferdeserum. † 5'.

34 1,0 „ 26 „ „ 24^b 0,05 „ „ † 5'.

Meerschw. 35 1,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,02 Pferdes. Deutliche Symptome.

6. Aderlaß (30. Tag).

Toxizität: Meerschw. 329 2,4 S. 26 iv. \emptyset .

Präzipitine: Nicht nachweisbar.

Reaktionskörper: Meerschw. 36 2,0 S. 26 ip., nach 24^b 0,4 Pferdeserum \emptyset .

„ 37 1,0 „ 26 „ „ 24^b 0,4 „ \emptyset .

„ 38 1,0 „ 26 „ „ 24^b 0,2 „ \emptyset .

III. Pferdeserum.

Kaninchen No. 53, genau nach demselben Schema immunisiert wie Kan. No. 61 (Vers. I) und Kan. No. 26 (Vers. II) erhält am 30. Nov. 1910 die letzte Injektion von 1,0 ccm Pferdeserum iv. Aderlässe am 2. Dez. (2. Tag), 4. Dez. (4. Tag), 6. Dez. (6. Tag).

1. Aderlaß (2. Tag).

Toxizität: Meerschw. 330 2,4 S. 53 iv. \emptyset .

Präzipitine: Mit 100-fach verdünntem Antigen Trübung.

Reaktionskörper: Meerschw. 100 1,0 S. 53 ip., nach 24^b 0,4 Pferdes. iv. \emptyset .

Antigenreste: Meerschw. 331 0,6 ccm S. 53 subk., nach 3 Wochen 0,2 Pferdes. iv. \emptyset .

Meerschw. 332 0,6 ccm S. 53 subk., nach 4 Wochen 0,3 Pferdes. iv. deutliche Symptome, Somnolenz, erholt sich.

2. Aderlaß (4. Tag).

Toxizität: Meerschw. 333 2,4 ccm S. 53 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:400 + + +, 1:800 + +, 1:1500 Trübung.

Reaktionskörper: Meerschw. 103 1,0 S. 53 ip., nach 24^b 0,05 Pferdes. iv. † 7'.

„ 104 1,0 „ 53 „ „ 24^b 0,02 „ „ † 5'.

„ 105 1,0 „ 53 „ „ 24^b 0,01 „ „ † 5'.

„ 106 1,0 „ 53 „ „ 24^b 0,005 „ „ \emptyset .

„ 107 1,0 „ 53 „ „ 24^b 0,002 „ „ \emptyset .

Antigenreste: Meerschw. 334 0,6 ccm S. 53 subk., nach 3 Wochen 0,2 Pferdes. iv. fast \emptyset .

Meerschw. 335 0,6 ccm S. 53 subk., nach 4 Wochen 0,5 Pferdes. iv. eben angedeutete, leichteste Reaktion.

3. Aderlaß (6. Tag).

Toxizität: Meerschw. 336 2,4 S. 53 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:800 + + +, 1:3200 + +.

Reaktionskörper: Meerschw. 108 1,0 S. 53 ip., nach 24^b 0,02 Pferdes. iv. † 5'.

Meerschw. 109 1,0 S. 53 ip., nach 24^b 0,01 Pferdes. iv. Schwere Symptome.

110 1,0 „ 53 „ „ 24^b 0,005 „ „ Leichte Symptome.

Antigenreste: Meerschw. 337 0,6 S. 53 subk., nach 4 Wochen 0,2 Pferdes. iv. \emptyset .

Vergleicht man die Protokolle der mit gleichen Antigenmengen und in gleichen Zeitabständen injizierten Kaninchen No. 26 und 53 (Pferdeserum) und No. 61 (Hammelserum), so ergibt sich auf den ersten Blick:

1) Daß der Schwund von Hammel- oder Pferdeeiweiß aus der Zirkulation — wir gebrauchen absichtlich nicht den Ausdruck „parenteraler Abbau“ — gleichmäßig rasch erfolgte, indem am 4. Tag nach der letzten

Antigeninjektion selbst mit Hilfe der so empfindlichen Sensibilisierungsmethode keine Antigenreste mehr nachweisbar waren.

2) Daß bei allen drei Tieren das Erscheinen großer Mengen von Antikörpern (Präzipitin, passives Präparierungsvermögen) zu konstatieren war, und zwar um die Zeit, wo sich das Antigen bereits dem Nachweis entzogen hatte.

3) Daß das Antihammelserum hohe Grade von primärer Toxizität aufwies, welche erst am 6. Tage maximal wurde und bis zum 30. in gemindertem Grade fortbestand, während sich die Antipferdesera selbst in hohen Dosen (2,4—3,0 ccm) für normale Meerschweinchen völlig unschädlich zeigten.

Nun hat aber Friedberger angegeben, daß auch Antipferdesera primär toxisch sein können, wenn man sie 9 Stunden nach der letzten Antigeninjektion untersucht, daß aber die Giftigkeit sehr schnell, schon nach 11 Stunden, schwindet. Daß dem nicht so ist, lehren die folgenden Versuche.

IV. Pferdeserum.

Kan. No. 410 erhält am 26. Aug. und 1. Sept. 1911 je 2,0 Pferdeserum iv., am 16. Sept. 1,0 ccm iv. — Aderlässe nach 9 Stunden, 12 Stunden, nach 1, 2, 4 und 6 Tagen.

1. Aderlaß (9 Stunden).

Toxizität: Meersch. 400 3,0 S. 410 iv. \emptyset .
Präzipitine und Reaktionskörper nicht nachweisbar.

2. Aderlaß (12 Stunden).

Toxizität: Meersch. 401 3,0 S. 410 iv. \emptyset .
Präzipitine und Reaktionskörper nicht nachweisbar.

3. Aderlaß (24 Stunden).

Toxizität: Meersch. 402 3,0 S. 410 iv. \emptyset .

4. Aderlaß (2 Tage).

Toxizität: Meersch. 403 3,0 S. 410 iv. \emptyset .
Präzipitine und Reaktionskörper in Spuren:
Meersch. 404 3,0 S. 410 ip., nach 24^h 0,25 Pferdes. iv. Verspätete deutliche Symptome, somnolent.

5. Aderlaß (4 Tage).

Toxizität: Meersch. 405 3,0 S. 410 iv. \emptyset .
Präzipitine: 1:1000 +++.
Reaktionskörper: Meersch. 406 3,0 S. 410 ip., nach 24^h 0,2 Pferdes. iv. † 3'.
" 407 2,0 " 410 " " 24^h 0,2 " " † 3'.
" 408 1,0 " 410 " " 24^h 0,2 " " † 3'.

Daß aber Antipferdesera nach längerer Immunisierung ganz ausnahmsweise giftig werden können, müssen wir bestätigen. Wir hatten zwar zunächst bei einer großen Zahl von anhaltend immunisierten Kaninchen (No. 60, 97, 86, 497, 441) auch nur absolut negative Ergebnisse und sehen daher davon ab, diese Versuche hier zu reproduzieren. Schließlich stießen wir aber doch auf zwei Tiere, deren Serum nach wiederholter Injektion von Pferdeeiweiß für Meerschweinchen pathogen wurde, ohne daß wir in der Lage wären, den Grund für dieses von der Regel abweichende Verhalten anzugeben.

V. Pferdeserum.

| | Kan. 497. | dgl. | Kan. 76. |
|---------------|-------------------------|------|----------|
| 22. Okt. 1911 | 2,0 ccm Pferdes. iv. | | |
| 25. " " | 2,0 " " " | " | |
| 13. Nov. " " | 1,0 " " " | " | |
| 26. " " " | 1,0 " " " | " | |
| 16. Dez. " " | 2,0 " " " | " | |
| 22. Dez. | Aderlaß (nach 6 Tagen). | " | |

Kan. 497.
Tox.: Meerschw. 410 2,4 S. 497 iv. ø.

Präz.: 1:4000 + + +, 1:8000 + +.

26. Dez. Aderlaß (nach 10 Tagen).
Tox.: Meerschw. 413 3,0 iv. ø.

Präz.: 1:8000 + + +.

Das Tier geht an Pneumonie zugrunde.

Kan. 76.
Tox.: Meerschw. 411 2,4 S. 76 iv., verspätete Symptome, † 33', enormes Lungenödem.

Meerschw. 412 3,0 iv. † 4' Lungenödem.

Präz.: 1:2000 + + +, 1:4000 + +, 1:8000 Spur.

dgl.
Tox.: Meerschw. 414 3,0 iv. † 6', typisch anaphylaktischer Befund (Auer-Lewis) Blut ungerinnbar.

Meerschw. 415 2,4 iv. † 3', derselbe Befund.

Meerschw. 417 1,6 ccm iv. † 5'.

" 418 1,2 " " ø.

" 419 0,8 " " ø.

Präz.: 1:800 + + +, 1:1600 + +, 1:6400 +, 1:8000 Trübung.

27. Dez. 1911 8^a früh 1,0 Pferdes. iv.

27. Dez. 1911 5^b p. m. Aderlaß (nach 9 Stunden).

Tox.: Meerschw. 420 3,0 iv. ø.

Präz.: 1:200 + + +, 1:400 +, 1:3200 Spur (Serum 9^a nach der Antigeninjektion ungiftig!).

29. Dez. Aderlaß (nach 2 Tagen).

Tox.: Meerschw. 421 3,0 iv. † 4' enormes Lungenödem.

Meerschw. 422 1,5 iv. † 5' dasselbe.

" 423 1,2 " " ø.

" 424 0,8 " " ø.

Präz.: 1:400 + + +, 1:800 + +, 1:1600 +.

2. Jan. 1912 Aderlaß (nach 6 Tagen).

Tox.: Meerschw. 425 3,0 iv. † 3', Blähung und Oedem der Lunge, völlige Thrombose des rechten Herzens.

Meerschw. 426 2,5 iv. † 5' dasselbe.

" 427 2,0 " † 40'.

" 428 1,5 " " ø.

Präz.: Genau wie beim vorigen Aderlaß.

8. Jan. Aderlaß (nach 12 Tagen).

Tox.: Meerschw. 429 2,5 iv. † 4'.

" 430 2,0 " † 30'.

" 431 1,5 " " ø.

Präz.: 1:100 + + +, 1:800 + +, 1:1600 +.

Beide Kaninchen waren gleich immunisiert, bildeten gleich gut (No. 497 sogar besser) Eiweißantikörper, das Serum von 497 blieb ungiftig, das von 76 wurde toxisch. Die maximale Toxizität betrug 0,8 ccm pro 100 g Meerschweinchen. Nach der Antigeninjektion sank die Toxizität mit dem Präzipitingehalt, stieg mit demselben am 2. Tage wieder an und blieb bis zum 12. Tage in nur wenig vermindertem Grade bestehen.

VI. Pferdeserum.

Kan. 441.
1. Nov. 1911 2,0 ccm Pferdes. iv.
6. " " 2,0 " " "
17. " " 0,5 " " "
16. Dez. " 2,0 " " "
22. Dez. (nach 6 Tagen) Aderlaß.
Tox.: Meerschw. 440 2,4 iv. ø.
" 441 1,0 " " ø.
4. Jan. 1912 1,0 Pferdes. iv.
10. Jan. 1912 Aderlaß (nach 6 Tag.).

Kan. 461.
} Dasselbe Schema.
Tox.: Meerschw. 442 2,4 iv. ø.
dgl.
"

Kan. 441.

Tox.: Meerschw. 443 3,0 iv. \emptyset .

Kan. 461.

Tox.: Meerschw. 444 3,5 iv. † 5' vollkommene Thrombose des Herzens.
 Meerschw. 445 2,5 iv. † 5'.
 „ 446 2,0 „ \emptyset .
 „ 447 1,0 „ \emptyset .

Auch hier wurde bei gleicher Immunisierungsmethode das Antipferdeserum No. 461 giftig, während 441 atoxisch blieb. Stets waren aber, wie auch aus den Versuchen von Friedberger und Mita erhellt, alle Antipferdesera nur sehr schwach giftig im Verhältnis zu dem Antihammelsera. Welche exzessive Giftigkeit bei letzteren erreichbar ist, läßt sich aus folgendem Beispiel entnehmen.

VII. Hammelerythrocyten.

Kaninchen No. 20 erhält am 26. Aug. und 1. Sept. 1911 je 2 ccm 4mal gewaschene Hammelerythrocyten iv., am 16. Sept. 5,0 ccm intraperitoneal, am 29. Sept. 2,0 ccm ip., am 30. Sept. 0,5 iv., am 17. Okt. 0,5 iv., am 27. Okt. 1,0 iv. — Nach einer Pause von 22 Tagen wird neuerlich 1,0 ccm konzentrierte Aufschwemmung von H.-E. intravenös eingespritzt.

Aderlässe nach 2, 4, 6, 10, 20 und 30 Tagen.

1. Aderlaß (2 Tage).

Toxizität: Meerschw. 450 3,0 Ser. 20 iv. † 2'.
 „ 453 1,0 „ „ „ † 2'.
 „ 454 0,3 „ „ „ † 3'.
 „ 455 0,2 „ „ „ † 10'.
 „ 456 0,1 „ „ „ † 9'.
 „ 457 0,06 „ „ „ † 8'.
 „ 458 0,04 „ „ „ † \emptyset .
 „ 459 0,02 „ „ „ † \emptyset .

Hämolytische Ambozeptordosis: 0,0008 ccm.

Anaph. Reaktionskörper: Meerschw. 460 1,0 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. iv. Verspätete deutliche Symptome, Somnolenz, überlebt.

Meerschw. 461 0,6 S. 20 ip. nach 24^h 0,2 H.-S. iv., dasselbe.

„ 462 0,2 „ „ „ „ „ „ \emptyset .

2. Aderlaß (4 Tage).

Toxizität: Meerschw. 463 0,1 S. 20 iv. † 3'.
 „ 464 0,06 „ 20 „ † 8'.
 „ 465 0,04 „ 20 „ \emptyset .

Hämolytische Ambozeptordosis: 0,0008 ccm.

Reaktionskörper: Meerschw. 466 1,0 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. Schwerste Symptome, richtet sich wieder auf, bleibt lange somnolent, überlebt.

Meerschw. 466 0,6 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. Dasselbe.

„ 467 0,2 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ Dyspnoë, etwas somnolent.
 „ 468 0,1 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ \emptyset .

3. Aderlaß (6. Tag).

Toxizität: Meerschw. 469 0,1 iv. † 10'.
 „ 470 0,1 „ † 7'.
 „ 471 0,08 „ Schwere Symptome, fällt um, überlebt.
 „ 472 0,06 „ Nach 6' somnolent, erholt sich.
 „ 473 0,04 „ Nach 5' starke Dyspnoë, erholt sich.
 „ 474 0,02 „ \emptyset .

Hämolytische Ambozeptordosis: 0,0008 ccm.

Reaktionskörper: Meerschw. 475 1,0 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. iv. † 4'.

„ 476 0,6 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ † 3'.

„ 477 0,4 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ „ Fast \emptyset .

4. Aderlaß (10. Tag).

Toxizität: Meerschw. 478 0,1 ccm. † 7'.
 „ 479 0,08 „ Dyspnoë, sonst \emptyset .
 „ 480 0,06 „ \emptyset .

Hämolytische Ambozeptordosis: 0,001 ccm.

Anaph. Reaktionskörper: Meerschw. 481 1,0 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. iv. † 3'.

Meerschw. 482 0,6 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-S. iv. Schwerste Sympt., erholt sich.
 „ 483 0,4 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ „ \emptyset .

5. Aderlaß (20. Tage).

Toxizität: Meerschw. 484 0,2 iv. † 7'.
 „ 485 0,14 „ † 4'.
 „ 486 0,1 „ Starke Dyspnoë. Ueberlebt.
 Ambozeptor: 0,001 ccm. Fast komplett.
 Reaktionskörper: Meerschw. 487 1,0 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. iv. † 5'.
 „ 488 0,6 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ „ † 5'.
 „ 489 0,4 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ „ \emptyset .

6. Aderlaß (30. Tage).

Toxizität: Meerschw. 490 0,16 iv. † 5'.
 „ 491 0,14 „ † 8'.
 „ 492 0,1 „ † 13'.
 „ 493 0,08 „ Dyspnoë, sonst \emptyset .
 Ambozeptordosis: 0,03 ccm.
 Reaktionskörper: Meerschw. 494 1,0 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. iv. Deutliche Symptome, Somnolenz, † nach 7^h.
 Meerschw. 495 0,6 S. 20 ip., nach 24^h 0,2 H.-E. iv. \emptyset .
 „ 496 0,4 „ 20 „ „ 24^h 0,2 „ „ \emptyset .

Die Dosis letalis betrug für ein Meerschweinchen von 200 g nur 0,06, für 100 g demnach 0,03 ccm, und war auch am 30. Tage nach der letzten Antigeninjektion erst auf 0,1 resp. 0,05 ccm gesunken. Bedenkt man nun, daß bei dieser Antigeneinspritzung nur 1 ccm Hammelerythrocytensuspension einem Kaninchen von 2500 g eingeführt wurde, und berücksichtigt man, wie rasch artfremdes Eiweiß aus der Zirkulation eliminiert wird (vgl. auch Doerr und R. Pick diese Zeitschr. 1912), so wird es sofort klar, daß die Toxizität nicht davon herrühren kann, daß das Serum so viel von koexistierendem Antigen und Antikörper enthielt, um bei einem normalen Meerschweinchen durch Abreagieren akuten Exitus zu erzeugen. Nehmen wir die Blutmenge des Kaninchens mit 200 ccm an und denken wir uns, es hätte sich die gesamte Menge des injizierten Antigens intakt erhalten, so würde auf 1 ccm Blut 0,005 Antigen, auf 0,06 ccm 0,0003 ccm entfallen, ein Quantum, das selbst beim maximal aktiv anaphylaktischen Meerschweinchen keine Reaktion auslöst. 0,06 ccm Serum können aber auch nicht die erforderliche Antikörpermenge enthalten, da es mit solchen Dosen Antiserum nicht mehr gelingt, normale Meerschweinchen derart passiv zu präparieren, da sie auf die Antigenprobe akut verenden.

VIII. Menschenserum.

Kaninchen No. 90 erhält am 28. Aug. und 1. Sept., sowie am 29. Sept. 1911 je 2,0 Menschenserum intravenös.

Aderlässe nach 12^h, 1, 3 und 5 Tagen.

1. Aderlaß (nach 12 Stunden).

Toxizität: Meerschw. 497 3,0 iv. \emptyset .
 Präzipitine und Reaktionskörper nicht nachweisbar.

2. Aderlaß (nach einem Tage).

Toxizität: Meerschw. 498 3,0 iv. \emptyset .
 Präzipitine und Reaktionskörper nicht nachweisbar.

3. Aderlaß (nach 3 Tagen).

Toxizität: Meerschw. 499 3,0. \emptyset .
 Präzipitine: In Spuren (positive Schichtprobe).
 Reaktionskörper: Nicht nachweisbar.

4. Aderlaß (5 Tage).

Toxizität: Meersch. 500 3,0 iv. θ .

Präzipitine: 1:6200 +++.

Reaktionskörper: Meersch. 501 3,0 S. 90 ip., nach 24^h 0,2 Menschens. iv. \dagger 5'.
 " 502 2,0 " 90 " " 24^h 0,2 " " \dagger 3'.
 " 503 1,0 " 90 " " 24^h 0,1 " " \dagger 3'.

Reichliche Bildung von Antikörpern, völliges Ausbleiben der primären Giftigkeit.

IX. Menschenserum.

| Kan. No. 28. | | Kan. No. 50. | |
|--------------------|---|-----------------------------|-----------------------------------|
| 22. Okt. 2,0 | Menschenserum iv. | dgl. | |
| 25. " 2,0 | " " | " | |
| 13. Nov. 1,0 | " " | " | |
| 26. " 1,0 | " " | " | |
| 16. Dez. 2,0 | " " | " | |
| 22. Dez. | Aderlaß (nach 6 Tagen). | " | |
| Tox.: Meersch. 504 | 3,5 iv. \dagger 2', Herzthrombose, keine Lungenblähung. | Tox.: Meersch. 507 | 3,5 iv. θ . |
| Meersch. 505 | 2,8 iv. Nach 15' schw. Sympt., \dagger 32'. | " 508 | 2,4 " θ . |
| Meersch. 506 | 2,4 iv. Nach 30' schw. Sympt., \dagger 63'. | Präz.: 1:2000 | +++ , 1:8000 ++. |
| Präz.: 1:100 | +++ , 1:500 ++ , 1:1000 +. | dgl. | |
| 2. Jan. 1912 | 1,0 Menschenser. iv. | " | |
| 8. Jan. 1912 | Aderlaß (6 Tage). | Tox.: Meersch. 513 | 3,0 iv. \dagger 8', Lungenödem. |
| Tox.: Meersch. 509 | 2,4 iv. \dagger 10'. | Meersch. 514 | 2,4 iv. θ . |
| " 510 | 2,0 " \dagger 25'. | " 515 | 2,0 " θ . |
| " 511 | 1,6 " \dagger 101'. | Präz.: In minimalen Spuren. | |
| " 512 | 1,2 " \dagger 180'. | dgl. | |
| Präz.: In Spuren | (1:100 Trübung). | " | |
| 10. Jan. 1912 | 2,0 Menschenser. iv. | Tox.: Meersch. 517 | 3,0 iv. θ . |
| 11. Jan. 1912 | Aderlaß (nach 24 ^h). | Präz.: 1:50. | θ . |
| Tox.: Meersch. 516 | 3,0 iv. \dagger 90'. | dgl. | |
| Präz.: 1:100 | ++ , 1:200 +. | Tox.: Meersch. 520 | 2,5 iv. θ . |
| 18. Jan. 1912 | Aderlaß (nach 8 Tagen). | Präz.: 1:100 | ++ , 1:6400 Spur. |
| Tox.: Meersch. 518 | 2,0 iv. \dagger 5'. | | |
| Meersch. 519 | 1,4 iv. Verendet nach mehreren Stunden. | | |
| Präz.: 1:100 | ++ , 1:200 + , 1:800 Spur. | | |

Bei gleicher Behandlung wurde das Menschenantiserum No. 28 früher und stärker giftig als No. 50. Die kleinste akut tötende Dosis betrug 2,0 ccm für 200 g Meerschweinchen. Ferner zeigte sich eine fast völlige Unabhängigkeit der Toxizität vom Gehalt an Antikörper, was sowohl beim Vergleich verschiedener Aderlässe desselben Kaninchens, als auch gleicher Aderlässe beider Tiere hervortritt. Ein differenter Abbau der Antigene ist ebenfalls auszuschließen, da No. 28 und 50 mit demselben Antigen, und zwar in gleichen Dosen und in gleichen Zeitabständen injiziert und an denselben Terminen zur Ader gelassen wurden.

X. Hühnereiereiweiß.

Kaninchen No. 10 erhält am 26. Aug. und 1. Sept. 2 ccm Hühnereiklar, am 16. Sept. 1 ccm intravenös und wird sodann nach 9 Stunden, 1, 2 und 4 Tagen zur Ader gelassen.

1. Aderlaß (9 Stunden).

Toxizität: Meersch. 530 3,0 iv. θ .

Präzipitine und Reaktionskörper nicht nachweisbar.

2. Aderlaß (1 Tag).

Toxizität: Meersch. 531 3,0 iv. θ .

Präzipitine und Reaktionskörper nicht nachweisbar.

3. Aderlaß (2 Tage).

Toxizität: Meerschw. 532 3,0 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:16 ++++, 1:32 ++, 1:64 +.

Reaktionskörper: Meerschw. 533 3,0 S. 10 ip., nach 24^h 0,2 Eiklar. Fällt um, bleibt lange somnolent. Ueberlebt.Meerschw. 534, 2,0 S. 10 ip., nach 24^h 0,2 Eiklar. Verspätete deutliche Symptome, fällt nicht um:Meerschw. 535 1,0 S. 10 ip., nach 24^h 0,2 Eiklar. Dasselbe Verhalten.

4. Aderlaß (4 Tage).

Toxizität: Meerschw. 536 3,0 iv. \emptyset .

Präzipitine: 1:1026 +++.

Reaktionskörper: Meerschw. 537 3,0 ip., nach 24^h 0,2 Eiklar. † 2'." 538 2,0 " " 24^h 0,2 " † 3'." 539 1,0 " " 24^h 0,2 " † 3'.

Kan. No. 10 erhält dann am 2. und 14. Okt. je 0,5 Eiklar iv.

Aderlaß am 20. Okt. (6 Tage) post injectionem.

Toxizität: Meerschw. 540 2,5 iv.

Am 27. Okt. wird dem Kan. 10 noch einmal 1,0 Eiklar eingespritzt und am 2. Nov. ein Aderlaß gemacht.

Toxizität: Meerschw. 541 2,5 iv. \emptyset .

Die Toxizität war demnach überall ausgeblieben.

Aehnliche Versuchsreihen wurden ausgeführt mit Pferdeerythrocyten, mit Rinderserum und Rindererythrocyten, Hundeserum, Hundeerythrocyten und von Dr. Doederlein mit verschiedenen Mikroorganismen (Cholera-, El Tor-Vibrionen, Staphylokokken, Typhusbacillen, Hefezellen). Sie ergaben als Resultat jene Schlüsse, die schon aus den in extenso mitgeteilten Experimenten mit Sicherheit zu ziehen sind und sich in folgender Form präzisieren lassen:

1) Immunisiert man Kaninchen mit verschiedenen Eiweißantigenen, so kann ihr Serum konform den Angaben von Friedberger, Doerr etc. pathogene Eigenschaften für normale Meerschweinchen gewinnen. Solche Antisera rufen, trotzdem sie in vitro weder mit dem Serumweiß noch mit den Erythrocyten von Meerschweinchen reagieren, bei intravenöser Injektion akuten Exitus, in kleineren Dosen protrahierte Symptome hervor, die entweder in Genesung übergehen oder noch nach mehreren Stunden mit dem Tode endigen können.

2) Unter den verschiedenen Eiweißantigenen kommt dem Hammelweiß und den Hammelerythrocyten eine Sonderstellung zu; sie verleihen dem Serum der damit behandelten Kaninchen die Toxizität schon nach einmaliger Injektion mäßiger Mengen, wirken sehr konstant und gestatten bei wiederholter Anwendung die Erzielung der höchsten Giftigkeitsgrade (Dosis letalis 0,03 ccm pro 100 g Meerschweinchen).

3) Alle anderen Antigene wirken inkonstant erst nach länger fortgesetzter oder wiederholter Zufuhr mittlerer Mengen; die erreichbare Giftigkeit ist relativ gering. Daß dieser Unterschied nicht, wie Biedl und Kraus meinen, von der primären Giftigkeit der Antigene abhängen kann, zeigt die folgende Toxizitätsskala normaler, genau 24 Stunden alter Sera für Meerschweinchen, welche auf unsere Veranlassung R. Pick in wiederholten Versuchen ermittelt hat; sie lautet von den giftigsten zu den schwächer giftigen Gliedern fallend geordnet:

Rinderserum,
Katzenserum,
Hammelserum,
Pferdeserum.

4) Die Toxizität der Antisera für Meerschweinchen kann nicht durch den bloßen Gehalt an Antikörpern bedingt sein, wie auch Friedberger

betont. Sie entsteht zwar infolge der Immunisierung, d. h. der parenteralen Zufuhr von artfremdem Eiweiß, und zeigt nach jeder neuen Antigeninjektion eine rapide Abnahme, eine Art negativer Phase (Friedberger und Castelli, v. Dungern und Hirschfeld, unsere Versuche V, VIII), der ein erneutes Ansteigen folgt, ein Verhalten, welches ja von allen Antikörpern bekannt ist und auf der Absättigung derselben durch das Antigen und konsekutiver Neuproduktion beruht. Es ist aber nicht einzusehen, warum alle Eiweißantikörper vom Kaninchen Meerschweinchen schädigen sollen, und selbst wenn man diese Annahme macht, ohne sie zu erklären, warum Hammelantikörper um so viel besser wirken als andere. Weiter konnten ja auch Friedberger und Castelli sowie wir zeigen, daß die Toxizität selbst bei der gleichen Kategorie Antiserum nicht dem Gehalt an Antikörpern entspricht, daß von zwei Sera, die unter absolut gleichen Bedingungen hergestellt wurden, das eine viel Präzipitin oder anaphylaktischen Reaktionskörper hatte und doch atoxisch war, während das zweite, an Antikörpern ärmere, giftig wirkte.

Injiziert man schließlich wiederholt vorbehandelten Kaninchen neuerlich Antigen und ist die negative Phase der Toxizität und des Präzipitin-(Ambozeptor-)Gehaltes ihres Serums abgeklungen, so steigt die Toxizität zwar wieder mit den vitro-Antikörpern an, sinkt aber nach erreichtem Maximum zu einer Zeit, wo die Präzipitine und hämolytischen Ambozeptoren noch eine weitere Steigerung erfahren (Friedberger und Castelli). v. Dungern und Hirschfeld meinen zwar, daß diese Erscheinung bloß zu der Behauptung berechtigt, daß derjenige Antikörper, welcher den Träger der Giftigkeit darstellt, nicht mit den Präzipitinen oder hämolytischen Ambozeptoren identisch sei, nicht aber zu der Aussage, daß die Toxizität überhaupt nicht auf dem Gehalt an Antikörpern beruhe. Wir haben nun in Würdigung dieses Einwandes bei den meisten Antisera nicht nur die Toxizität und die Präzipitine resp. Ambozeptoren, sondern auch die passiv präparierende Fähigkeit, den anaphylaktischen Reaktionskörper, austitriert, und fanden, daß im Laufe der Immunisierung eines Kaninchens die Toxizität nicht nur fallen kann, wenn die übrigen Antikörper steigen, sondern daß auch das umgekehrte Verhalten angetroffen wird. Man wäre daher im Sinne von v. Dungern und Hirschfeld zu der immerhin mißlichen Hypothese genötigt, daß außer den bekannten noch ein weiterer Antikörper der Eiweißantigene existiert, und daß das Erscheinen und Verschwinden desselben den allgemeingültigen Gesetzen der Antikörperbildung nicht gehorcht.

5) Die Annahme von Friedberger, daß die Toxizität der Antisera auf einem gleichzeitigen Gehalt von Antikörper und Antigen beruht (Theorie der „Antigenreste“), kann nach unseren Versuchen nicht zutreffen, weil:

a) Die Sera zu jener Zeit, zu welcher sie Antikörper und nachweisbare Antigenreste enthalten, noch nicht giftig sind.

b) Weil zur Zeit der ausgeprägten Toxizität längst alle Antigenreste geschwunden sind, selbst wenn man nach denselben mit Hilfe der so empfindlichen Sensibilisierungsmethode fahndet.

c) Weil bei verschiedenen Kaninchen, denen man gleich viel Antigen injiziert und welche gleich viel Antikörper produzieren, das Serum zur selben Zeit bei einem Tier toxisch, beim anderen atoxisch sein kann.

d) Weil nach der Theorie der Antigenreste alle Antieiwässerung gleicher Weise toxisch werden müßten, was nicht der Fall ist. Die

Angabe, daß die Differenzen auf einem verschieden raschen Abbau der Antigene beruhen, daß also Pferdeserum rascher abgebaut wird als z. B. Hammelserum (Friedberger, Hintze) und daß demzufolge die Toxizität von Antipferdeserum früher, nach der letzten Antigeninjektion erscheint, das Maximum erreicht und verschwindet, als die von Antihammelserum (Friedberger), entspricht nicht unseren Resultaten.

Die Eiweißantigene verschwinden zwar verschieden schnell aus der Zirkulation, doch verhält sich Pferdeserum in dieser Beziehung nicht anders als Hammelserum. Wo Unterschiede beobachtet werden, beruhen sie nicht auf der Verschiedenheit der Antigene, sondern höchstwahrscheinlich auf der individuellen Reaktion der Kaninchen und der davon bekanntermaßen stark abhängigen Produktion der Antikörper. Produziert das betreffende Tier rasch und viel Antikörper, so verschwindet das Antigen infolge einer einfachen Absättigung schnell und vollständig aus der Blutbahn; wird kein Antikörper oder nur wenig gebildet, so bleiben Antigenreste länger bestehen.

e) Endlich läßt sich rechnermäßig zeigen, daß die Dosis letalis mancher Antihammelsera so klein ist, daß darin weder Antikörper noch Antigen genug sein kann, um bei intravenöser Injektion eines Meerschweinchens eine anaphylaktische Reaktion auszulösen.

Wir haben nun versucht, diesem Problem auf einem anderen Wege näherzutreten, müssen aber allerdings betonen, daß unsere Untersuchungen noch nicht zu einem befriedigenden Abschlusse gelangt sind. Doch scheint uns eine vorläufige Mitteilung der bisherigen Ergebnisse an dieser Stelle gerechtfertigt.

Zunächst untersuchten wir, ob die Antihammelsera vom Kaninchen nur bei intravenöser Injektion auf Meerschweinchen giftig wirken. Daß große Dosen bei subkutaner Einspritzung Hautnekrosen erzeugen als Analoga der lokalen Anaphylaxie, war bereits bekannt (Doerr und Moldovan); dagegen bot es ein gewisses Interesse, die Effekte einer subduralen oder intracerebralen Zufuhr zu prüfen. Da wir in dem Serum von Kaninchen No. 20 ein Hammelhämolysin in Händen hatten, von dem schon 0,06—0,1 ccm intravenös akuten Exitus hervorrief, so war die Gelegenheit gegeben, die endovenös letale Menge direkt ins Zentralnervensystem einzubringen.

Versuch XI.

Serum 20 vom 5. Aderlaß (s. Versuch VIII) tötete normale Meerschweinchen von 200 g intravenös akut in der Menge von 0,14 ccm.

Meerschw. 600 (500 g schwer) erhält 0,2 ccm dieses Serums intracerebral, wobei jedoch ein Teil der injizierten Menge wieder aus der Trepanationsöffnung abfließt. Nach 3 Minuten zeigt das Tier schwerste Symptome, taumelt, fällt um, bekommt wiederholt Krämpfe, bleibt somnolent liegen und geht nach einer Stunde ein.

Meerschw. 601 (200 g) erhält 0,2 ccm Serum 20 intracerebral, wobei wieder Serum aus der Trepanationswunde abfließt. Nach einer Minute heftigste tonisch-klonische Krämpfe, fällt um, Opisthotonus, † in 30 Minuten.

Es läßt sich der Shock also auch vom Gehirn aus herbeiführen; die Wirkung ist offenbar dieselbe wie bei subkutaner Injektion, bei der sich sofort ein persistierendes Infiltrat bildet, nur daß bei intracerebraler Einspritzung ein Organ von besonderer Dignität lädiert wird¹⁾.

1) Doerr und R. Pick haben darauf hingewiesen, daß auch im anaphylaktischen Experiment die Folgen der intracerebralen Probe als lokale Anaphylaxie in einem lebenswichtigen Gewebe zu deuten sind.

Sodann fiel es uns auf, daß bei Kaninchen No. 20 und einem zweiten Immuntier, Kaninchen 442, das Serum schon in Mengen von 0,06—0,12 ccm für Meerschweinchen letal war, während die Serumpspender keine auffälligen Krankheitszeichen außer einer hochgradigen Abmagerung boten. Veranschlagt man die gesamte Serummengende der Kaninchen auf 100—150 ccm, so müßten im Blute ohne Schädigung des Wirtes 1700—2500 letale Giftdosen für Meerschweinchen von 200 g zirkulieren. Diese Erwägungen legten den Gedanken nahe, ob nicht etwa das Gift in den Adern des Immunkaninchens gar nicht präformiert ist, sondern erst beim Gerinnungsprozeß, d. h. bei dem Uebergang von Plasma in Serum entstehe.

Versuch XII.

Das Immunkaninchen No. 442 war nach demselben Schema wie Kaninchen No. 20 mit Hammelerythrocyten wiederholt vorbehandelt worden. Am 10. Jan. 1912 bekam es neuerlich 0,5 ccm gewaschene Hammelerythrocyten.

Am 14. Jan. wurde ein Aderlaß aus einer Ohrvene gemacht und das rasch abtropfende Blut in einem eisgekühlten, mit Paraffin ausgegossenen Gefäß aufgefangen, sofort in eine mit Paraffinum liquidum ausgegossene Spritze aufgezogen und hiervon ohne Verzug

0,8 ccm einem bereits aufgespannten Meerschw. 603 intravenös injiziert. † nach 2 Minuten. Vollkommen typischer Auer-Lewis, Thrombose des rechten Herzens.

0,2 ccm Meerschw. 604 iv. Schwerste Symptome, setzt sich wieder auf, verendet nach 4 Stunden.

Der Rest des Blutes wurde der Gerinnung überlassen und die Toxizität des ausgeschiedenen Serums am folgenden Tage bestimmt:

Meerschw. 605 0,2 S. 442 iv. † 7', typischer Auer-Lewis, Herzthrombose.

606 0,1 „ 442 „ fast e.

Kontrollen: Blut von einem normalen Kaninchen, wie angegeben behandelt, davon bei Meerschw. 607 2,5 ccm iv. Ueberlebt ohne objektiv wahrnehmbare Symptome.

Das Normalvollblut blieb hierauf ca. 10 Minuten stehen und war während dieser Zeit koaguliert; ein Teil war noch mit der Spritze aspirierbar und wurde davon bei

Meerschw. 608 0,6 ccm iv. injiziert. Sofort schwere Symptome, Krämpfe, Sprünge, Atemstillstand; plötzlich fängt das Tier wieder ruhig zu atmen an, setzt sich wieder auf, wird bald munter und überlebt.

Danach scheint also das Plasma der Immuntiere für Meerschweinchen ebenso giftig zu sein als das Serum, wenn man bei der Injektion von Vollblut die Erythrocyten in Abrechnung bringt. Freilich wird auch das Vollblut normaler Kaninchen resp. das Plasma mit einsetzender Gerinnung toxisch, worauf bereits Moldovan sowie Doerr (Wien. klin. Wochenschrift. 1912. No. 9) hinwiesen; knapp nach dem Aderlaß ist aber Normalvollblut unschädlich, das Vollblut von Antihammel-Kaninchen mit Berücksichtigung der Erythrocyten etwa so toxisch wie ihr Serum.

Es dürfte also das Gift der Antieiweißsera im Kaninchen bereits vorgebildet sein, und in diesem Falle wäre das Kaninchen gegen dasselbe unterempfindlich. Daß letzteres bis zu einem gewissen Grade der Fall ist, lehren schon die Versuche von Friedberger und Castelli und unsere eigenen Erfahrungen, wonach normale Kaninchen mehrfache Multipla der Menge Antihammelserum ohne Schaden vertragen, welche Meerschweinchen akut tötet.

Versuch XIII.

Antihammelhämolsin von Kaninchen No. 20 (6. Aderlaß, s. Versuch VIII) tötet ein normales Meerschweinchen von 200 g in der Menge von 0,1 ccm akut in 4 Minuten.

Ein normales Kaninchen von 800 g bekommt 5,0 ccm iv., also 50, oder mit Berücksichtigung des Körpergewichtes, 12¹/₂, letale Dosen. Zeigt keine Erscheinungen, überlebt.

Wie weit diese Toleranz normaler Kaninchen reicht, geht allerdings weder aus den Experimenten von Friedberger noch aus dem obigen Versuch hervor und ließe sich wohl erst bei einer kreuzweisen Durch-

blutung eines Hammel-Immunkaninchens und eines normalen mittels paraffinierter Schläuche (Methode von Manwaring) entscheiden.

Daß die Immunsera einer Tierspecies für gesunde Individuen derselben Art nicht absolut bland sind, zeigen einzelne Experimente von Friedberger, in welchen es gelang, mit dem Serum von mit Hammel-eiweiß präparierten Meerschweinchen bei normalen Meerschweinchen Symptome auszulösen, ja Exitus herbeizuführen; allerdings stehen vereinzelt positiven zahlreiche negative Resultate gegenüber und waren die erforderlichen Serummengen relativ sehr groß. Ferner geben v. Dungen und Hirschfeld an, daß das Blut von graviden oder solchen Kaninchen, die man mit arteigenen Organextrakten immunisiert hat, für normale Kaninchen giftiger wird, und Gräfenberg und Thies fanden das Serum trächtiger Meerschweinchen für andere gravide Meerschweinchen pathogen.

Unter diesen Umständen wäre wohl auch die Frage zu ventilieren, ob ein Immunkaninchen, dessen Serum (Vollblut) für Meerschweinchen hochgradig, für normale Kaninchen vielleicht doch auch in schwächerem Ausmaße giftig ist, nur deshalb keine besonderen Störungen zeigt, weil die Bildung des Giftes, oder unpräjudizierlich ausgedrückt, die veränderte Blutbeschaffenheit ganz allmählich zustande kam und sich während des Immunisierungsprozesses in Tagen oder Wochen entwickelte; hierbei hätte der Organismus Zeit, sich den geänderten Verhältnissen des Blutes zu akkommodieren oder dieselben durch die Produktion hemmender Stoffe zu kompensieren. Injiziert man das Immunblut dagegen plötzlich in einen normalen Körper, so bleiben die regulatorischen Vorgänge aus und es erfolgt eine shockartige Reaktion.

Wir besitzen jedenfalls Analoga genug, welche einen derartigen Gedankengang rechtfertigen. Nach Schultz sterben junge normale Katzen akut unter anaphylaxieähnlichen Symptomen, wenn man ihnen intravenös natives oder inaktiviertes Pferdeserum in Dosen von 0,001—0,0025 ccm pro Gramm Körpergewicht injiziert; spritzt man langsam ein, so werden größere Mengen vertragen. Ebenso fanden Friedberger und Mita, daß Meerschweinchen, die man mit Serum vorbehandelt hatte und die sich im Stadium der Ueberempfindlichkeit befanden, keinen anaphylaktischen Shock bekamen, wenn man ihnen Multipla der sonst tödlichen Antigendosis intravenös, aber nicht plötzlich, sondern langsam (innerhalb von 10 Minuten bis 2 Stunden) injizierte, ein Ergebnis, das übrigens schon Doerr¹⁾ voraussagte.

Auch toxische Antieweißsera, Witte-Pepton, wässrige Organextrakte (Popielski, Ancel und Bouin, Champy und Gley) hinterlassen beim normalen Tier nach einmaliger Einwirkung einen Zustand von Immunität; sicher sind auch manche Formen der Anti-anaphylaxie unter diesem Gesichtspunkt zu betrachten, besonders die Fälle von unspezifischer Antianaphylaxie (Calvary, H. Pfeiffer) oder jene Erfahrungen, nach welchen Pepton, toxische Normal- oder Immunsera etc. gegen den wahren anaphylaktischen Shock schützen (Biedl und Kraus, Friedberger, Doerr und Moldovan).

Stellen wir uns auf den Standpunkt, daß das Gift im Blute der Immunkaninchen im fertigen Zustande existiert, und bloß deshalb auf das Tier selbst nicht einwirkt, weil seine allmähliche Entwicklung das Zustandekommen einer ihrem Wesen nach ungeklärten, durch Analoga

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. Ref.

aber verständlicheren Resistenz gestattete, so bleibt als schwierigste Frage noch die nach der Natur dieses „Giftes“ zu beantworten.

Man hat die Wirkung der toxischen Eiweißsera von Kaninchen auf Meerschweinchen als eine mit dem anaphylaktischen Shock wesensgleiche Reaktion bezeichnet, weil die beobachteten Symptome im allgemeinen bei beiden Phänomenen einander glichen (Friedberger und seine Mitarbeiter, Doerr und Moldovan, Graetz, Friedemann u. v. a.). Da aber bei der Einwirkung eines Antihammelserums, Antityphusserums, Antipferdeserums vom Kaninchen auf Meerschweinchen eine Reaktion zwischen Eiweißantigen und Antikörper als ausgeschlossen betrachtet werden kann, wie unsere Versuche im Gegensatze zu Friedberger dartun, und da gerade dieses Moment das vorzüglichste, wenn nicht einzige Kriterium anaphylaktischer Vorgänge darstellt, so wird die Beweiskraft der identischen Symptomatologie erschüttert, um so mehr als sehr verschiedene Stoffe auf normale Tiere anaphylaxieähnlich wirken (vgl. Doerr, Zieler u. a. m.).

Nun hat Doerr (Wien. klin. Wochenschr.) die Vorstellung zu begründen versucht, daß der anaphylaktische Shock nicht auf einem parenteralen Abbau von Eiweißantigenen zu giftigen Verdauungsprodukten beruht, sondern darauf, daß die im Blute des Versuchstieres ablaufende Kolloidreaktion zwischen Eiweißantigenen und Antikörper die Blutbeschaffenheit ändert, indem sie das Gleichgewicht seiner Eiweißkolloide stört, wobei vielleicht Gerinnungsfermente aktiviert werden. Diese geänderte Blutbeschaffenheit wird zur Noxe, welche in erster Linie das Endothel der Gefäße in Mitleidenschaft zieht, dasselbe durchlässig macht, und dann sekundär die glatte Gefäßmuskulatur alteriert, wobei zunächst eine Kontraktion (Schultz), dann eine Vasoparalyse (Biedl und Kraus) erfolgt. Wir gehen auf die Einzelheiten nicht weiter ein und verweisen auf den zitierten Artikel.

Wenden wir diese Hypothese auf die toxischen Kaninchenimmunsera an, so entfallen zum Teil die Schwierigkeiten, welche sich dem Versuche entgegenstellen, zwischen ihrer Pathogenität und der Anaphylaxie eine engere Relation zu etablieren. Man kann dann annehmen, daß dieselbe Aenderung der Blutbeschaffenheit, wie sie im anaphylaktischen Shock vor sich geht, auch im Immunkaninchen gradatim zustande kommt, in welchem sich ja während der Immunisierung, d. h. bei jeder Antigenzufuhr, anaphylaktische Prozesse, Reaktionen zwischen Eiweißantigenen und Antikörper, abspielen. Hierbei kommt es wahrscheinlich zu einer Anhäufung, Bildung oder Aktivierung von Gerinnungsfermenten; dies können wir aus dem Verhalten der nach toxischem Antieißserum verendeten Meerschweinchen schließen.

Geht man unsere Versuchsprotokolle durch, so findet man zahlreiche nach intravenöser Injektion akut eingegangene Tiere, bei welchen das Herz, und zwar die rechte Hälfte vollkommen thrombosiert war, selbst wenn man die Obduktion unmittelbar post mortem mit tunlichster Beschleunigung ausführte. Zweifellos ist aber nicht etwa die Fibrinabscheidung und das mechanische Zirkulationshindernis die eigentliche Todesursache; denn bei vielen, ja der Mehrzahl der Meerschweinchen war trotz sorgfältigen Suchens keine Spur von Thrombenbildung zu entdecken, das Blut erwies sich vielmehr als vollkommen flüssig, zeigte eine sehr beträchtlich erhöhte Gerinnungsdauer in vitro und oft war die endlich eintretende Koagulation nur partiell und locker, von der des normalen Blutes erheblich abweichend. Es konnte konstatiert werden,

國立中央圖書館藏
 中華民國二十九年
 五月二十二日
 登錄號：中圖字第一〇九二號

daß es bei demselben toxischen Antiserum oft nur von der Dosis abhing, ob sich die Verschiebung der Gerinnungsfähigkeit in der intravitalen (oder agonalen?) Fibrinausscheidung oder als Ungerinnbarkeit ausdrückte.

Versuch XIV.

Serum von Kaninchen 442 (Antihammelhämolyisin), 20 Tage nach der letzten Injektion von 0,5 gewaschenen Hammelerythrocyten:

Meerschw. 688 1,0 S. 442 iv. † 3'. Völlige Thrombose des rechten Herzens, mäßige Lungenblähung, kein Oedem.

Meerschw. 689 0,8 S. 442 iv. † 6'. Hochgradigste Lungenblähung, Lungen blaß, nicht ödematös, keine Thromben im Herzen oder den großen Gefäßen, Blut flüssig, gerinnt in vitro erst nach 20 Minuten.

Meerschw. 690 0,6 S. 442 iv. † 5'. Wie das vorige.

„ 691 0,4 „ „ „ fast ø.

Daß der mechanische Effekt der Thrombenbildung nicht die wesentliche Ursache der akuten Symptome darstellt, ergibt sich auch daraus, daß Meerschweinchen, die präventiv Hirudin und zur Zeit der maximalen Wirkung desselben Antihammelserum erhalten hatten, und denselben Symptomen und auf die gleichen Dosen verendeten wie Kontrollen ohne Hirudin; bei der Obduktion zeigten letztere Herzthrombose, während die Hirudintiere stets flüssiges, ungerinnbares Blut aufwiesen. Es ist nun gewiß von Interesse, daß Hirudin nach Friedberger, Lesné und Dreyfus auch den anaphylaktischen Shock nicht antagonistisch beeinflußt.

Aehnlich wie nach toxischen Antieiwässern verhält sich nach unseren Erfahrungen sowie nach den Angaben von Biedl und Kraus, Friedberger, Graetz das Blut von Meerschweinchen nach der Injektion von „Anaphylatoxin“, toxischen Normalsera, Präzipitaten (Doerr und Russ), Kieselsäure (Doerr und Moldovan).

Daß im Blute der Kaninchen, die man mit artfremden Proteinen immunisiert, die Gerinnungsfaktoren eine andauernde Änderung erfahren, ergibt sich schon aus der Tatsache, daß bei Blutungen des Menschen parenteral injiziertes heterologes Serum (Pferdeserum) kurativ wirkt.

Damit ist freilich das pathogene Agens der toxischen Antieiwässer nicht bestimmt; es weisen diese Verhältnisse nur auf enge Beziehungen hin, welche zwischen ihrer Wirkung, den toxischen Normalsera, dem anaphylaktischen Shock einerseits und der intravaskulären Alteration der Blutgerinnung andererseits bestehen. Vielleicht ergeben sich aus weiteren Versuchen Schlüsse, welche einen weiteren Ausbau dieser Vermutungen zu klaren und besser fundierten Vorstellungen gestatten.

Schlußfolgerungen.

1) Das Serum von Kaninchen wird, wie bereits Friedberger bewies, durch Immunisierung mit artfremdem Eiweiß oder heterologen Erythrocyten für Meerschweinchen pathogen.

2) Dies gelingt ziemlich konstant bei der Benutzung von Hammel-eiweiß oder Hammelerythrocyten als Antigen. Schon die einmalige Einspritzung von Hammelserum in geringen Mengen macht das Serum der Kaninchen toxisch, bei wiederholter Zufuhr lassen sich hohe Giftigkeitsgrade erzielen (Dos. let. pro 100 g Meerschweinchen 0,03 ccm).

3) Andere Eiweißantigene wirken inkonstant, erst in großen Mengen und bei lange wiederholter Injektion. Die beobachteten Grade der Toxizität waren relativ gering. Die Ursache der Sonderstellung der Hammelantigene ist zurzeit unbekannt. Die primäre Giftigkeit der Eiweiß-

antigene für Meerschweinchen hat keinen Einfluß auf die Toxizität der mit ihnen gewonnenen Kaninchenantisera für dasselbe Versuchstier. Ebenso wenig kann ein verschieden rascher „Abbau“ der verschiedenen Eiweißantigene für die Differenz der Giftigkeit der korrespondierenden Immunsera verantwortlich gemacht werden.

4) Die Toxizität ist eine Folge des Immunisierungsprozesses und zeigt bisweilen, aber durchaus nicht immer, einen gewissen Parallelismus zur Antikörperbildung. Der Antikörper als solcher kann nicht als Träger der Pathogenität aufgefaßt werden.

5) Die Toxizität hängt nicht von dem gleichzeitigen Gehalt an Antigen und Antikörper ab, welche im Kaninchen unverändert nebeneinander existieren und erst im injizierten Meerschweinchen unter Zutritt von Komplement abreagieren (Friedberger). Die Antigenreste schwinden vor eintretender Toxizität völlig; zur Zeit, wo Antigen und Antikörper koexistieren, ist die Toxizität nicht nachweisbar; die wirksamen Mengen Antieißserum sind bisweilen so minimal, daß sie weder genug Antikörper noch Antigen enthalten können, als für eine anaphylaktische Reaktion erforderlich wäre. Zudem erzeugen manche toxische Sera (Antihämehämolyse) keinen Komplementschwund.

6) Das wirksame Prinzip der toxischen Antieißsera der Kaninchen ist bereits im Blute dieser Tiere präformiert.

7) Dasselbe stört bei intravenös injizierten Meerschweinchen das Gleichgewicht der Kolloide, wobei das Blut der letzteren eine Aenderung seiner Gerinnungsverhältnisse erfährt. Diese Aenderung kommt in intravaskulären Thrombosen oder herabgesetzter Gerinnungsfähigkeit zum Ausdruck.

8) Die Thrombose ist nicht die wesentliche Todesursache, da Hirudin dieselbe verhindert, ohne antagonistische Effekte gegen die Noxe zu entfalten.

9) Es bestehen enge Beziehungen zwischen dem anaphylaktischen Shock und der Wirkung toxischer Antieißsera, welche es wahrscheinlich machen, daß beide Prozesse auf einem ähnlichen Mechanismus beruhen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Typhustoxine und ihre pathogene Wirkung.

[Aus der Spezialklinik für Lungentuberkulose der med. Akademie zu Osaka (Direktor: Prof. A. Sata).]

Von Prof. extr. Dr. **R. Arima.**

Mit 2 Tafeln.

Einleitung.

Daß eine gewisse chemische Verbindung spezifisch ein Organ resp. eine Zellgruppe angreift und dadurch dieselben schädigt, z. B. das Morphin

I.



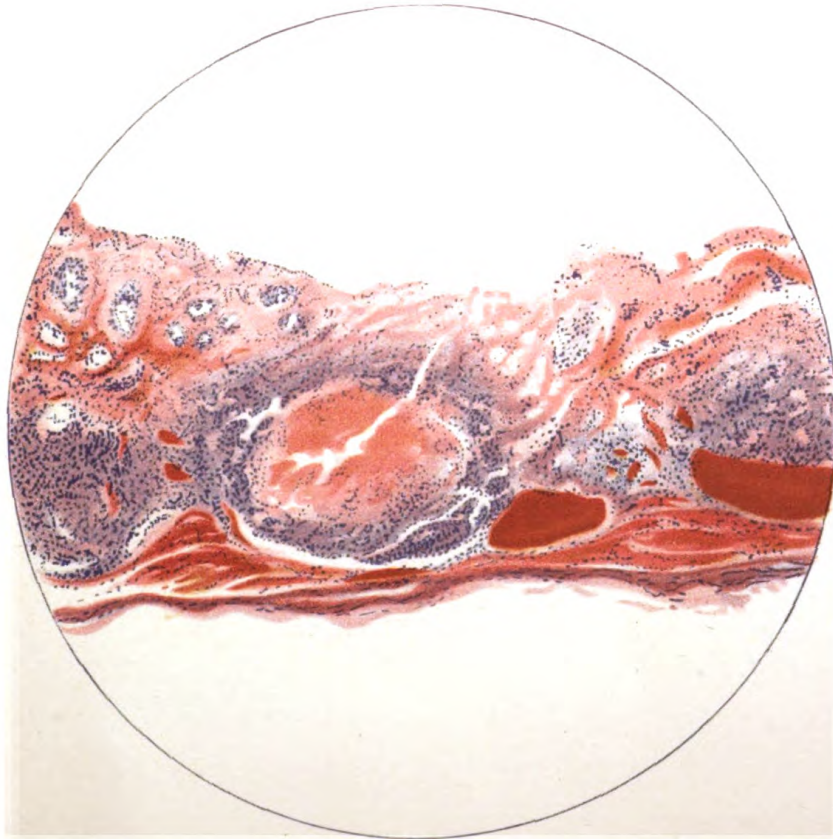
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Dr. Arima & Fischer Leipzig

2.



3.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. E. A. Funks, Leipzig.

die Ganglienzellen des Großhirns, das Krarin die Nervenendigungen des Stützmuskels, ist als Folge einer besonderen Affinität dieser Chemikalien zu den betreffenden Organen oder Zellkomponenten zu betrachten. Derartige Verhältnisse kann man auch vom Chinin zum Malariaplasmodium, dazu neuerdings vom Salvarsan zu Spirochäten finden.

Sehr ähnliche Verhältnisse kann man wieder zwischen den Krankheits-erregern und gewissen Organen resp. Zellgruppen wahrnehmen. So hat der *Pneumococcus* eine besondere Vorliebe für die Lunge, und der Diphtheriebacillus, sich an den oberen Luftwegen zu lokalisieren und hier charakteristische, pathologische Veränderungen hervorzurufen. Die eigenartige Ansiedelung tierischer Parasiten, wie z. B. des *Ankylostomum duodenale*, des *Distoma haematobium*, *Schistosomum*, der *Filaria sanguinis* und des *Plasmodium malariae*, scheint auch hierher zu gehören.

Nicht nur bei jenen infektiösen Erkrankungen, bei denen der Erreger durch seine Eigenbewegung an den beliebten Ort gelangen kann, sondern auch bei anderen, bei denen das Virus keine eigene Bewegung aufweist, können wir wohl mit nicht geringerer Sicherheit von einer besonderen Affinität der Erreger zu den Organen oder Zellgruppen sprechen. Daß ein Erreger nur durch sein biologisches Bedürfnis sich an einem bestimmten Orte lokalisiert, seine Stoffwechselprodukte aber in entfernten Organen eine schwere Schädigung hervorrufen können, wie bei der Diphtherie- und Tetanuserkrankung, ist gleichfalls, wie oben erwähnt, auf eine chemische Affinität der Gifte zu den Organen zurückzuführen. Die Versuche über die pathogene Wirkung des Dysenterietoxins, welche zuerst von Kraus und Doerr (1) und von Todd (6) ausgeführt und dann besonders von Doerr eingehend bearbeitet wurden, gaben in dieser Hinsicht eine wertvolle Beweisführung.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Zahl der Typhuskeime am Orte der charakteristischen Darmveränderungen oft eine äußerst spärliche ist. Man könnte demnach annehmen, daß die spezifische Herdbildung des Abdominaltyphus wohl der besonderen Ansiedelung der Erreger entbehre und nur durch zirkulierende Giftstoffe hervorgerufen werden könne. Hierzu kommt noch, daß die Typhuserkrankung, wie die Dysenterie, einen Symptomenkomplex aufweist, der auch nur auf eine Toxiämie, auf eine Vergiftung mit löslichen Stoffwechselprodukten der Bakterie, bezogen werden muß. Die cerebralen Symptome, das eigentümliche Fieber, die starken Verdauungsstörungen, der rasch und auffallend auftretende Marasmus und die dementsprechende Entkräftigung, Herzstörung, die charakteristischen Nachkrankheiten lassen wohl kaum eine andere Deutung zu.

Wenn wir nun von diesem Standpunkte aus einen recht wirksamen Giftstoff herstellen und seine spezifische pathogene Wirkung klar machen können, so werden wir nicht bloß das Wesen des Typhusgiftes endgültig feststellen und für die spezifisch therapeutischen Wege des Abdominaltyphus wichtige Beiträge geben können, sondern es kann auch die Bedeutung der spezifischen Herdbildung ausfindig gemacht und das Gebiet der Infektionspathologie erhellt werden.

Herr Prof. A. Sata, mein geehrter Lehrer, hat seit einigen Jahren vielfach diese Meinung ausgesprochen und seinen Assistenten diese Aufgabe nach verschiedenen Richtungen hin lösen lassen, und es ist mir eine angenehme Pflicht, hier für seine freundliche Anregung zu dieser Arbeit und für seine gütige Leitung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

I. Darstellung der Toxine.

Wir können wohl annehmen, daß der Typhusbacillus nicht nur das sogenannte Endotoxin, das bisher fast von allen erhalten wurde, sondern auch vermutlich ein anderes, selbst in seinem früheren Entwicklungsstadium produziertes Toxin, das Exotoxin, bildet. Schon in der Inkubationszeit des Abdominaltyphus, wo vermutlich die ansteckenden Keime noch jung und gering sind und die anatomische Veränderung des Darms usw. sich noch nicht entwickeln, besteht eine Reihe von Symptomen, wie Kopfschmerz, Mattigkeit, Kreuz- und Gliederschmerzen, Appetitlosigkeit, Nachtschweiß etc., welche ohne weiteres auf die Wirkung des von den Keimen produzierten Toxins bezogen werden können. Mein Verfahren ging demnach darauf aus, nach zwei Richtungen hin die vermutlichen zwei Toxine möglichst streng voneinander zu trennen.

Methodik.

Etwa 20 Oesen des Typhusbacillus (Stamm Arima, stark giftproduzierend, 0,2—0,4 ccm vom Bouillonfiltrat nach Kraus bringen immer 1 kg Kaninchen in 48 Stunden zum Tode) wurden auf schwach alkalischem Agar in einer Roux'schen Flasche (23×15 cm) — in möglichst kleiner Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt — abgegossen, 20—22 Stunden bei 38° C kultiviert und durch Zugießen einiger Kubikzentimeter Kochsalzlösung wurden die Bacillenrasen abgestoßen und aufgesaugt. Die so gewonnene Bacillensuspension wurde nun völlig klar abzentrifugiert. Die klare, oben stehende Flüssigkeit wurde abgegossen, zur Abtötung der noch ganz minimal beigemengten lebenden Bacillen 30 Minuten bei 60° C erwärmt und unter Umständen karbolisiert („Exotoxin“). Der von dem Exotoxin abgesonderte Bodensatz wurde sorgfältig noch 3mal mit Kochsalzlösung ausgewaschen, 30 Minuten bei 60° C abgetötet, in die sterile Reibschale geworfen, feucht mit feinem Glaspulver, oder im Vakuum bei niedriger Temperatur getrocknet, mittels Kugelmühle gut zerrieben, bis ganze Bacillen nicht mehr nachweisbar waren, mehrere Stunden mit Kochsalzlösung extrahiert und zentrifugiert. Die so durch strenges Zentrifugieren von Glas und unlöslicher Bacillenhüllensubstanz befreite Flüssigkeit ist das „Endotoxin“. Das Endotoxin wurde auch zum Aufbewahren karbolisiert. Eine Flasche Kultur gab mir je 10 ccm Exo- und Endotoxin.

Zur Exotoxingewinnung habe ich nicht, wie gewöhnlich, Bouillonkulturen gebraucht, weil ich dachte, daß die Bakterien viel Luft nötig hätten, um das stark wirkende Toxin zu produzieren [Rosenthal, Doerr (6)]. Um das Exotoxin von den Bakterien abzutrennen, habe ich nicht mit Filtration mittels Tonfilters, sondern nur mit einfachem Zentrifugieren gearbeitet, denn die Tonfilter halten immer viel Toxin zurück (Kraus, Stenitzer, Doerr) und berauben sie dazu der Bakterienleiber, welche das Endotoxin, das stets mit dem Exotoxin in gleichem Verhältnisse stehen soll, liefern.

Das Bestreben, das fest an die Bakterienzelle gebundene Gift, das eigentliche Endotoxin, in löslicher Form zu gewinnen, zeitigte schon eine ganze Reihe komplizierter Methoden. Das technische Prinzip aber liegt nur darin, daß man die Bakterienzellen möglichst schonend zerstört, ohne das frei werdende Toxin erheblich zu schädigen. Ich wählte mir eine einfache mechanische Zerreibung, welche aber von allen bisherigen die einfachste Methode war, und mein Endotoxin scheint bis jetzt am wirksamsten zu sein.

II. Eigenschaften des Exo- und Endotoxins.

Das Exotoxin ist eine bräunliche, völlig klare Flüssigkeit, gibt deutliche Biuretreaktion (herrührend wohl vom Nährmaterial), hat für Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Ziege und Pferd starke Giftwirkung, und zwar vermutlich am stärksten für Ziegen. Für Ziegen wirken 0,005 ccm, für Kaninchen 0,01 ccm pro Kilo Körpergewicht hochfiebernd; 0,05 bis 0,1 ccm pro Kilo immer Temperatur vermindern und letal für Kaninchen.

Das Endotoxin ist eine opaleszierende Flüssigkeit, gibt „keine Biuretreaktion“, wirkt auch auf die oben genannten Tiere stark giftig. Am stärksten wirkt es auf die Ziege; eine Ziege von 13 kg wurde durch 0,5 ccm des frischen Endotoxins in 12 Stunden getötet; 0,01 ccm pro Kilo Körpergewicht wirken auf Ziegen, 0,02—0,05 ccm auf Kaninchen hochfiebernd, 0,1—0,3 ccm pro Kilo auf Kaninchen immer Temperatur vermindern und letal.

III. Pathogenität der Toxine.

Trotzdem man bei der menschlichen Typhusleiche immer so ausgeprägte pathologische Veränderungen, besonders des Darmes, wahrnimmt, konnte man doch bisher niemals charakteristische Veränderungen beim Versuchstiere erzielen. So schreibt Stenitzer in Kraus-Levaditis Handbuch der Immunitätsforschung: „Charakteristische pathogene Eigenschaften zeigen die Toxine nicht Am konstantesten beobachtet man zwei Symptome, die auch, soweit in der Literatur darüber Angaben sich vorfinden, gewöhnlich besonders hervorgehoben sind. I. Das Auftreten von reichlichen breiigen oder flüssigen Diarrhöen, die ihren anatomischen Ausdruck in einer mehr oder weniger starken, auch bis zu Hämorrhagieen führenden Hyperämie der Dünn- und Dickdarmschleimhaut finden können (Brieger, Chantemesse, Sirotinin, Moreschi). II. Ein ante finem auftretender Lähmungszustand der hinteren Extremitäten. Wir hatten bei Kaninchen ebenfalls Gelegenheit, regelmäßig diese Erscheinungen nach intravenöser Injektion zu beobachten, betonen aber nochmals, daß wir darin gewiß nichts Charakteristisches erblicken, möchten aber immerhin darauf aufmerksam machen, daß schon unsere kleinsten Dosen imstande waren, derartige Vergiftungssymptome hervorzurufen. Besondere anatomische Veränderungen am Darm konnten wir speziell nicht konstatieren. Anfangs glaubten wir, etwas Charakteristisches in der oft zu beobachteten Schwellung der Peyerschen Plaques gefunden zu haben. Wir konnten uns jedoch überzeugen, daß derartige Schwellungen im Kaninchendarm auch normalerweise nicht gerade seltene sind. Ebenso wenig charakteristisch ist die parenchymatöse Degeneration der Nieren, Kongestion der Leber usw., die öfters hervorgehoben wird“ (Chantemesse).

Selbst die letale Dosis des lebenden Typhusbacillus ist bekanntlich nicht imstande, die charakteristischen Darmveränderungen an Versuchstieren hervorzurufen, und natürlich vermögen auch die Toxine nicht, in gewöhnlicher tödlicher Dosis dieselben hervorzurufen. In manchen Fällen arbeiten die Bakteriologen bei der Toxinuntersuchung mit tödlicher Dosis, und abgesehen von Serumprüfungen haben sie es fast niemals nötig, dieselbe darüber zu steigern. Das ist meiner Meinung nach gerade der Grund dafür, daß die charakteristischen Veränderungen von ihnen übersehen wurden. Bei den vorliegenden Versuchen benötigte es stets einer erheblich großen Dosis der stark wirkenden Toxine, besonders des Endo-

toxins, dessen minimal tödliche Dosis aber weit kleiner ist und etwa ein Zehntel beträgt.

A. Versuche mit Exotoxin.

Es werden hierzu 6 Kaninchen benutzt.

1. Akute Vergiftung.

Kaninchen No. 147, Körpergewicht 2100 g.

Frisches Exotoxin 5,0 ccm pro Kilo in die Ohrvene warm eingespritzt. 3 Stunden nach der Einspritzung trat Lähmung zuerst an den hinteren, dann an den vorderen Extremitäten ein. Tod nach 4 Stunden.

Es fand sich anatomisch:

- 1) Blutfüllung der beiden Herzen (diastolischer Stillstand, Lähmung).
- 2) Kleine Blutungen der Lungen.
- 3) Starke, trübe Schwellung der Nieren, besonders der Rinde.
- 4) Schwellung der Nebennieren.
- 5) Blutüberfüllung der Leber.
- 6) Füllung der Harnblase.
- 7) Katarrh des Dünndarms.

Mikroskopisch:

- 1) Disseminierte Koagulationsnekrose, wachsartige Degeneration der Herz-, besonders der Papillarmuskelfasern.
- 2) Deutliche Trübung und Abstoßung von Epithelien der Glomeruluskapseln und der gewundenen Haarkanälchen; Hämorrhagien im Glomerulus und Interstitium der Nieren.
- 3) Leichte, trübe Schwellung der Parenchymzellen der Leber; Erweiterung und Blutfüllung von Gefäßen des Pfortadersystems.
- 4) Hyperämie und kleine Blutungen im Mark, Kapillarblutungen in der Rinde der Nebennieren.

Kaninchen No. 144, Körpergewicht 2270 g.

Ebenso frisches Exotoxin in gleicher Dosis und in gleicher Weise injiziert. Nach 25 Stunden Tod. Mehrere Stunden vor dem Tode Lähmung der Extremitäten, breiige Diarrhöe und Erbrechen. Körpergewicht 1840 g.

Es fanden sich anatomisch:

- 1) Lähmungsstillstand und leichte Trübung des Muskels des Herzens.
- 2) Starke Schwellung, starke, grauweißliche Trübung der Läppchen und dazwischen liegende Blutungen der Nieren.
- 3) Hyperämie der Nebennieren.
- 4) Blutfüllung der Leber.
- 5) Lähmung der Harnblase.
- 6) Hyperämie der Hirnhäute.

Mikroskopisch:

- 1) Koagulationsnekrose der Herzmuskelfasern (wachsartige Degeneration).
- 2) Hochgradige Nekrotisierung und Abstoßung der Epithelien der gewundenen Harnkanälchen und der Glomeruluskapseln, Nekrotisierung und Blutung des Glomerulus, größere und kleinere Blutungen des Interstitiums der Nieren.
- 3) Hyperämie und Blutungen der Nebennieren.
- 4) Leichte Trübung und Hyperämie der Leber.

Kaninchen 145, Körpergewicht 1700 g.

In gleicher Weise mit frischem Exotoxin behandelt. Tod 21 Stunden nach der Injektion mit gleichen Symptomen und dabei breiiger Diarrhöe. Körpergewicht 1550 g.

Anatomische Befunde:

- 1) Lähmungsstillstand und leichte Trübung der Muskulatur des Herzens.
- 2) Schwellung, Hyperämie und starke Trübung der Rindensubstanz der Nieren.
- 3) Große, die Marksubstanz total bedeckende Blutung und dementsprechend starke Vergrößerung einer Nebenniere.
- 4) Blutfüllung der Leber.
- 5) Lähmung der Harnblase.
- 6) Hyperämie der Hirnhäute.

Mikroskopische Befunde:

- 1) Koagulationsnekrose der Herzmuskelfasern.
- 2) Koagulationsnekrose und Abstoßung der Epithelien der gewundenen Harnkanälchen und der Glomeruluskapseln sowie Hyperämie und Blutungen der Nieren.
- 3) Kleine Blutungen der Milz.
- 4) Blutfüllung und leichte Trübung der Leber.

- 5) Vereinzelt, von leichter Blutung und stark getrübttem Leberparenchym umgebene, kleine, follikuläre Leukocytenanhäufungen am intraacinösen Gefäße in der Leber¹⁾.
 6) Große Hämorrhagie und dementsprechende Verdrängung und Verschmälerung der Rindenschicht der Nebenniere.

Kaninchen No. 143. Körpergewicht 3100 g.

Ebenso frisches Exotoxin im gleichem Verhältnisse und mit gleicher Vorsicht 48 Stunden nach der Injektion starb das Tier nach 12-stündigem Lähmungszustand und dazu mit massenhafter, breiiger Diarrhöe. Körpergewicht 2400 g.

Anatomische Befunde:

- 1) Lähmungsstillstand sowie Trübung der Muskulatur des Herzens.
- 2) Hochgradige trübe Schwellung der Nieren.
- 3) Vergrößerung und Hyperämie der Nebennieren.
- 4) Blutfüllung der Leber.
- 5) Lähmung der Harnblase.
- 6) Darmkatarrh.

Mikroskopischer Befund:

- 1) Koagulationsnekrose und leichter Zerfall der Herzmuskelfasern.
- 2) Ausgedehnte Koagulationsnekrose und Homogenisierung, insbesondere des Glomerulus und der gewundenen Harnkanälchen, Zylinderbildung, Blutung und interstitielle Rundzelleninfiltration der Nieren.
- 3) Hyperämie und Kapillarblutungen der Nebennieren.
- 4) Blutfüllung der Leber.
- 5) Kleine Blutungen der Milz.

2. Chronische Vergiftung.

Kaninchen No. 142, Körpergewicht 2400 g.

6 Tage altes Exotoxin 5,0 ccm pro Kilo warm intravenös; fast vollkommenes Aufhören der Freßlust, Schwäche, Tod am 8. Tage. Körpergewicht 1500 g.

Anatomische Befunde:

- 1) Atrophie der Gedärme.
- 2) Lähmungsstillstand des Herzens.
- 3) Grau- und Starrwerden der Herzmuskulatur, besonders stark des Papillarmuskels.
- 4) Hochgradige Trübung, besonders der Rinde der Nieren.
- 5) Schwellung und Hyperämie der Nebennieren.
- 6) Interstitielle Hepatitis (Coccidium?).
- 7) Lähmung der Harnblase.

Mikroskopische Befunde:

- 1) Fibröse Verdickung des Epi- und Endocardiums.
- 2) Koagulationsnekrose, Kalkablagerung und Fragmentation der Herzmuskelfasern, insbesondere des Papillarmuskels.
- 3) Hochgradige Nephritis; aber leichter als die des Kaninchen No. 143.
- 4) Interstitielle Hepatitis (coccidiös).

Kaninchen No. 140, Körpergewicht 2300 g.

Ebenso altes Exotoxin, 5,0 ccm pro Kilo Körpergewicht intravenös. Am 12. Tage in sehr geschwächtem Zustand getötet. Körpergewicht 1250 g.

Anatomische Befunde:

- 1) Atrophie der Gedärme.
- 2) Zerstreute, aber am Papillarmuskel ausgedehnte, graue, knorpelige Verhärtung des Herzmuskels.
- 3) Hochgradige Trübung der Nieren.
- 4) Schwellung und Hyperämie der Nebennieren.
- 5) Verkleinerung der Milz.
- 6) Trübung und Blutfüllung der Leber.
- 7) Pralle Füllung der Blase mit klarem Harn.

Mikroskopische Befunde:

- 1) Hochgradige Kalkablagerung, Fragmentation und Vakuolenbildung (Fett?) der Herzmuskelfasern, besonders des Papillarmuskels.
- 2) Starke, trübe Schwellung, hier und da Koagulationsnekrose und Bildung der hyalinen Zylinder der Nieren.
- 3) Zirkumskripte Nekrotisierung mit Kalkablagerung einer Nebenniere.
- 4) Trübung der Leber.

1) Nach Wagner und Hoffmann ist eine derartige Leukocytenanhäufung in dem Leberparenchym charakteristisch für den Menschentyphus (9).

Epikrise.

Die Reaktionen des Organismus lassen sich beim Exotoxin je nach dem Verlaufe der Vergiftung in akute (beim frischen Toxin) und in subakute bis chronische (beim veralteten Toxin) einteilen. Unter den klinischen Symptomen und pathologisch-anatomischen und histologischen Veränderungen sind die folgenden als charakteristische zu betrachten:

- 1) Temperaturanstieg (bei kleineren Dosen).
- 2) Lähmung der hinteren, oft auch der vorderen Extremitäten und der Harnblase.
- 3) Oft auftretende, breiige Diarrhöe.
- 4) Totaler Verlust der Freßlust und hochgradiger Marasmus.
- 5) Ein konstantes Zeichen der Herzlähmung (diastolischer Stillstand).
- 6) Koagulationsnekrose oder die wachsartige Degeneration (bei akuter Vergiftung) und die darauffolgende Kalkablagerung der Herzmuskelfasern.
- 7) Hochgradige Koagulationsnekrose der Niere glomerulo-nephritischer Natur (nach Hiwatari).
- 8) Schwellung und oft zu Hämorrhagien führende Hyperämie und manchmal eine herdweise auftretende Nekrotisierung und darauffolgende Kalkablagerung der Nebenniere.
- 9) Trübe Schwellung der Leber.
- 10) Follikuläre Leukocytenanhäufung in dem Leberparenchym [nach Wagner und Hoffmann (9)].

Die parenchymatöse, beim längeren Verlaufe dabei interstitielle Entzündung der Leber und der Niere ist im strengsten Sinne wohl nicht als charakteristisch zu betrachten, weil dieselbe auch bei manchen anderen Giftwirkungen angetroffen wird.

Unter 56 zum Exotoxinversuche benutzten Kaninchen wurden 40 ziemlich genau pathologisch-anatomisch und histologisch beobachtet, und ich habe hierbei qualitativ immer dieselben Veränderungen konstatieren können. Hierunter habe ich niemals die für Typhus charakteristische Veränderung am Darm gefunden, nur vereinzelt von Dick- und Blinddarm bis zum Ende des Mastdarms immer stärker auftretende, größere und kleinere Blutungen der Schleimhaut (einmal eine schwere, zweimal eine leichtere), bei welchen aber keine eigentümliche Veränderungen an den follikulären Apparaten zu bemerken waren. Nicht sehr selten wurde bei Tieren, welche meist coccidiöse Veränderungen am Darm und an der Leber hatten, eine markige, nicht von Hyperämie, Blutung und Nekrose begleitete Schwellung der Payerschen Plaques beobachtet, was aber natürlich nicht als charakteristisch zu bezeichnen ist. Kurz, ich habe bei meiner Exotoxinvergiftung keine charakteristischen Veränderungen am Darne konstatieren können.

B. Versuche mit Endotoxin.

Kaninchen No. 150, Körpergewicht 1750 g.

7 Tage altes Endotoxin 5,0 ccm pro Kilo Körpergewicht in die Ohrvene warm eingespritzt. Totales Aufhören der Freßlust; reichliche, blutig verfärbte, breiige Diarrhöe. Tod 11 Stunden nach der Injektion ohne Lähmungszustand. Körpergewicht 1400 g.

Anatomische Befunde:

- 1) Allgemeine Hyperämie und kleine Blutungen an den serösen Häuten und Muskeln.
- 2) Systolischer Stillstand des Herzens.
- 3) Kleine Blutungen der Lungen.
- 4) Leichte Trübung und Hyperämie der Nieren.
- 5) Hochgradige Hyperämie und daneben hochgradiger Katarrh der ganzen Darm-schleimhaut mit blutig-sero-schleimigem Inhalt.
- 6) Aeußerst hochgradige Schwellung, Hämorrhagie und teilweise Nekrose der follikulären Apparate, insbesondere am Dünndarm, an der Ileocöcalgegend und am Appendixende.
- 7) Markige Schwellung und Hämorrhagie der Mesenterialdrüsen und der Thymus.

8) Kleine Milz.

9) Stark kontrahierte Harnblase.

Mikroskopische Befunde:

1) Leichtgradige, wachsartige Degeneration der Herzmuskelfasern und dazwischen Kapillarblutungen.

2) Leichte Hyperämie der Milz ohne Follikelschwellung.

3) Deutliche, trübe Schwellung der Epithelien der Glomeruluskapseln und der gewundenen Harnkanälchen, Hyperämie und Kapillarblutungen der Nieren.

4) Die erheblichen Veränderungen der Payerschen Plaques und der anderen follikulären Apparate des Darms, welche uns an diejenigen des menschlichen Typhus in der 2. bis in die 3. Woche erinnern. Hochgradige markige Schwellung mit Epitheloidzellen, Hyperämie und Hämorrhagien, zentrale Nekrotisierung und anfängliche Schorf- und Geschwürsbildung.

5) Markige Schwellung, hochgradige Hyperämie und Hämorrhagie der Mesenterialdrüsen ohne Nekrotisierung.

6) Thrombenbildung der um die Mesenterialdrüsen liegenden mittleren und kleineren Venen.

7) Hochgradige Hyperämie und Hämorrhagie der Thymusdrüse.

8) Leichte Blutfüllung der Leber.

Der oben geschilderte Fall No. 150 bildet ein gutes Beispiel für die akute Endotoxinvergiftung. Häufiger hatte ich Gelegenheit, noch viel heftigere Veränderungen am Darm, als die oben genannten zu beobachten, welche jedoch wegen der gleichzeitigen Coccidiose am Darm und in der Leber hier nicht als typisch gelten können. Andererseits indessen waren die Veränderungen nicht selten weit leichter, meist je nach der Dosierung des Toxins, so daß man dieselben falscherweise mit Stenitzer, Chantemesse und einigen anderen für nicht-spezifisch halten möchte (6).

Unter 104 zum Experimente genommenen Kaninchen wurden 71 ziemlich genau beobachtet, die übrigen 33 aber waren entweder wegen des momentanen Absterbens bei der Toxineinspritzung oder aus anderen Ursachen von der Beobachtung ausgeschlossen. Unter diesen 71 Fällen hatten 50 (mehr als 70 Proz.) die charakteristische Veränderung am Darm. Je nach dem Grade der Darmveränderung konnten diese 50 Fälle in 13 (26 Proz.) hochgradige, in 24 (48 Proz.) mittelgradige und in 13 (26 Proz.) leichte eingeteilt werden. Außer diesen 50 Fällen hatten 9 nicht-charakteristische größere und kleinere Blutungen der Darmschleimhaut, wie sie auch oben beim Exotoxin beschrieben worden sind. Sehr oft habe ich dazu heftige Blutung der Magenschleimhaut beobachtet, besonders bei denjenigen, die meist gerade die schweren Veränderungen am Darm hatten.

Die Milz war bei allen Versuchen mit den beiden Toxinen immer klein geblieben, nur abgesehen davon, daß sie bei vereinzelt Tieren, welche schwer coccidiös erkrankt waren, nur leicht angeschwollen war.

Epikrise.

Das Endotoxin erzeugt beim Kaninchen bei intravenöser Injektion hauptsächlich die charakteristische Typhusveränderung am Darm, und zwar bei größerer Toxinmenge, und starken Katarrh der Gedärme und dementsprechend fast ausnahmslos die reichliche, breiige bis sero-schleimig-blutige Diarrhöe während des Lebens.

Die beim Endotoxin beobachteten Veränderungen der parenchymatösen Organe wurden wahrscheinlich nicht durch echtes Endotoxin erzeugt, sondern durch das genannte Exotoxin. Ich nehme dabei zwei Momente an: 1) das Uebrigbleiben des Exotoxins bei der Abtrennung von den Bakterienleibern; 2) die Umwandlung eines Teiles des Endotoxins resp. der im Bakterienleib enthaltenen Vorsubstanz des Exotoxins durch die

Einwirkung des Körpersaftes auf das Exotoxin; das hier gebildete Exotoxin zeigt bei den charakteristischen Endotoxinveränderungen auch leichtgradige Exotoxinwirkung.

Für die Erzeugung der Darmveränderung genügt die kleine tödliche Dosis nicht, sondern es ist stets eine erheblich große Menge von Endotoxin erforderlich. Dies wäre aber gerade der Grund dafür, daß die pathogene Wirkung des Typhustoxins von vornherein im Dunkeln gelassen und sogar für unmöglich gehalten wurde, während die des Dysenterietoxins schon vielfach erforscht worden ist. Um die typhöse Darmveränderung zu erforschen, scheint mir das größere und kräftigere Tier besser als das jüngere und schwächere. Unter 21 negativen Darmveränderungen beträgt bei 14 das Körpergewicht unter 1500 g, dagegen waren keine, bei denen das Körpergewicht über 2000 g betrug und bei denen die Darmveränderung sich nicht einstellte. Meiner Erfahrung nach leidet dazu das jüngere Kaninchen viel häufiger an Coccidiose als das größere. Die *Coccidium*-Erkrankung stört oft die Beobachtung der Darmveränderung.

C. Fütterungsversuch mit Endotoxin.

Ob das Endotoxin resp. die abgetöteten Bacillen, in den Verdauungstraktus gebracht, auch die charakteristische Veränderung zu erzeugen imstande sind, muß auch von Interesse sein, weil bisher im allgemeinen angenommen wird, daß bei natürlicher Typhusinfektion der Erreger lediglich per os aufgenommen wird, und jene charakteristischen Veränderungen hervorgerufen werden.

Kaninchen No. 73, Körpergewicht 1120 g.

Die vom Exotoxin abgewaschene, nicht zerriebene, 30 Minuten bei 60–70° C abgetötete Bacillenleibersubstanz aus einer ganzen Roux'schen Flasche (entspricht 10 ccm Endotoxin) wurde mittels Katheters in den Magen gebracht. 22 Stunden nach der Einführung wurde bei etwas abgeschwächtem Zustand getötet.

Es fand sich:

- 1) Hyperämie und starker Katarrh der oberen Hälfte des Dünndarms.
- 2) Markige Schwellung und Hyperämie der Peyerschen Plaques sowie der follikulären Apparate in der Ileocöcalgegend und am Appendixende.
- 3) Leichte Trübung der Nieren.

Kaninchen No. 74, Körpergewicht 1380 g.

Ebenso gewaschene, abgetötete, nicht zerriebene Bacillen aus ganzen zwei Flaschen in den Magen. 22 Stunden nach der Fütterung in sehr abgeschwächtem Zustand getötet.

Es fand sich:

- 1) Hyperämie und starker Katarrh des ganzen Dünndarms.
- 2) Markige Schwellung und ziemlich starke Hyperämie der follikulären Apparate des Darms und der Mesenterialdrüse.
- 3) Leichte Trübung der Nieren.

Kaninchen No. 76, Körpergewicht 1050 g.

Gleiche Bacillenleibersubstanz aus einer ganzen Flasche in den Magen. 40 Stunden nach der Fütterung Exitus.

Es zeigten sich aber keine besonderen Veränderungen am Darm.

Kaninchen No. 75, Körpergewicht 1400 g.

Abgetötete Bacillen aus ganzen zwei Flaschen in den Magen. Nach zweitägiger Abschwächung und Freßunlust erholt und überlebt.

Epikrise.

Obschon mir in den oben beschriebenen 4 Fällen die mikroskopische Untersuchung fehlt, konnte ich doch eine ziemlich charakteristische typhöse Veränderung am Darm bei 2 Kaninchen beobachten, welche mit einer sehr großen Menge von Bakterienleibern (Endotoxin) gefüttert und 22 Stunden nach der Fütterung getötet worden waren. Es ist hier ferner

zu bemerken, daß die toxische wie die pathogene Wirkung des Toxins bei der Fütterung im Vergleiche mit der intravenösen Injektion außerordentlich schwächer wird. So blieb ein Kaninchen (No. 75) schließlich am Leben, obwohl es mit ganzen zwei Flaschen Bakterienleibersubstanz (entspricht 20 ccm Endotoxin) gefüttert worden war.

D. Ziege.

Zwecks Immunisierung habe ich je zwei Ziegen mit den beiden Toxinen behandelt. Die Ziege ist eigentlich viel empfänglicher gegen meine zwei Toxine als Kaninchen usw. So verlor ich drei unter vier Ziegen, ohne den gewünschten Zweck erreichen zu können.

Ziege No. 1, Körpergewicht etwa 25 kg.

Am 1. Tage frisches Endotoxin 1,0 ccm intravenös eingespritzt, 3 Tage dauernde Temperatursteigerung, Aufhören der Freßlust; am 7. Tage in erholtem Zustande wieder 1,0 ccm frischen Endotoxins ohne geschädigt zu werden; am 13. Tage 2,0 ccm von 7 Tage altem Endotoxin; zweitägige Temperatursteigerung, Schwäche und fast totales Aufhören der Freßlust; am 24. Tage Exitus.

Es fand sich:

- 1) Leichte markige Schwellung der Peyerschen Plaques und der Solitärfollikel mit leichter Hyperämie und ohne Blutung.
- 2) Allgemeine Amyloiddegeneration, besonders heftig in der Milz.
- 3) Aeußerst hochgradige Hyalinzylinderbildung der Nieren.

Ziege No. 2, Körpergewicht etwa 18 kg.

In gleicher Weise wurde das Endotoxin intravenös gegeben, und zwar am 1. Tage 0,5 ccm, am 7. Tage wieder 0,5 ccm, am 13. Tage 1,0 ccm. Am Morgen nach der Injektion tot.

Es fand sich:

- 1) Leichte markige Schwellung und Hyperämie der folliculären Apparate des Dünndarms.
- 2) Blutfüllung und leichte Erweichung der Milz.
- 3) Blutfüllung, trübe Schwellung und vereinzelt Hyalinzylinderbildung der Nieren.
- 4) Leichte Schwellung und Hyperämie der Nebennieren.
- 5) Blutfüllung, Kapillarblutung, fettige Degeneration und Infiltration der Leber.

Ziege No. 3, Körpergewicht etwa 20 kg.

Am 1. Tage frisches Exotoxin 1,0 ccm intravenös, zwei Tage dauernde leichte Temperatursteigerung, Verminderung der Freßlust; am 7. Tage wieder frisches Exotoxin 1,0 ccm; anaphylaktisches Niederlegen während mehrerer Minuten, leichte Temperatursteigerung bis zum nächsten Tage, am 13. Tage 2,0 ccm von 8 Tage altem Exotoxin; am Morgen nach der letzten Injektion tot gefunden.

Es fand sich:

- 1) Diastolischer Stillstand des Herzens.
- 2) Hochgradige trübe Schwellung und Abstoßung der Epithelien der Glomeruluskapseln und der gewundenen und geraden Harnkanälchen, Blutfüllung und kleine Blutungen der Nieren.
- 3) Blutfüllung und Kapillarblutungen der Leber.

Epikrise.

Bei einer subakuten Endotoxinvergiftung einer Ziege (No. 1, dreimalige Injektion in 13 Tagen, Tod am 24. Tage) fand ich eine hochgradige allgemeine Amyloiddegeneration nebst leichtgradiger, aber charakteristischer Darmveränderung; bei einer anderen (No. 2, dreimalige Injektion in 13 Tagen, Tod am 14. Tage) Blutfüllung und parenchymatöse Entzündung der Niere und der Nebenniere, fettige Infiltration und Degeneration der Leber und dabei typische Darmveränderung, obgleich nur leichtgradig. Bei einer subakuten Vergiftung mit Exotoxin (No. 3, dreimalige Injektion in 13 Tagen, Tod am 14. Tage) leichte Entzündung und Blutfüllung der parenchymatösen Organe.

Meine Ansicht über die Darstellung von Typhustoxinen.

Im Dezember 1909 habe ich in der Medizinischen Gesellschaft zu Osaka einen Vortrag „Ueber die Toxinproduktion der Typhusbacillen verschiedener Stämme“ gehalten, in welchem etwa folgendes gesprochen worden ist: Das Giftproduktionsvermögen der Typhusbacillen ist sehr verschieden je nach den Stämmen, und zwar sind einige stark giftproduzierend, während die meisten anderen sehr schwach oder sogar dazu nicht fähig sind.

Wenn man jedoch berücksichtigt, daß der Typhus abdominalis, abgesehen von einigen atypischen Formen, immer eine besonders eigentümliche Krankheitsform darstellt, so werden wir ohne weiteres zu dem Schlusse kommen, daß eine solche übereinstimmende Eigentümlichkeit bald durch einen sehr stark giftproduktionsfähigen Stamm, bald durch einen sehr schwach oder gar nicht giftproduzierenden nicht herbeigeschafft wird. Durch meine obigen Experimente haben wir jetzt den sicheren Beweis erbracht, daß sowohl die klinischen Symptome als auch die pathologischen Veränderungen des Abdominaltyphus stets durch ein von den Keimen abgesondertes Stoffwechselprodukt (Exotoxin) einerseits, durch in ihrem Körperinnern enthaltenen Giftstoff (Endotoxin) andererseits hervorgerufen werden. Es scheint demnach berechtigt, anzunehmen, daß alle Typhusstämme bei ihrer natürlichen Infektion nicht bloß durch das von Pfeiffer angenommene, in ihrem Körperinnern enthaltene Toxin (Endotoxin), sondern auch durch das während ihres Lebens produzierende Gift (Exotoxin) sowohl den Symptomenkomplex als auch die pathologischen Veränderungen so charakteristisch machen, wie man es kennt. Warum produzieren einige außerhalb des Organismus, auf Nährböden, noch stark Giftstoff, die meisten anderen aber nicht?

Meiner Meinung nach sind die Bedingungen in der Außenwelt, welche zur Entwicklung und Giftproduktion der Bakterien nötig sind, nicht so vollkommen, wie im menschlichen Organismus. So sind die meisten nicht imstande, in gewöhnlichen Nährböden den Giftstoff zu produzieren. Es gibt aber selten einen solchen, welcher beim Fehlen einiger Bedingungen nicht bedeutend beeinflußt wird und auch in der Außenwelt in einem gewissen Grade Gift zu produzieren vermag. Derartiges kennt man schon von Diphtheriestämmen, unter welchen sehr selten ein äußerst stark toxinproduzierender gefunden wird, und zwar wohl unabhängig von der Schwere der Symptome der von ihm angesteckten Menschen. Vom Typhusbacillus möchte ich daher auch sagen, daß man bei ihm dieselben Verhältnisse finden kann.

Wenn man deshalb recht wirksame Gifte gewinnen und für ihre Eigenschaften eine richtige Erklärung geben, ihre pathogene Wirkung genau beobachten und dabei ein wirksames Heilserum herstellen will, so muß man sich stets in dieser Hinsicht einen guten Bakterienstamm herauszufinden bemühen.

Ich will es aber nicht unerwähnt lassen, daß wir uns auch nach Herstellung der Nährböden und Züchtungsweise bemühen, für die Bakterien die nötigen Lebensbedingungen zu schaffen und dadurch ein starkes Toxin zu erhalten.

Verschiedene Autoren haben das Typhusgift nicht für einheitlich gehalten. Rodet (11) hatte bei den Typhusgiften holotoxikogene und merotoxikogene Eigenschaften angenommen; Garbat und Meyer (2)

unterschieden durch Bindung mit Antityphusserum auch zwei Gifte, deren eines ein Bacillenhüllengift ist, welches erst im lebenden Organismus Giftwirkung zeigt und aus demselben Agglutinin und Bakteriolyisin sowie komplementbindende Substanz erzeugt, während das andere das Endotoxin ist, welches erst durch Einwirkung von Bakteriolyisin auch im Organismus frei wird und aus dem hauptsächlich die bakteriotropischen sowie mehr oder weniger heilwirksamen Antikörper erzeugt werden sollen. Bei der Dysenterie nehmen Pfeiffer und seine Schüler (10) auch zwei Gifte, das sogenannte paretische und das marantische Gift, an.

Alle diese Gifte indessen sind nicht nur andere als vermutet wird, worauf durch die verschiedenen Reaktionen durch dasselbe Giftmaterial geschlossen wurde, und niemand konnte deshalb diese einzelnen Gifte, die verschiedene eigentümliche Wirkung haben, getrennt in der Hand haben.

Im vorigen Jahre (auf dem Japanischen medizinischen Kongreß in Osaka, April 1910), wo ich das Resultat dieses Experiments veröffentlicht habe, hatte Herr Dr. Horimi (4) auch seine Resultate von Experimenten an Dysenterietoxinen nebst derartigen Anschauungen publiziert, wobei er von zweierlei, physikalisch voneinander trennbaren Toxinen, welche die verschiedenen Wirkungen zeigen, gesprochen hat.

So ist es uns, Horimi (am Dysenterie-) und mir (am Typhusbacillus), zum allerersten Male gelungen, die zwei voneinander verschieden wirkenden Toxine wirklich voneinander zu trennen und in einer ziemlich ungemischten Form darzustellen.

Zusammenfassung.

I. Der Typhusbacillus bildet wenigstens zwei Toxine, das Exo- und das Endotoxin.

II. Das Exotoxin ist ein lösliches Gift, welches auch auf gewöhnlichen Nährböden in relativ kürzerer Zeit produziert wird. Es wirkt auf verschiedene Tiere giftig, und zwar am stärksten auf die Ziege. An Kaninchen (und Ziege) erzeugt es bei intravenöser Injektion: 1) Temperatursteigerung; 2) Lähmung der hinteren, oft auch der vorderen Extremitäten, der Harnblase sowie zuletzt des Herzens; 3) Herabsetzung der Freßlust und starken Marasmus; 4) Koagulationsnekrose oder wachsartige Degeneration und darauffolgende Kalkablagerung und Fragmentation der Herzmuskelfasern; 5) eine hochgradige Entzündung mit Koagulationsnekrose der Niere (nach Hiwatari); 6) Schwellung und oft zu Hämorrhagieen führende Hyperämie sowie manchmal eine herdweise auftretende Nekrotisierung und darauffolgende Kalkablagerung der Nebenniere; 7) trübe Schwellung der Leber; 8) oft auftretenden Katarrh des Darmes und Diarrhöe.

III. Das Endotoxin wird durch einfache Zerreibung und Extrahierung der Bakterienzellen gewonnen und wirkt auch auf verschiedene Tiere stark giftig, und zwar am stärksten auf die Ziege. Es erzeugt an dem Kaninchen (und der Ziege) bei intravenöser Injektion: 1) was besonders wichtig ist, die charakteristischen typhösen Veränderungen am Darne, und zwar bei größerer Toxinmenge, sowie starken Katarrh der Gedärme

und dementsprechend reichliche, breiige bis sero-schleimig-blutige Diarrhöe fast ausnahmslos während des Lebens; 2) Temperatursteigerung; 3) Herabsetzung der Freßlust und äußerst hochgradigen Marasmus; 4) Schwellung, Hyperämie und Blutung der Mesenterialdrüsen und der Thymusdrüse; 5) oft auftretende Blutung der Magenschleimhaut.

IV. Das Endotoxin vermag, per os appliziert, auch die charakteristischen Darmveränderungen hervorzurufen. Die toxische und pathogene Wirkung desselben scheint aber in diesem Falle erheblich abzunehmen.

V. Zur Bildung der charakteristischen Veränderungen des Typhus abdominalis am Darne bedarf es deshalb nicht immer der parasitären Ansiedelung der Erreger, sondern es genügen auch nur Giftstoffe, welche künstlich aus dem Typhusbacillus hergestellt worden sind.

VI. Daß die Toxine, in welchen keine lebenden Bacillen vorhanden sind, sich mit den beliebten Organen oder Zellgruppen verbinden und hier eine charakteristische Veränderung hervorrufen können — sich aber an den bestimmten Herden lokalisieren — ist ohne weiteres auf die chemische Affinität derselben zu den betreffenden Organen oder Zellgruppen zurückzuführen.

Es ist mir die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. A. Sata, für seine Leitung, Herrn Prof. Fukuhara, dem Vorstand des bakteriologischen Instituts, Herrn Dr. Murata, dem damaligen Prof. extr. am pathologischen Institut, und den Herren Dr. Kurashige und Dr. Onishi, Assistenten der Klinik, für die freundliche Unterstützung, sowie Herrn Dr. Hiwatari für seine gütige Ueberlassung der wertvollen Nierenstückchen meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Doerr, Das Dysenterietoxin. p. 190.
- 2) Garbart u. Mayer, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. 8. Heft 1.
- 3) Gottstein u. Matthes, Verhandl. d. 24. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden. April 1907.
- 4) Horimi, III. Japan. med. Kongr. April 1910.
- 5) Hiwatari, Mitt. d. med. Gesellsch. Tokyo. Bd. 24. Heft 24.
- 6) Kraus-Levaditi, Handbuch der Immunitätsforschung.
- 7) Lubarsch-Ostertag, Ergebn. d. allg. Pathol. etc. 1899, 1902, 1908.
- 8) Lüdke, Physiolog.-med. Gesellsch. zu Würzburg. Juli 1909.
- 9) Nothnagels Handbuch. Bd. 3.
- 10) Pfeiffer u. Selter, 4. Deutsch. Biologentag.
- 11) Rodet, Wolff-Eisner, Handbuch der Serumtherapie. 1910.
- 12) Wada, Arch. f. d. gesamt. Physiol. Bd. 139. p. 141.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Uebersicht der Gedärme eines Kaninchens, das 10,0 ccm Endotoxin intravenös erhalten hatte, nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden verendet und 12 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt war. Schwellung, Hyperämie und Hämorrhagie der Peyerschen Plaques des Ileums, der Ileocöcalgegend, des Appendixendes und kleine Blutungen der ganzen Dünndarmschleimhaut; die Blutungen sind während des Aufbewahrens etwas imbibiert; sowie Blutung des Magens (schwarz).

Fig. 2. Peyersche Plaque und kleine Blutungen der Dünndarmschleimhaut eines Kaninchens, das 6,0 ccm Endotoxin intravenös erhalten hatte und nach 9 Stunden verendet war. Schwellung, Hyperämie, Hämorrhagie und anfängliche Nekrotisierung.

Fig. 3. Peyersche Plaque desselben Kaninchens.

*Nachdruck verboten.***Ueber das Verhalten von Pyocyanase zu Diphtherietoxin.**Von **R. Emmerich** und **O. Loew**, München.

Vor nunmehr 13 Jahren hatten wir gefunden, daß Pyocyanase nicht nur die Diphtheriebacillen auflöst, sondern auch die toxische Wirkung des Diphtherietoxins aufhebt¹⁾. Späterhin hat Strubell²⁾ eine Anzahl von Versuchen angestellt, die im wesentlichen unsere Resultate bestätigten. In jüngster Zeit nun hat Morgenroth³⁾ entgegnet, daß unsere Versuche über das Diphtherietoxin nicht beweisend seien, weil eine genügende Einstellung des Giftes fehle. Er hat nun eine Anzahl Versuche ausgeführt, bei denen er kleine, nicht akut tödliche Dosen von Diphtheriegift mit 0,5 ccm Pyocyanase 1—24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen ließ und dieses Gemisch Meerschweinchen subkutan injizierte. Da das Tier dann viel früher starb als das Kontrolltier, schloß er, daß die Pyocyanase die Wirkung des Diphtherietoxins verstärkte statt abschwäche, wie wir gefunden hatten. Da er aber selbst von „gewisser Unregelmäßigkeit“ spricht und die Verstärkung nicht immer mit Sicherheit zu erzielen ist, so würde der uns von Morgenroth gemachte Einwurf von der großen „Variationsbreite“ ja auch für seine Resultate passen.

Wenn man nun genau zusieht, so hat Morgenroth gar kein Recht, unsere Schlüsse nach seinen Beobachtungen anzuzweifeln, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Wir haben hauptsächlich im Tiere, Morgenroth aber in vitro die Wirkung beider Substanzen aufeinander beobachtet; die Vorgänge verlaufen bekanntlich nicht immer in beiden Fällen in gleicher Weise.

2) Ein Unterschied von zwanzig Graden Temperatur kann bei so leicht veränderlichen Körpern wie das Diphtherietoxin sehr viel ausmachen. Morgenroth hat sein Gemisch bei Zimmertemperatur stehen lassen, aber sowohl bei unseren als bei Strubells Versuchen herrschte Bruttemperatur.

3) Wir haben mit weit größeren Mengen von Pyocyanase gearbeitet, dieselben betragen bis das 5-fache von den Dosen von Morgenroth und wurden fraktionsweise in längeren Zwischenräumen den Tieren injiziert. Mehrmals verwendeten wir auch Lösungen von vorher mit Alkohol gefällter Pyocyanase⁴⁾.

Zwar hat Morgenroth auch einen Versuch gemacht, bei welchem Diphtherietoxin und Pyocyanase gleichzeitig an verschiedenen Stellen des Tieres injiziert wurden, und hier konnte er gar keine Verstärkung der Giftwirkung beobachten. Hätte Morgenroth solche Tierversuche aber weiter ausgedehnt, so wäre er sicherlich bei Injektion größerer Mengen Pyocyanase in die Muskeln zu demselben Resultat gekommen wie wir. Wenn man die Angaben anderer nachprüfen will, so sollte man gerechterweise auch die Versuche genau so ausführen. Gegen dieses Prinzip wird leider sehr häufig gefehlt und dann daraus Schlüsse gezogen, die ebenfalls verfehlt sind.

1) Zeitschr. f. Inf.-Krankh. Bd. 31. p. 50.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 426.

3) Charité-Ann. Bd. 35. 1911. p. 392.

4) Es mag hier noch angeführt werden, daß die Pyocyanasepräparate des Handels manchmal kleine Unterschiede aufweisen können.

Die Befunde von Morgenroth und von uns brauchen, wie ersichtlich, aber einander nicht zu widersprechen; denn es ist ja möglich, daß ein „Toxoid“ in den Diphtheriekulturen durch Pyocyane zunächſt „aktiviert“ und dieser labilen Subſtanz der Giftcharakter unter weiteren Veränderungen wieder genommen wird, wenn größere Pyocyanasemengen längere Zeit bei höherer Temperatur darauf einwirken¹⁾.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss von Organerkrankungen auf die Extraktwerte bei der Wassermann-Reaktion.

[Aus dem Staatl. Serotherapeutischen Institute in Wien
(Vorstand: Hofr. Prof. Paltauf).]

Von Dr. F. So, Tokio.

Von den beiden aufeinander reagierenden Körpern — Extrakt und Serum — welche die Komplementbindung bei der Wassermann-Reaktion bewirken, war es bisher hauptsächlich das letztere, welches bei gesunden Menschen und bei verschiedenen Erkrankungen vielfach geprüft wurde.

Kobayashi²⁾ berichtet aus der Klinik A. Neissers über die Verwertbarkeit wässriger und alkoholischer Extrakte aus verschiedenen normalen Organen zur Komplementbindungsreaktion bei Syphilis. Kobayashi wollte entscheiden, ob Extrakte aus normalen Organen nur mit Alkohol oder auch mit Kochsalzlösung hergestellt, die Reaktionen geben, da dochluetische Extrakte in beiden Arten reagieren. Zu diesem Zwecke verfertigte er alkoholische Extrakte verschiedener Organe und erhielt folgende Resultate: Die alkoholischen Extrakte von Herz und Gehirn des Menschen sind am wirksamsten, dagegen haben die alkoholischen Extrakte von Leber, Milz, Niere, Lunge, Pankreas des Menschen und jene von Placenta und Ovarium des Meerschweinchens geringere Aktivität. Es zeigte sich aber, daß die alkoholischen Extrakte aller Organe brauchbarer als die wässrigen sind, die nur ausnahmsweise spezifische Reaktionen ergaben. Der Autor betont auch, daß nicht alle Herz- und Gehirnextrakte die gleiche Wirksamkeit zeigen, und meint schließlich, daß in den Extrakten vonluetischen Organen außer dem Lipoid noch eine andere, spezifische Komponente vorhanden sei, die an dem Zustandekommen des Phänomens beteiligt ist.

Wir haben uns in den nachfolgenden Versuchen die Frage gestellt, welchen Einfluß auf die Ausbeute der im Komplementbindungsversuch wirksamen Substanz, verschiedene Erkrankungen der Tiere und Organveränderungen haben dürften. Insbesondere waren jene Erkrankungen interessant, welche mit fettigen Degenerationen innerer Organe, speziell des Herzmuskels, einhergingen. Es ist ja von den meisten Autoren anerkannt, daß nicht nur wässriges Extrakt ausluetischer Fötalleber, sondern auch alkoholische und wässrige Extrakte aus verschiedenen

1) Aehnlich ist es beim Phenolphtalein, welches durch schwaches Alkali eine geringe, durch starkes Alkali eine weitere chemische Veränderung erfährt, wobei die rote Farbe wieder verschwindet.

2) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 37. 1911.

normalen und pathologischen Geweben zur spezifischen Ablenkungsreaktion bei Lues mit Erfolg verwendet werden können.

Zu unseren Versuchen wurde Herz von Meerschweinchen, die mit Phosphor und bakteriellen Toxinen akut und chronisch vergiftet wurden, zur Extraktbereitung verwendet. Selbstverständlich wurde immer ein in gleicher Weise vorbereitetes Extrakt von einem gesunden Tiere als Kontrolle untersucht. Die Extrakte von Meerschweinchen wurden nach der Methode von Landsteiner, Müller und Pötzl bereitet. Zuerst habe ich 5 g des Herzmuskels von Blutkoagula befreit, mit der Schere zerkleinert, in der Reibschale mit etwas Quarzsand gut verrieben, diesen erhaltenen feinen Brei in 300 ccm 95-proz. Alkohols aufgenommen und gut durchgeschüttelt, hierauf bei 60° 3 Stunden lang digeriert, der Kolben in dieser Zeit öfters geschüttelt. Die filtrierte alkoholische Flüssigkeit wurde im Brutschrank bis zum völligen Eintrocknen stehen gelassen, dann wurde der Rückstand mit 250 ccm 95-proz. Alkohols versetzt (unter ständigem Umrühren mit einem Glasstäbchen) und diese Lösung, die immer bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden muß, verwendete ich als Antigen.

Zunächst wurden 5 Meerschweinchen mit je 0,06 ccm Diphtherietoxin injiziert und am nächsten Tage, nachdem alle Versuchstiere eingegangen waren, die Herzen sofort in Alkohol aufbewahrt und nach der oben angegebenen Methode das Antigen I hergestellt.

Zur Erzielung chronischer Vergiftung wurden 4 Meerschweinchen mit je 0,02 ccm, am nächsten Morgen mit 0,01 ccm Diphtherietoxin injiziert; ein Tier ging am 2. Tage ein, 3 am 4. Tage, aus den Herzen dieser Tiere wurde das Antigen II bereitet. Weiter wurden 5 Meerschweinchen mit je 5 ccm 1-prom. Phosphoröl injiziert, alle gingen am folgenden Tage ein; daraus erhielt ich das Antigen III. Um eine chronische Phosphorvergiftung zu bewerkstelligen, habe ich ferner 5 Meerschweinchen 3 Tage lang täglich mit je 1 ccm 1-prom. Phosphoröl injiziert. Eine Woche nach der ersten Injektion waren alle Tiere eingegangen, und ich bereitete daraus mein Antigen IV.

Die gewonnenen Extrakte wurden zunächst untersucht, ob sich Unterschiede in der Hemmung der Hämolyse durch sie allein konstatieren lassen. Weiter aber mußte gezeigt werden, daß die Extrakte sich auch beim Ablenkungsversuch anders verhalten als solche aus normalen Organen. Leider kennen wir die Art der Hemmungskörper noch nicht genauer, weshalb eine qualitative Aenderung ja auch nicht auszuschließen ist. Immerhin erhofften wir einige Aufklärung auch schon dann zu finden, wenn wir einige Bedingungen studierten, unter denen sie ihre Wirksamkeit änderten. Jeder einzelne Versuch wurde natürlich mehrfach wiederholt; die Tabellen geben nur Paradigmata für die Aenderung der Hemmungsgrenze durch den Extrakt allein.

Aus Tabelle I ergibt sich, daß bei Verwendung von Extrakten aus chronisch mit Phosphor vergifteten Meerschweinchen die Hemmungsgrenze hinunterrückt, daß also die Wirkung noch stärker als bei Extrakten akut vergifteter Tiere war, die ihrerseits wieder aktiver sind als normale und Extrakte von mit Diphtherietoxin vorbehandelten Meerschweinchen; zwischen den beiden letzteren konnte ich keine großen Unterschiede finden. Dementsprechend konnten auch bei der Wassermannschen Reaktion niedrigere Extraktwerte verwendet werden. Wie bekannt, stellt sich bei Phosphorvergiftung, Herzverfettung ein und der aus verfetteten Herzen gewonnene Extrakt scheint mehr Hemmungskörper zu besitzen, die bei chronischer Vergiftung noch reichlicher werden und also auch schon in geringer Menge die Komplementablenkung bewirken. So ergab sich in einem Falle, daß sowohl bei normalem, als auch bei diphtherietoxiniertem Herzextrakt bei einer Serummenge von 0,1 komplette Hemmung, bei 0,08 fast komplette Lyse und bei 0,06 komplette

Lyse eintrat, während der Extrakt von Phosphortieren bei 0,1 und 0,06 noch komplette Hemmung, bei 0,04 fast komplette Lyse und erst bei 0,02 ccm Serum komplette Lyse ergab. Die Unterschiede werden um so deutlicher, je mehr Hemmungskörper im Serum vorhanden sind; z. B. ein stark hemmender Fall zeigte bei 0,02 ccm Antigen chronisch vergifteter Tiere noch immer komplette Hemmung, während der normale Herzextrakt schon bei 0,08 ccm komplette Lyse ergab; das Herzextrakt von Diphtherietoxin zeigte bei 0,08 ccm Serum noch fast komplette Hemmung und bei 0,06 ccm erst inkomplette Lyse, kann daher als etwas stärker als der normale bezeichnet werden. Zwischen dem Extrakt der chronisch und der akut mit Diphtherietoxin vergifteten Tiere besteht diesbezüglich kein Unterschied.

Tabelle I.

| Antigen-dosis | Herzextrakt des mit Diphtherietoxin vorbehandelten Meerschweinchens (akut eingegangen) | Herzextrakt des mit Diphtherietoxin vorbehandelten Meerschweinchens (chronisch eingegangen) | Herzextrakt des mit Phosphoröl vorbehandelten Meerschweinchens (akut eingegangen) | Herzextrakt des mit Phosphoröl vorbehandelten Meerschweinchens (chronisch eingegangen) | Normales Meerschweinchensherzextr. |
|---------------|--|---|---|--|------------------------------------|
| 0,8 | inkompl. Lyse | inkompl. Lyse | inkompl. Lyse | inkompl. Lyse | f. kompl. Lyse |
| 0,6 | " " | " " | " " | komplette Lyse | " " |
| 0,4 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,3 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,2 | " " | " " | " " | " " | " " |
| 0,15 | " " | " " | " " | " " | komplette Lyse |
| 0,12 | komplette Lyse | komplette Lyse | f. kompl. Lyse | " " | " " |
| 0,1 | " " | " " | " " | partielle Lyse | " " |
| 0,08 | " " | " " | " " | komplette Lyse | " " |
| 0,06 | " " | " " | " " | " " | " " |

Im weiteren Verlauf meiner Untersuchungen habe ich Meerschweinchen hungern lassen und nach dem binnen 8 Tagen eingetretenen Tode das Herz und die Leber extrahiert. Dann extrahierte ich die Herzen von 5 Meerschweinchen, die mit je 0,002 g Tetanustoxin geimpft wurden und nach 2 Tagen eingegangen waren. In Tabelle II ist normaler Herzextrakt mit jenem nach dem Hungertode zusammengestellt verglichen, und man sieht, daß der normale Extrakt schon bei 0,2 hemmt, während dies beim Herzextrakt vom verhungerten Tier erst bei 0,3—0,4 eintritt. Dementsprechend kann der

Tabelle II.

| Antigendosis | Herzextrakt des vor Hunger eingegangenen Meerschweinchens | Herzextrakt des vor Hunger eingegangenen Meerschweinchens | Normaler Herzextrakt des Meerschweinchens |
|--------------|---|---|---|
| 0,8 | fast kompl. Lyse | fast kompl. Lyse | fast kompl. Lyse |
| 0,6 | dgl. | dgl. | dgl. |
| 0,4 | " | " | " |
| 0,3 | " | fast kompl. Lyse | " |
| 0,25 | kompl. Lyse | kompl. Lyse | " |
| 0,2 | dgl. | dgl. | " |
| 0,15 | " | " | kompl. Lyse |
| 0,1 | " | " | " |
| 0,08 | " | " | " |
| 0,06 | " | " | " |

erstere bei der Wassermann-Reaktion noch in Dosen von 0,1 bis 0,06 ccm komplette Hemmung hervorbringen, während der Extrakt des

verhungerten Tieres nur bei der doppelten Menge (0,2 ccm) die positive Wassermann-Reaktion gibt, bei 0,15 ccm aber nur inkomplette Hemmung erzeugt; in einem Falle z. B. konstatierte ich bei 0,08 ccm normalen Herzextraktes noch inkomplette Hemmung, während der Herzextrakt der Hungertiere schon bei 0,15 ccm fast komplette Lyse ergab. Da beim Hungertode auch die Fettsubstanz des Herzmuskels schwindet, so liegt es nahe, die Abnahme der komplementablenkenden Stoffe auf diesen Mangel zu beziehen.

Der Vergleich des normalen Leberextraktes mit dem Leberextrakte nach dem Hungertode zeigt, daß, wie der Leberextrakt beim Verhungern an Fettsubstanz ärmer wird, auch die bei der Wassermann-Reaktion wirksamen Substanzen der Leber wie auch des Herzens nicht in solcher Menge in den Alkoholextrakt überzugehen scheinen, als diejenigen der normalen Organe.

In Tabelle III sind vergleichsweise die Herz-Extraktwerte von normalen und tetanisierten Meerschweinchen zusammengestellt; die Unterschiede sind sehr gering und machen sich auch bei Anstellung der

Tabelle III.

| Antigendosis | Normaler Herzextrakt des Meerschweinchens | Herzextrakt des mit Tetanustoxin vorbehandelten Meerschweinchens |
|--------------|---|--|
| 0,6 | fast kompl. Lyse | fast kompl. Lyse |
| 0,4 | dgl. | dgl. |
| 0,3 | ϕ | ϕ |
| 0,2 | ϕ | ϕ |
| 0,15 | kompl. Lyse | ϕ |
| 0,1 | dgl. | kompl. Lyse |
| 0,08 | " | dgl. |
| 0,06 | " | " |

Wassermann-Reaktion nicht stark geltend. Doch scheint der Herzextrakt der Tetanustiere etwas aktiver zu sein, d. h. mehr Hemmungskörper zu besitzen als der normale.

Vergleicht man die Wirkung des tetanisierten Herzextraktes mit normalem und mit Herzextrakt nach dem Hungertode bei Verwendung desselben ablenkenden Serum, so erweist sich der Extrakt der Tetanustiere aktiver als der normale und dieser kräftiger als der nach dem Hungertode erhaltene.

Schließlich wurden aus gleichen Gewichtsmengen verschiedener Organe, wie Niere, Nebennieren, Milz und Gehirn von Meerschweinchen Extrakte hergestellt und mit dem normalen Herzextrakt verglichen. Dabei stellte sich heraus, daß der Extrakt der Niere oder der Nebenniere von Meerschweinchen etwa in gleicher Weise reagiert, wie jener des normalen Herzens, während von den Milz- und Gehirnextrakten die doppelte Menge zur Erzielung der gleichen Erscheinung wie beim normalen Herzextrakt notwendig ist. Gehirn und Milz des Meerschweinchens liefern also ein nur halb so starkes Antigen wie das Herz. Während z. B. Herzextrakt noch in einer Menge von 0,1 ccm positiv reagiert, müssen die Milz- und Gehirnextrakte in Dosen von je 0,2 ccm zur Erreichung des gleichen Erfolges angewendet werden.

Es scheinen jedoch dabei auch qualitative Differenzen vorzukommen; denn selbst wenn die Werte bei der Antigenauswertung dieselben sind, muß zur Erzielung einer kompletten Hemmung bei der Wasser-

mann-Reaktion die doppelt so große Dosis von Hirnextrakt genommen werden.

Resumé.

Die für die Komplementablenkung wirksame Substanz ist im Extrakte von mit Diphtherietoxin vorbehandelten Meerschweinchenherzen in gleicher Menge vorhanden wie in jenem normaler Herzen. Wird das Tier mit Phosphor behandelt (was bekanntlich eine Vermehrung der Fettsubstanz des Herzens zur Folge hat), so ist der Herzextrakt aktiver, und zwar bei chronischer Vergiftung in stärkerem Maße als bei akuter. Der Herzextrakt der Tetanustiere scheint etwas wirksamer für die Wassermann-Reaktion zu sein als jener der gesunden Meerschweinchen. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß der Herzextrakt von mit Tetanus- oder Diphtherietoxin akut oder chronisch vergifteten Meerschweinchen jenem von gesunden Tieren gleichkommt. Was die komplementablenkende Substanz von Herzen verhungelter Tiere anbelangt, so hat sich sehr deutlich ergeben, daß ein solcher Herzextrakt oft doppelt so schwach als der normale ist. Aus den Versuchen der Phosphor- und verhungerten Tiere sieht man, daß die bei der Komplementablenkung wirksame Substanz im Antigen in innigem Verhältnis mit der Fettsubstanz zu stehen scheint. Bezüglich der normalen Organe von Meerschweinchen ist festzustellen, daß die alkoholischen Extrakte von Milz und Gehirn doppelt so schwach, diejenigen von Niere und Nebenniere etwa gleich aktiv sind wie der normale Meerschweinchen-Herzextrakt; der Nierenextrakt scheint ein wenig wirksamer zu sein als der der Nebenniere.

Nachdruck verboten.

Ueber die Verwertbarkeit der modifizierten Präzipitationsmethode nach Porges.

[Aus dem Staatl. Serotherapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. F. So, Tokio.

Man hat sich schon frühzeitig bemüht, an Stelle der Komplementbindungsreaktion nach v. Wassermann eine einfache Präzipitinreaktion zu finden.

Fornet hat bereits die direkte Präzipitation des syphilitischen Serums vorgeschlagen und L. Michaelis die Aufgabe zu lösen versucht, die Präzipitierung mit syphilitischem Leberextrakt durchzuführen. Bei Anwendung von normalem Serum (0,2), Leberextrakt (0,2) und physiologischer Kochsalzlösung (0,2) ergab sich kein Niederschlag, bei solcher von syphilitischem Serum (0,2), syphilitischem Leberextrakt (0,2) und physiologischer Kochsalzlösung (0,2) erschien jedoch Niederschlag, dessen Menge proportional mit jener des Präzipitins bis zu einem gewissen Maximum zunahm.

Einen weiteren Versuch, die komplizierte Originalmethode durch ein einfaches Präzipitierungsverfahren zu ersetzen, haben Porges und Mayer unternommen, indem sie auf eine Lecithinsuspension (0,2-proz.) direkt luetisches Serum einwirken ließen. Diese Ausflockung ist eine Kolloidreaktion und findet demnach auch in normalen Seren statt, nur ist die Fällungszone bei luetischen Seris wegen ihrer geringeren Stabilität bedeutend größer als bei normalen Seren. Die Komplementbindungsreaktion und die Lipoidausflockung sind prinzipiell identisch, als beide Kolloidfällungsreaktionen sind. Aus dieser Ueberlegung kommt der Gedanke, die Lecithinsuspension (und dasselbe gilt auch für Natrium glycocholicum) direkt auf die syphilitischen Sera wirken zu lassen, die, wie schon erwähnt, wegen ihrer geringen Stabilität eine größere Fällungszone ergeben müssen, mit anderen Worten, die Präzipitierungsmethode als Serodiagnose für Syphilis zu verwenden. Im Versuche blieb bei normalen Seris unter bestimmten Bedingungen die Suspension unverändert, während luetische eine Ausflockung gaben. Porges und Mayer stellten also diese Reaktion neben die Wassermannsche Komplementbindungsreaktion und prüften ihr Verfahren — bei welchem sie Lecithin von Kahlbaum verwendeten — in über 100 Fällen. G. Mayer gebrauchte diese Methode in 300 Fällen, wobei 285 Fälle (95 Proz.) mit der Wassermannschen Reaktion übereinstimmten, so daß sie also als bedingt typisch anzusehen ist und eine positive Reaktion sicherlich als verdachterregend bezeichnet werden muß. Gross und Volk sprechen sich über den praktischen Wert der Porgesschen Lecithinprobe dahin aus, daß sie teilweise übereinstimmende Resultate mit der Wassermannschen gebe. Ueberdies sei sie im Vergleich mit letzterer als sehr einfach zu bezeichnen, jedoch trete die Lecithinausflockung auch bei luesunverdächtigen Sera auf, wie auch Nobl und Arzt, Landsteiner und Müller, Fritz und Kren, Weil und Braun u. a. berichteten. Doch behaupten andererseits Porges und Mayer, dies sei auf Fehler in der Technik oder Mängel im Untersuchungsmaterial zurückzuführen, wie z. B. vielmals das ganz ungeeignete Agfalecithin verwendet worden sei; sogar das von gleicher Firma (Kahlbaum) bezogene Präparat verändere beim Aufbewahren seine Stabilität und variere auch von Zeit zu Zeit. Auf Grund ihrer Erfahrungen wählten sie später Natrium glycocholicum (Merck) (1-proz.) an Stelle des Lecithins und erzielten gleiche Erfolge. Dabei können die Fehlerquellen, die in der ungleichen Stabilität des Lecithins — jene des Natrium glycocholicum ist recht konstant — und in der variierenden Suspensionsfähigkeit liegen, vermieden werden. Das Natrium glycocholicum muß ebenso wie die Lecithinsuspension vor jeder Untersuchung in frischer Lösung hergestellt werden; das Blut soll der zu untersuchenden Person nur vor einer Mahlzeit entnommen und muß $\frac{1}{2}$ Stunde bei höchstens 56° C inaktiviert werden. Natrium glycocholicum ist in Pulverform erhältlich und löst sich in destilliertem Wasser leicht und farblos, während das Lecithin im Handel als salbenähnliche Masse vorkommt, die sich an der Luft leicht verändert.

Die Reaktion von Porges und Mayer erfuhr des weiteren zahlreiche Nachuntersuchungen durch verschiedene Autoren, deren Resultate, soweit sie zahlenmäßig in den Arbeiten festgelegt sind, in den folgenden zwei Tabellen übersichtlich zusammengestellt wurden. Aus Tabelle I geht hervor, daß diese Methode in beschränktem Maße brauchbar ist, doch zeigt sich auch da schon, daß mitunter nicht luetische Kontrollfälle positives Resultat geben (Soars und Panigies). Auch bei Vergleich

mit der Wassermannschen Reaktion (s. Tabelle II) ergibt sich die relative Brauchbarkeit der Ausflockungsmethode, ja bei gewissen Luesformen (Lues I) scheint sie sogar früher positiven Ausfall zu geben als der Wassermann.

Tabelle I.

| | Gesamtzahl der untersuchten Fälle | Porges-Reaktion | | | |
|---|-----------------------------------|-----------------|---------|----|----|
| | | positiv | negativ | | |
| Schwarzwald | Lues I | 5 | 2 | 3 | |
| | Lues früh latent | 4 | 2 | 2 | |
| | Lues II | { manifest | 28 | 24 | 14 |
| | | { Rezidiv | 13 | 8 | 5 |
| | Lues III | 7 | 5 | 2 | |
| | Tabiker | 11 | 5 | 6 | |
| | Progressive Paralyse | 43 | 14 | 29 | |
| | Kongenitale Syphilis | 18 | 15 | 3 | |
| | Tuberkulose | 29 | 0 | 29 | |
| | Kontrollfälle | { Diabetes | 3 | 0 | 3 |
| { Scharlach | | 17 | 0 | 17 | |
| { fieberhafte Krankheiten nichtluetische Haut- und Geschlechtskrankheiten | | 8 | 0 | 8 | |
| Soars und Ph. Panigies | Luesfälle | 45 | 37 | 8 | |
| | Kontrollen | 34 | 6 | 28 | |
| Merian | Lues I | 9 | 9 | 0 | |
| | Lues II | { manifest | 31 | 29 | 2 |
| | | { früh latent | 33 | 15 | 18 |
| | | { spät latent | 6 | 3 | 3 |
| | Lues III | 4 | 1 | 3 | |
| | Luesfall während der Kur | 11 | 9 | 2 | |
| | „ nach 1maliger Kur | 17 | 11 | 6 | |
| „ „ 2 „ „ | 10 | 7 | 3 | | |
| „ „ mehreren Kuren | 25 | 14 | 11 | | |

Tabelle II.

| | Gesamtzahl der untersuchten Fälle | Porges-Reaktion | | | Wassermann | | | |
|--------------------|-----------------------------------|-----------------|---------|----------|------------|---------|----------|---|
| | | positiv | negativ | fraglich | positiv | negativ | fraglich | |
| Fritz und Krenn | Lues II | 26 | 17 | 9 | / | / | / | |
| | Sonstige luet. Fälle | 29 | 14 | 15 | / | 10 | 16 | |
| | Kontrollfälle | 27 | 1 | 26 | / | 3 | 24 | |
| Gross und Volk | Luetische Fälle | 42 | 39 | 3 | / | 40 | 2 | |
| | Kontrollfälle | 21 | 2 | 19 | / | 0 | 21 | |
| Merian | Lues I | 7 | 7 | 0 | / | 6 | 1 | |
| | Lues II | { manifest | 13 | 11 | 2 | / | 12 | 1 |
| | | { früh latent | 6 | 4 | 2 | / | 4 | 2 |
| | | { spät latent | 5 | 3 | 2 | / | 1 | 4 |
| Lues III | 2 | 1 | 1 | / | 2 | 0 | | |
| De la Motte | Lues II und III | 17 | 15 | 2 | / | 16 | 4 | |
| | Luesverdächtig | 9 | 2 | 7 | / | 1 | 7 | |
| | Paralyse | 50 | 45 | 5 | / | 46 | 4 | |
| | Kontrollfälle | 50 | 1 | 49 | / | 0 | 50 | |
| Bauer | Luesfall | 19 | 8 | 9 | 2 | 19 | 0 | |

Immerhin war, insbesondere da Hermann und Perutz eine angeblich empfindlichere und verlässlichere Methode angegeben haben, eine nochmalige Nachprüfung an einem größeren Materiale angezeigt. Es wurde zunächst darauf geachtet, ob Differenzen im Resultate je nach

Verwendung von aktiven oder inaktiven Seris vorhanden sind, resp. welche Rolle die Temperatur, bei welcher die Inaktivierung vorgenommen wird, bei der Porges-Mayer-Reaktion spielt. Denn schon Porges hat darauf hingewiesen, daß Ueberhitzung der Sera, ja zuweilen schon $\frac{1}{2}$ -stündige Erwärmung auf 56° C, das Resultat beeinträchtigen könne.

In der folgenden Tabelle III finden sich die Resultate übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle III.

| | Gesamtzahl der untersuchten Sera | Zahl der übereinstimmenden negativen Fälle von Porges-Reaktion mit Wassermann | Zahl der übereinstimmenden positiven Fälle von Porges-Reaktion mit Wassermann | Zahl der Fälle von positivem Wassermann mit negativer Porges-Reaktion | Zahl der Fälle von negativem Wassermann mit positiver Porges-Reaktion |
|-----------------------------------|----------------------------------|---|---|---|---|
| Serum nicht inaktiviert | 113 | 51 | 29 | 25 | 8 |
| Inaktiviert bei 51° C | 35 | 11 | 14 | 9 | 1 |
| Inaktiviert bei 53° C | 42 | 18 | 8 | 16 | 0 |
| Inaktiviert bei $53-54^{\circ}$ C | 22 | 9 | 6 | 7 | 0 |
| Inaktiviert bei 54° C | 124 | 42 | 56 | 21 | 5 |

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß nicht inaktivierte Sera zur Porges-Mayerschen Reaktion wohl überhaupt nicht zu verwenden sind. Der Prozentsatz der nach Wassermann positiv, nach der Porges-Mayerschen Reaktion negativ reagierenden Fälle ist in dieser Rubrik, sowie auch bei den Seris, welche zwischen $51-53^{\circ}$ C inaktiviert wurden, ein sehr großer. Zudem haben auch über 7 Proz. nicht luetische aktive Sera nach Porges positive Reaktion gegeben. Besser sind scheinbar diese letzteren Resultate in den folgenden 3 Rubriken, doch können wir uns nicht verhehlen, daß die Zahl der Fälle in jeder einzelnen Abteilung eine zu kleine ist, als daß wir daraus Schlüsse ziehen könnten. Auch sind die negativen Ausfälle nach Porges bei positivem Wassermann verhältnismäßig sehr zahlreich.

Am günstigsten erscheint das Resultat, wenn die Sera exakt bei 54° C durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt werden. Wir finden da unter 124 Seris in ca. 79 Proz. Uebereinstimmung bei beiden Reaktionen, während in ca. 17 Proz. Wassermann positiv, Porges aber negativ war. Es wäre das gewiß ein verhältnismäßig geringer Nachteil, da wir ja nur den positiven Ausfall als verlässlich ansehen könnten und uns die gewiß größere Einfachheit der Methode für den geringeren prozentuellen Ausfall entschädigen würde.

Ein wirklicher Nachteil aber ist es, daß in 4 Proz. der Fälle bei negativem Wassermann positiver Porges auftritt, darunter bei Seris, welche nach genauesten klinischen und anamnestischen Befunden von sicher nicht luetischen Individuen stammten. Wenn auch die Zahl verhältnismäßig gering ist, so verliert doch damit das positive Resultat die erforderliche Sicherheit. Nicht unerwähnt soll bleiben, daß in seltenen Fällen bei Luetikern die Porges-Reaktion positives Resultat gibt, während Wassermann zu gleicher Zeit negativ war.

Kann also die Porges-Meyersche Reaktion immerhin schon recht gute und zufriedenstellende Resultate geben, so begrüßten wir eine

Modifikation derselben, welche nach der Ansicht von Hermann und Perutz noch exakter arbeiten sollte, mit Vergnügen und suchten uns über die Leistungsfähigkeit derselben dadurch ein Urteil zu bilden, daß wir die Sera nebeneinander nach allen 3 Methoden untersuchten.

Hermann und Perutz prüften die Präzipitierung von Natrium glycocholicum bei Hinzusetzung von Cholesterin und fanden, daß hierdurch die Schärfe und Sicherheit der Ausflockungsmethode zunimmt. Hierbei gingen sie von dem von Browning, Cruichand und Macenzie aufgestellten Grundprinzip aus, wonach man bei Verwendung eines Gemenges von Lecithin und Cholesterin als Antigen ebenso gute Resultate erhalten kann; es scheint, daß das an sich unwirksame Cholesterin, mit Lecithin zusammengebracht, wirksam wird. Die beiden oben genannten Autoren haben auch als erste mit Cholesterin allein verschiedene Sera geprüft und gefunden, daß manche Sera die Suspension auszuflocken imstande sind. Allerdings ist dies bei hochgradiger Verdünnung gering und überdies besitzen Sera gesunder oder leichtkranker Menschen ein geringes Ausflockungsvermögen, dagegen scheint luetisches Serum meist eine erhöhte Ausflockungsfähigkeit zu besitzen. Merkwürdig war, daß auch Carcinomsera diese letztere Eigenschaft besitzen, wenn sie verdünnt wurden, während sich unverdünnte Carcinomsera als wirkungslos erwiesen. Die beiden Autoren Hermann und Perutz haben mit 3 Lösungen gearbeitet, einer sog. Stammlösung (Cholesterin 0,4 Natrium glycocholicum 2,0 95-proz. Alkohol 100); diese Stammlösung hielten sie vorrätig. Will man damit inaktivierte Sera untersuchen, so muß man dazu eine zweite und eine dritte Lösung benutzen; die zweite Lösung erhält man nach der Autoren Angabe aus der Stammlösung durch Zusatz von 19 Teilen Aqua destillata zu einem Teile jener Lösung, und die dritte Lösung, die vor jedem Versuche frisch bereitet werden muß, durch Herstellung einer 2-proz. Lösung von glykokolsaurem Natron. Die Untersuchung der Sera erfolgt nur in der Weise, daß man 0,4 ccm des inaktivierten Serums mit 0,2 ccm der zweiten und 0,2 ccm der dritten Lösung mischt und nach 20 Stunden auf einen Niederschlag prüft. Diese Cholesterinmethode wurde von den beiden Autoren in 223 Fällen teilweise parallel mit der Porges- und der Wassermann-Reaktion angewendet; darunter befanden sich 134 Lues- und 89 Kontrollfälle. Von den 134 Luesfällen ergab die Cholesterinmethode 108 positive Resultate. Die Porges-Reaktion, die 82mal gebraucht wurde, gab 61 positive und 21 negative Ergebnisse, die Wassermann-Reaktion von 102 Fällen 72 positive und 30 negative Ausfälle. In denselben 102 Fällen aber erhielten die Autoren mit der Cholesterinmethode 76 positive und nur 26 negative Reaktion, so daß die positive Reaktion bei luetischen Seris mit der Cholesterinmethode noch um 4 Proz. häufiger als bei Ausführung der Wassermann-Reaktion ist. Fälle, wo die Cholesterinmethode positiv und die Komplementablenkungsmethode negativ reagierte, gab es 8, aber auch 4 konträre Fälle mit positivem Cholesterinausfall und negativem nach Wassermann. Von den 89 Kontrollfällen reagierten 2 bei der Porges-Reaktion und mit der Cholesterinmethode positiv, und zwar ein Fall von Tuberkulose und einer von Bronchitis. Beiläufig bemerken Hermann und Perutz auch noch, daß die Komplementbindungsreaktion bei primären Affekten später als das Porges-Verfahren reagiere. Sie haben weiter in 3 Fällen nach der Ehrlich-Hata-Injektion starke Ausflockung der Cholesterinsuspension erhalten, die auch 6 Wochen nachher noch auftrat, während zu jener Zeit die Wassermann-Reaktion

schon negatives Ergebnis hatte. Zusammenfassend kommen die Autoren zu dem Schlusse, daß die von Elias, Neubauer, Porges, und Salomon empfohlene Präzipitierungsmethode bei Lues seltener positiv ausfällt als das Komplementablenkungsverfahren, daß aber Cholesterin zusammen mit glykokolsaurem Natron deutlichere und häufigere Niederschläge in luetischen Seris hervorruft als die Porges-Reaktion und auch dort noch leicht erkennbare Ausflockung zeigt, wo die Präzipitierung nach Porges nicht mehr gut sichtbar ist. Die Cholesterinmethode sei daher zur Serodiagnose bei Syphilis praktisch anwendbar und zu empfehlen.

Tabelle IV.

| Gesamtzahl | W. — | W. + | W. + | W. — | W. + | W. — | W. — |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | P. M. — | P. M. + | P. M. — | P. M. + | P. M. — | P. M. + | P. M. — |
| | H. P. — | H. P. + | H. P. — | H. P. + | H. P. — | H. P. — | H. P. + |
| Uebereinstimmende negative Fälle von Cholesterinmethode mit Porges und Wassermann | | | | | | | |
| Uebereinstimmende positive Fälle von Cholesterinmethode mit Porges und Wassermann | | | | | | | |
| Uebereinstimmende positive Fälle von Cholesterinmethode mit Wassermann, aber nicht mit Porges | | | | | | | |
| Uebereinstimmende negative Fälle von Cholesterinmethode mit Wassermann, aber nicht mit Porges | | | | | | | |
| Uebereinstimmende negative Fälle von Cholesterinmethode mit Porges, aber nicht mit Wassermann | | | | | | | |
| Uebereinstimmende positive Fälle von Cholesterinmethode mit Porges, aber nicht mit Wassermann | | | | | | | |
| Fälle von positiver Reaktion der Cholesterinmeth., dabei Porges und Wassermann negativ | | | | | | | |
| Zahl der untersuchten Sera | 240 | 71 | 95 | 12 | 10 | 45 | 4 |

| Gesamtzahl | W. — | W. — | W. + |
|---|---------|---------|---------|
| | H. P. — | H. P. — | H. P. + |
| | P. M. — | P. M. + | P. M. — |
| Uebereinstimmende negative Fälle von Cholesterinmethode mit Porges und Wassermann | | | |
| Uebereinstimmende negative Fälle von Cholesterinmethode mit Wassermann, aber nicht mit Porges | | | |
| Uebereinstimmende positive Fälle von Cholesterinmethode mit Wassermann, aber nicht mit Porges | | | |
| Zahl der untersuchten Kontrollfälle | 14 | 11 | 2 |

Ich habe nach diesem Verfahren 240 Fälle auf Lues verdächtige Sera und 14 Kontrollfälle untersucht und die Resultate in Tabelle IV zusammengestellt. Ich erhielt nach Wassermann 146 positive, 78 negative, 7 fraglich positive und 9 fraglich negative Resultate, nach Porges 109 positive und 131 negative und nach dem Cholesterinverfahren 113 positive und 127 negative Reaktionen. Daraus ergibt sich also, daß die Cholesterinmethode um 1,67 Proz. mehr positive Reaktionen mit luetischen Seren gibt als das Porges-Verfahren. In meinen Untersuchungen befanden sich 11 Fälle von Initialsklerose, darunter einer mit nicht behandelter Sklerose (Wassermann-R. und Cholesterinmeth. positiv, Porges-R. negativ), 3 Fälle mit positiver Wassermann- und negativer Porges- und Cholesterinreaktion, 3 Fälle, wo die Komplementablenkungsmethode ein fraglich negatives, die beiden anderen Verfahren

aber ein deutlich negatives Resultat gaben. 2 Fälle von Ulcus mixtum reagierten in allen 3 Methoden positiv, einer nur nach Wassermann positiv und sonst negativ. Ein Fall von Lues latens mit Schmierkur vorbehandelt, reagierte nach Wassermann und Porges negativ, in der Cholesterinmethode aber positiv, ein Fall von fraglicher Lues latens ohne Vorbehandlung nach Wassermann negativ und im übrigen positiv, 4 Fälle gerade umgekehrt, von denen der eine sicher als syphilitisch erkannt wurde und 3 Fälle von Lues latens stimmten in allen drei Methoden überein, und zwar ergaben zwei davon überall positives und einer durchweg negatives Resultat. Im zweiten Stadium war diese Uebereinstimmung aller drei Verfahren in positivem Sinne 45mal zu beobachten; in diesem Stadium erhielt ich im übrigen 7 Fälle, die nach Wassermann positiv und nach den beiden anderen Verfahren negativ reagierten, ferner 7 Fälle mit positiver Reaktion nach Wassermann und der Cholesterinmethode und negativer nach Porges, schließlich 2 Fälle mit entgegengesetzten Reaktionen (wobei der eine Fall eine mit Ehrlich-606 injizierte Lues maculosa betraf), und endlich 4 Fälle im zweiten Stadium, wo die Wassermann-Reaktion fraglich positiv und die beiden anderen negativ ausfielen. Im dritten Stadium reagierten 3 Fälle in allen drei Methoden übereinstimmend positiv und ein Serum nach einer Ehrlich-Injektion nach Wassermann positiv und nach den zwei anderen Verfahren negativ.

In den 14 Kontrollfällen (Tabelle VII) reagierte die Cholesterinmethode durchweg negativ, 13mal in Uebereinstimmung mit Wassermann, die Porges-Reaktion 12mal negativ, je ein Fall von Vulvitis und Colpitis und Ulcera venerea positiv; ein Fall mit möglicher Skabies — der Patient konnte auf syphilitische Symptome nicht untersucht werden — ergab eine positive Komplementablenkung, positiv nach Hermann und Perutz, dagegen negativ nach Porges.

Zusammenfassung.

Auf Grund meiner Resultate kann ich also sagen, daß die Porges-Reaktion der Wassermanschen Methode entschieden nicht gleichwertig ist, soweit es sich um die Zahl der positiven Resultate bei Luesseris handelt. Die neue Modifikation mit Cholesterin ist allerdings komplizierter als die Originalmethode nach Porges, steht aber der Wassermann-Reaktion schon näher. Denn wenn der positive Ausfall der untersuchten Luesfälle insgesamt nach Wassermann 68,08 Proz., nach Porges 45,41 Proz. und nach der Modifikation 47,08 Proz. beträgt, die Cholesterinmethode also nur um 1,67 Proz. besser erscheint als die Porges-Reaktion, so wird diese Differenz in den speziellen Fällen von sekundärer Lues zugunsten der Cholesterinmethode bedeutend größer, indem hier die Porges-Reaktion 73,43 Proz., aber ihre Modifikation 79,68 Proz. positive Resultate ergibt, die letztere sich demnach um $6\frac{1}{4}$ Proz. vorteilhafter gestaltet. Allerdings steht auch in dieser Gruppe die Wassermann-Reaktion mit 96,87 Proz. an der Spitze, und wir können also der Anschauung von Hermann und Perutz, daß die Cholesterinmethode die Wassermann-Methode übertreffe, nicht beistimmen. Im Gegenteil muß konstatiert werden, daß die Wassermann-

Reaktion noch immer unersetzbar ist und neben einer der beiden Ersatzmethoden unbedingt zu Rate gezogen werden muß.

Dies wäre allerdings bei der wesentlichen Einfachheit der Präzipitationsmethode ein immerhin noch zu verschmerzender Mangel, wenn nicht auch noch hinzukäme, daß zuweilen allem Anscheine nach nichtluetische Sera einen deutlich positiven Ausfall geben, während Wassermann negativ ist. — Solange diese Fälle nicht aufgeklärt sind, kann man auch die Methode von Hermann-Perutz nicht als vollwertigen Ersatz der Wassermanschen ansehen, da auch das positive Resultat einen gewissen Mangel an Verlässlichkeit aufweist.

Literatur.

- 1) Michaelis, L., Präzipitatreaktion bei Syphilis. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 46.)
- 2) Elias, Neubauer, Porges u. Salomon (1), Ges. d. Aerzte in Wien 26. Febr. 1908; Ref. Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 11.
- 3) — (2), Theoretisches über die Serumreaktion auf Syphilis. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 21.)
- 4) — (3), Ueber die Methodik und Verwendbarkeit der Ausflockungsreaktion für die Serodiagnose der Syphilis. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 23.)
- 5) Porges, Eine neue Methode der Serodiagnose bei Syphilis. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 7.)
- 6) Mayer, G., Lecithinausflockung und Komplementbindung. (Dtsche med. Wochenschrift. 1908. No. 11.)
- 7) Fornet, Zur Präzipitatreaktion bei Syphilis. (1908. No. 4.)
- 8) Kantzler u. Orszag, Syphilisreaktion nach Porges und Mayer. (Ref. Dtsche med. Wochenschr. 1908. No. 25.)
- 9) Fritz u. Kren, Ueber den Wert der Serumreaktion bei Syphilis nach Porges-Mayer und Klausner. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 12.)
- 10) Nobl u. Arzt, Zur Serodiagnose der Syphilis (Porges-Mayer u. Klausnersche Reaktion). (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 9.)
- 11) Gross u. Volk, Serodiagnose der Syphilis. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 18.)
- 12) Butler, Präzipitatreaktion mit Lecithin. (New York med. Journ. 1909; Ref. Monatsh. f. Dermat. 1909. No. 7.)
- 13) Stühmer, A., Ueber zwei neuere Syphilisreaktionen. (Ref. München. med. Wochenschr. 1909. No. 33.)
- 14) Schwarzwald, Ueber die Ausflockungsreaktion nach Porges. (Wien. klin. Wochenschr. 1909. No. 28.)
- 15) Rosenfeld u. Tannhauser, Die Serodiagnose der Lues mittels Ausflockung durch glykocholsaures Natrium. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 4.)
- 16) Merian, Ergebnisse der Porgesschen Luesreaktion. (Med. Klin. 1910. No. 27.)
- 17) de la Motte, Die Porgessche Luesreaktion. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 34.)
- 18) Löwenberg, Die Serodiagnose der Lues mittels der Porgesschen Reaktion. (Dtsche med. Wochenschr. 1910. No. 35.)
- 19) Mulzer, Praktische Anleitung zur Syphilisdiagnose auf biologischem Wege. 1910.
- 20) Boas, H., Die Wassermansche Reaktion mit besonderer Berücksichtigung ihrer klinischen Verwertbarkeit. 1911.
- 21) Hermann, O., u. Perutz, A., Die Serodiagnose der Syphilis mittels Präzipitation von Natr. glycochol. unter Heranziehung des Cholesterins. (Med. Klin. 1911.)

Nachdruck verboten.

Quantitative Untersuchungen über Immunität gegen Tumoren bei Mäusen.

[Aus dem pathologischen Laboratorium des Barnard Free Skin and Cancer Hospital, St. Louis, Mo.]

Vorbemerkung von **Leo Loeb**.

Mit 19 Kurven.

Wichtige Fragen, die die Immunität gegen Tumoren bei Tieren betreffen, sind noch strittig. Sogar die Angaben über tatsächliche Befunde widersprechen sich in den Arbeiten der verschiedenen Autoren. Diese Schwierigkeiten sind darin begründet, daß die Zahl der variablen Faktoren auf diesem Gebiete sehr groß ist, so daß große Versuchsreihen angestellt werden müssen, um definitive Resultate zu erzielen. Weiterhin aber kommt in Betracht, daß systematisch durchgeführte quantitative Untersuchungen in diesem Teil der Immunitätsforschung kaum durchgeführt worden sind. Daß der quantitative Faktor aber von großer Bedeutung ist, wird aus den folgenden Untersuchungen hervorgehen. Um eine quantitative Abstufung des Tumormaterials zu erzielen, bedienen wir uns der von uns früher festgestellten Tatsache, daß es möglich ist, durch thermische und chemische Einwirkungen die Wachstumsenergie der Tumoren graduell zu vermindern¹⁾. In der ersten Mitteilung soll der Einfluß zweier sukzessiver Tumorinokulationen behandelt werden. Hierbei blieb die Zeit zwischen den beiden Inokulationen sowie (mit einigen wenigen Ausnahmen) die Quantität des zu inokulierenden Tumormaterials konstant; die Wachstumsenergie der ersten und zweiten wachsenden Tumoren stellte den variablen Faktor dar. In weiteren Mitteilungen soll der Einfluß der anderen Faktoren behandelt werden. Vorläufig gehen wir weder auf eine Diskussion der früheren Literatur, noch auf theoretische Schlußfolgerungen ein; dies soll nachgeholt werden, nachdem das gesamte Tatsachenmaterial durchgearbeitet wurde nach Erscheinen weiterer Mitteilungen. Wir möchten auch hier bemerken, daß trotz unserer zahlreichen Versuche wir nicht in jedem Falle mit Sicherheit ausschließen können, daß nicht akzidentelle Faktoren gelegentlich zu einer falschen Deutung geführt haben mögen. Wir werden aber diese Untersuchungen fortsetzen und hierbei werden sich etwaige Fehler unzweifelhaft zeigen, und wir werden dann Gelegenheit nehmen, die nötigen Korrekturen vorzunehmen. Alle unsere im folgenden mitgeteilten Befunde werden daher mit dieser Reservation veröffentlicht.

I. Ueber die gegenseitige Beeinflussung des Wachstums zweier Tumoren mit variabler Wachstumsenergie.

Von **Moyer S. Fleisher, E. P. Corson White und Leo Loeb**.

Zu den folgenden Untersuchungen diente das von uns schon früher benutzte Mäusecarcinom. In allen Fällen wurde die zweite Inokulation 6 Tage nach der ersten vorgenommen. Wir verwendeten mit einigen

1) Virchows Arch. Bd. 172. 1903. p. 345. Amer. Med. Vol. 10. 1905. White, Ellen P. Corson u. Loeb, Leo, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910.

Ausnahmen zu jeder Inokulation ungefähr 75 mg zerschnittenen Tumormaterials. Zum Teil wurde dasselbe unerwärmt benutzt, in anderen Fällen wurde dasselbe vor der Inokulation in 0,85-proz. NaCl-Lösung im Wasserbade auf 44° erwärmt und dann mit dem Troikart in das subkutane Gewebe der linken oder rechten Axilla eingeführt¹⁾.

1. Die Wachstumsenergie der ersten Tumoren.

Tabelle 1 zeigt die Wachstumsenergie der Tumoren, die nach einmaliger Inokulation von Tumormaterial entstanden (Kontrolltumoren); ebenso die Wachstumsenergie der ersten nichterwärmten und verschieden lang erwärmten Tumoren, falls eine zweite Inokulation mit nicht erwärmten, verschieden lang erwärmten und mit verschieden großen Quantitäten nicht erwärmten Materials vorgenommen wurde. Tabelle 2, Abteilung a, b, c und d, zeigt die Wachstumsenergie von Tumoren, die nach Inokulation von geringeren Quantitäten nicht erwärmten Tumormaterials entstehen, ohne daß eine zweite Inokulation vorhergegangen oder nachfolgte.

Die Zahlen dieser Tabellen wurden in der folgenden Weise erhalten: Der Längen- und Breitendurchmesser der Tumoren nach Ablauf der verschiedenen Wochen wurde multipliziert. Dieses Produkt stellte die horizontale Durchschnittsfläche durch die Tumoren dar.

Die erste Reihe jeder Abteilung zeigt diese Zahlen für die Kontrolltumoren (in Tieren, in denen nur eine Inokulation vorgenommen wurde); die folgenden Reihen zeigen das Verhalten dieser Tumoren in den Fällen, in denen eine zweite Inokulation mit verschieden großen Quantitäten oder verschieden lang erwärmtem Tumormaterial erfolgte.

Die Kurven der Figur 1 zeigen das Wachstum der Kontrolltumoren (in Tieren, in denen nur eine einzige Tumordinokulation vorgenommen wurde).

Die Kurven der Figur 2 zeigen die Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren, falls der erste Tumor nicht und die zweiten Tumoren verschieden lang erwärmt waren.

Die Kurven der Figuren 3, 4, 5, 6 und 7 zeigen dasselbe für erste und zweite Tumoren, falls der erste Tumor 20, 25, 30, 35 oder 40 Minuten lang erwärmt worden war.

In der Tabelle 3 finden sich die Latenzperioden im Wachstum der verschiedenen Tumoren. Diese Zahlen sind hier nur annähernd genau, da die Untersuchung der Tumoren gewöhnlich nur einmal wöchentlich vorgenommen wurde²⁾.

Bevor wir nun auf Grund dieser Zahlen und Kurven Schlüsse ziehen, muß auf eine Tatsache hingewiesen werden, die die Deutung erschwert. Es ist natürlich, daß die Mäuse mit den am schnellsten wachsenden Tumoren am frühesten sterben. Die am schnellsten wachsenden Tumoren finden sich nun bei den Tieren, die mit dem am wenigsten abgeschwächten Material inokuliert worden waren. Zu je späterem Termin nach der Impfung daher die Tumoren gemessen werden, desto mehr wird der Unterschied zwischen den mit stärker und mit weniger abgeschwächtem

1) Wir werden in der Folge der Kürze halber von 20 Minuten usw. erwärmten ersten und zweiten Tumoren sprechen. In Wirklichkeit war natürlich nicht der Tumor als solcher, sondern das zu inokulierende Material war vor der Inokulation in vitro erwärmt worden.

2) Die verschiedenen Zahlen in Tabelle 1 und 2 stellen das arithmetische Mittel der Größen der verschiedenen Tumoren eines Versuches dar. Hierbei wurden nur die definitiv wachsenden Tumoren berücksichtigt; die sich rückbildenden Tumoren sind also nicht in diese Berechnung einbezogen.

Tabelle 1.
Wachstumsenergie der ersten Tumoren.

| | | Wochen | | | | | | | | |
|-----------------------------------|---|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| a) I. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: | " | 25 | 120 | 270 | 360 | 410 | 440 | | | |
| | " | 20 | 130 | 210 | 340 | 400 | 440 | | | |
| | " | 25 | 130 | 240 | 310 | 400 | 500 | | | |
| | " | 25 | 130 | 210 | 310 | 410 | 500 | | | |
| | " | 20 | 130 | 230 | 310 | 400 | 500 | | | |
| | " | 25 | 180 | 310 | 440 | 540 | | | | |
| | " | 20 | 180 | 260 | 340 | 410 | | | | |
| | " | 25 | 100 | 190 | 310 | 390 | 500 | | | |
| | " | 25 | 150 | 210 | 320 | 320 | 390 | 500 | | |
| | " | 30 | 160 | 290 | 290 | 360 | 500 | 520 | | |
| b) I. Tumor, 20' erwärmt: | " | 5 | 50 | 150 | 280 | 370 | 430 | | | |
| | " | 5 | 40 | 170 | 300 | 430 | 600 | | | |
| | " | 5 | 50 | 130 | 270 | 360 | 410 | | | |
| | " | 5 | 50 | 160 | 270 | 340 | 480 | | | |
| | " | 5 | 50 | 140 | 290 | 340 | 440 | | | |
| | " | 0 | 25 | 100 | 180 | 260 | 410 | | | |
| | " | 0 | 60 | 170 | 250 | 360 | 500 | | | |
| | " | 0 | 25 | 110 | 200 | 310 | 370 | 410 | | |
| | " | 0 | 25 | 100 | 200 | 300 | 370 | 390 | | |
| | " | 0 | 25 | 90 | 150 | 210 | 290 | 390 | | |
| c) I. Tumor, 25' erwärmt: | " | 0 | 15 | 75 | 125 | 225 | 390 | 450 | | |
| | " | 0 | 15 | 70 | 160 | 270 | 370 | 420 | | |
| | " | 0 | 10 | 50 | 120 | 210 | 370 | 400 | | |
| | " | 0 | 15 | 60 | 150 | 300 | 450 | | | |
| | " | 8 | 25 | 25 | 70 | 150 | 200 | 230 | 350 | |
| | " | 0 | 5 | 35 | 80 | 130 | 230 | 400 | | |
| | " | 0 | 2 | 25 | 110 | 210 | 330 | 420 | | |
| | " | 0 | 5 | 30 | 75 | 125 | 225 | 250 | | |
| | " | 0 | 5 | 25 | 60 | 100 | 150 | 250 | | |
| | " | 0 | 0 | 15 | 25 | 50 | 100 | 150 | 180 | 250 |
| d) I. Tumor, 30' erwärmt: | " | 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 |
| | " | 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 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| e) I. Tumor, 35' erwärmt: | " | 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 |
| | " | 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 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| f) I. Tumor, 40' erwärmt: | " | 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 |
| | " | 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 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| II. Tumor, 25' erwärmt: | " | 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 |
| | " | 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 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Material inokulierten Tieren sich ausgleichen. Darauf mag zum Teil die Tatsache beruhen, daß nach einer Anzahl von Wochen das arithmetische Mittel aus der Tumorgröße in den verschiedenen Reihen ähnlicher wird, so daß die Unterschiede zwischen nicht erwärmten und den verschieden lang erwärmten Tumoren in den ersten Wochen des Wachstums am stärksten sind. Ganz dürfte der hier erwähnte Umstand diese Tatsache jedoch nicht erklären, sondern die von uns in einer früheren Mitteilung nachgewiesene Erholungsfähigkeit der Tumoren dürfte ebenfalls dabei in Betracht kommen. Ferner mag die Tatsache, daß die Tiere mit den am schnellsten wachsenden Tumoren zuerst sterben, zum Teil wenigstens die Ursache dafür sein, daß die Kurven den charakteristischen, früher erwähnten und auch hier sichtbaren Verlauf nehmen; nach einiger Zeit wird nämlich das Aufsteigen weniger steil und es kommt so auch eine für andere Wachstumsvorgänge beobachtete charakteristische Kurve zustande. Auch hier dürften wohl noch andere Umstände diese Kurvenform bestimmen, und eine allmähliche Abnahme der Wachstumsenergie wird wohl tatsächlich statthaben. Doch müßte diese genauer unter Berücksichtigung der hier angegebenen Fehlerquelle weiter untersucht werden.

Aus Tabelle 3 ersehen wir, daß mit steigendem Erwärmen die Latenzperiode des Wachstums von einem Durchschnitt von $5\frac{1}{2}$ Tagen für nicht erwärmte Tumoren zu 14 Tagen für 40 Minuten lang erwärmte Tumoren steigt. Verringerung der Quantität des Tumormaterials bis auf 5 mg beeinflußt die Latenzperiode nicht wesentlich.

20 Minuten lang erwärmte Kontrolltumoren bleiben in den ersten 4 oder 5 Wochen kleiner als die nicht erwärmten Tumoren; nach Ablauf von 5—6 Wochen haben sie aber dieselbe Größe erreicht (Abt. b, Tabelle 1). 25 Minuten lang erwärmte Tumoren wachsen noch langsamer als 20 Minuten lang erwärmte Tumoren. Nach 6 Wochen haben sie noch nicht die Größe der 20 Minuten lang erwärmten Tumoren erreicht (Abt. c, Tabelle 1). Noch schwächer ist die Wachstumsenergie der 30 Minuten lang erwärmten Tumoren. Der Unterschied ist wiederum am stärksten in den ersten 4 Wochen und gleicht sich später mehr oder weniger aus (Abt. d, Tabelle 1).

Abteilung e und die entsprechende Kurve der Figur 1 zeigen, daß das Wachstum der 35 Minuten lang erwärmten Tumoren noch schwächer ist. Das Wachstum nach Ablauf von 3 Wochen entspricht hier etwa dem 2-wöchentlichen Wachstum der 25 Minuten lang erwärmten Tumoren. Nach 6 Wochen ist das Wachstum dieser Tumoren noch schwächer, als das der 30 Minuten lang erwärmten Tumoren zur gleichen Periode. Die Größe eines 40 Minuten lang erwärmten Tumors nach 7 Wochen entspricht einem 35 Minuten lang erwärmten Tumor nach 6-wöchentlichem Wachstum (Abt. f, Tabelle 1). Die Kurven der Figur 1 stellen diese Tatsachen ebenfalls dar.

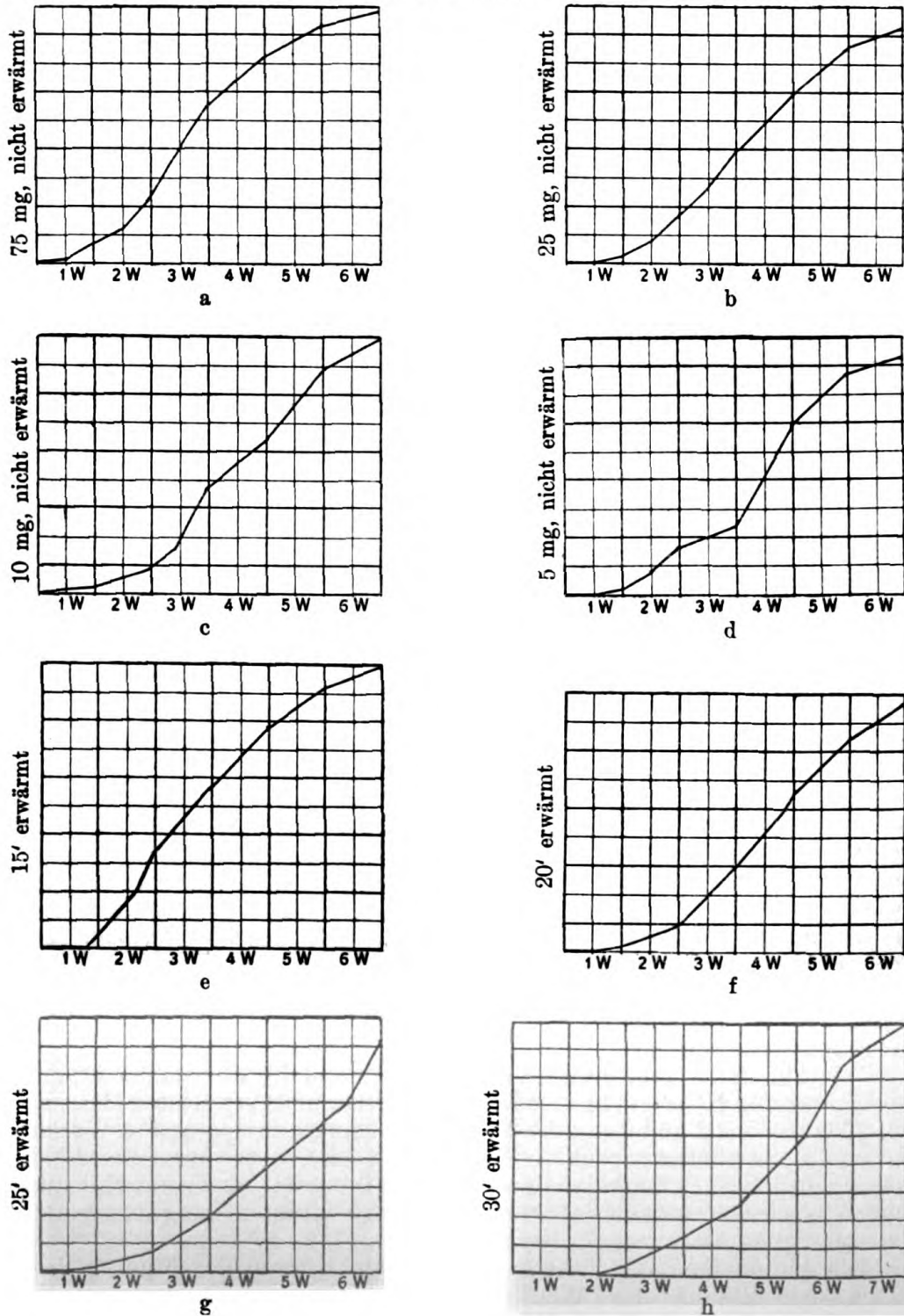
Wie Abteilung a, b, c und d der Tabelle 2 und die Kurven der Figur 1 zeigen, wird durch Verminderung des inokulierten, nicht erwärmten Materials von 75 auf 25, 10 und 5 mg die Wachstumsenergie in den ersten Wochen ein wenig vermindert; nach 4 Wochen hat sich aber der Unterschied ausgeglichen. Nach Inokulation von 5 und 10 mg ist das Tumorwachstum ähnlich wie nach Inokulation von 75 mg 20 Minuten lang erwärmten Materials; dies zeigen auch die Kurven der Figur 1.

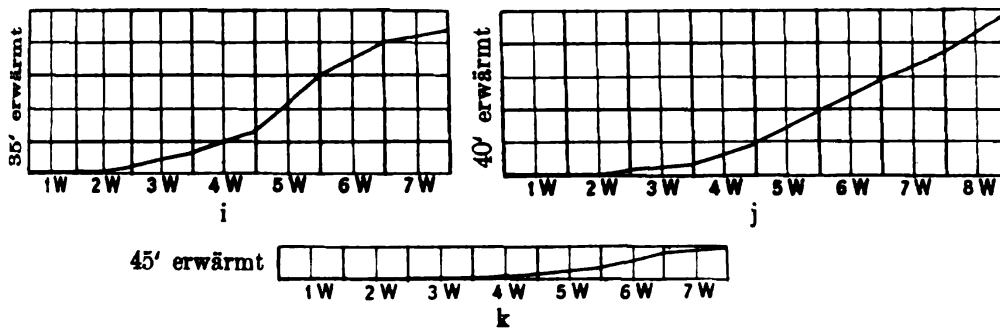
Die Abteilungen der Tabelle 1, sowie die Kurven der Figuren 2—7 zeigen den Einfluß des Wachstums eines zweiten Tumors auf die

Fig. 1.

Wachstumsenergie der Kontrolltumoren.

Auf den Abszissen ist die Zeit in Wochen nach der Inokulation aufgetragen. Die Ordinaten stellen den Durchschnitt durch die Tumoren zu verschiedenen Zeiten nach der Inokulation dar. Die Quantität des inokulierten Materials und seine Abschwächung variierten. Diese Variationen sind in den einzelnen Kurven wiedergegeben.





Wachstumsenergie eines ersten Tumors. Im allgemeinen können wir sagen, daß das Wachstum eines zweiten Tumors die Wachstumsenergie der definitiv wachsenden ersten Tumoren nicht wesentlich verändert. Doch finden wir, daß eine mittlere Abschwächung des zweiten Tumors das Wachstum des mäßig abgeschwächten ersten Tumors in einer Anzahl von Fällen ein wenig verbesserte.

Figur 3 (Abt. b, Tabelle 1), Figur 4 (Abt. c, Tabelle 1), Figur 6 (Abt. e, Tabelle 1) zeigen dies für die Kombination:

I. Tumor 20 Minuten lang erwärmt — II. Tumor 25 Minuten lang erwärmt.

I. Tumor 25 Minuten lang erwärmt — II. Tumor 25, 30 und 35 Minuten lang erwärmt.

I. Tumor 35 Minuten lang erwärmt — II. Tumor 30 Minuten lang erwärmt.

Wie aus Abt. f, Tabelle 1 hervorgeht, wird auf der anderen Seite die Wachstumsenergie eines ersten, 40 Minuten lang erwärmten Tumors durch das Wachstum eines zweiten erwärmten Tumors während der ersten 5 Wochen etwas abgeschwächt.

Vorläufig wollen wir auf diese Abweichungen noch nicht zu viel Gewicht legen. Akzidentelle Faktoren mögen das Ergebnis beeinflußt haben. Doch ist es wahrscheinlich, daß in mittlerem Grade abgeschwächte erste Tumoren durch zweite 25 oder 30 Minuten lang erwärmte Tumoren in ihrer Wachstumsenergie etwas gesteigert werden können. Weitere Untersuchungen müssen das entscheiden. Jedenfalls können wir zusammenfassend mit Sicherheit feststellen, daß das Wachstum eines zweiten virulenten oder abgeschwächten Tumors die Wachstumsenergie der ersten definitiv wachsenden Tumoren nicht wesentlich modifiziert.

Die Wachstumsenergie der zweiten Tumoren.

Tabelle 2 zeigt das Wachstum der zweiten Tumoren; die erste Linie jeder Abteilung stellt das Wachstum der Kontrolltumoren dar in Tieren, die nur einmal inokuliert worden waren. In den Kurven der Figuren 2 — 7 zeigt die punktierte Linie das Wachstum der zweiten Tumoren an, wobei die unterbrochenen Linien die Wachstumsenergie der Kontrolltumoren repräsentieren. Alle Kurven, die die Wachstumsenergie darstellen, wurden auf Grund der in Tabelle 1 und 2 niedergelegten Zahlen konstruiert. Abteilungen h und i der Tabelle 2, Kurven h und i der Figur 2 zeigen, daß ein erster, nicht erwärmter Tumor (75 mg) das Wachstum eines zweiten 35 oder 40 Minuten lang erwärmten Tumors fast gänzlich verhindert; die Wachstumsenergie eines zweiten, 30 Minuten lang erwärmten Tumors ist unter diesen Umständen merklich verringert. Ob eine geringe Abschwächung der Wachstumsenergie der zweiten 25,

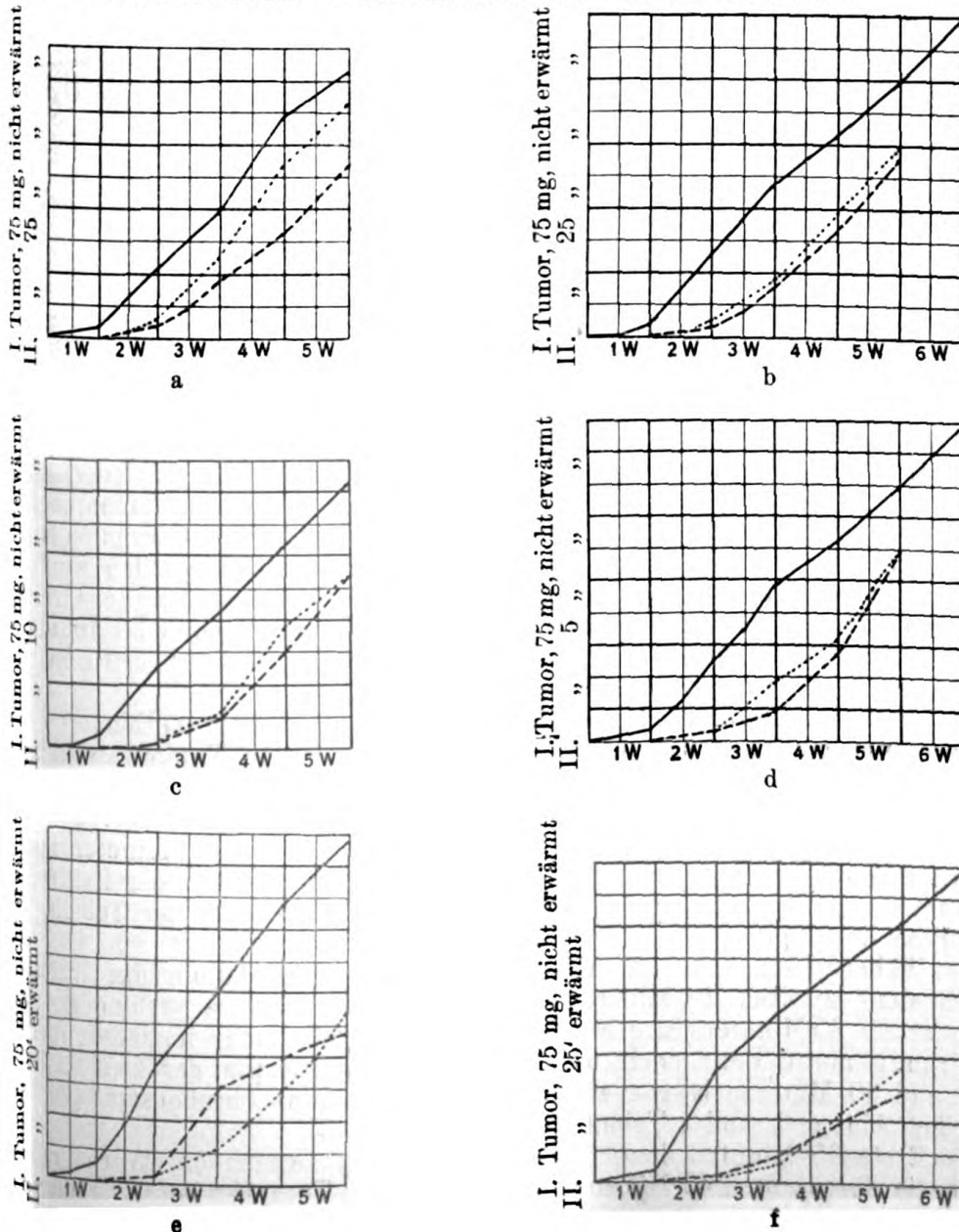
resp. 20 Minuten lang erwärmt sowie der unerwärmten (75 mg, 25 mg) Tumoren gesetzmäßig oder zufällig ist, wollen wir vorläufig dahingestellt sein lassen. Falls bei der zweiten Inokulation 10 und 5 mg nicht erwärmten Tumormaterials benutzt wurde, fand sich diese Abschwächung nicht. In allen diesen Fällen war bei der ersten Inokulation 75 mg nicht erwärmten Tumormaterials benutzt worden.

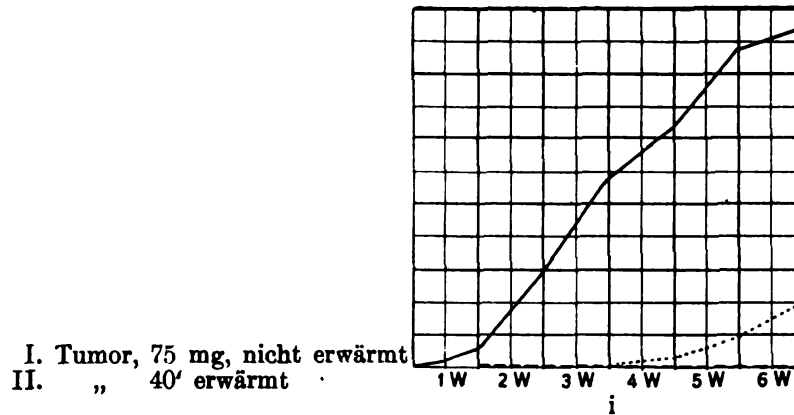
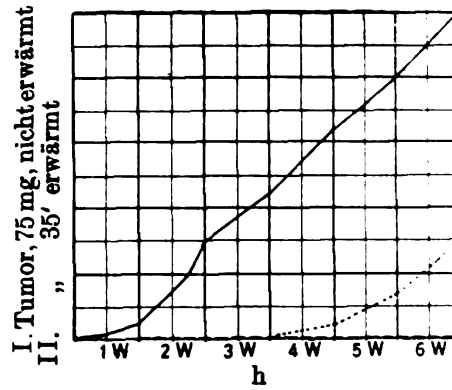
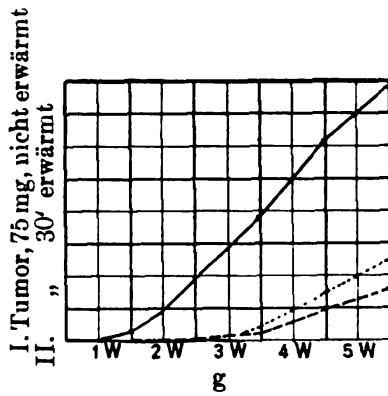
Fig. 2.

Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren bei Doppelimpfungen.

Die Wachstumsenergie der ersten Tumoren ist durch die einfachen schwarzen Linien, die der zweiten Tumoren durch die unterbrochenen Linien, die der zweiten Kontrolltumoren in den betreffenden Versuchen durch die punktierten Linien dargestellt.

Abzissen: Zeit in Wochen nach der Inokulation. Ordinaten: Größe der Tumoren zu den verschiedenen Zeiten. I. Inokulation mit nicht erwärmtem Material.





Erste 20 Minuten lang erwärmte Tumoren verhindern das Wachstum zweiter 40 Minuten lang erwärmter Tumoren. Das Wachstum zweiter 35 Minuten lang erwärmter Tumoren wird jedoch nicht verhindert und die Wachstumsenergie dieser definitiv wachsenden zweiten Tumoren ist ebenso groß wie der Kontrolltumoren, oder sogar größer. 20 Minuten lang erwärmte erste Tumoren haben also einen weniger schädigenden Einfluß als nicht erwärmte erste Tumoren. Erste 20 Minuten lang erwärmte Tumoren beeinflussen die Wachstumsenergie zweiter 25 und 30 Minuten lang erwärmter Tumoren nicht wesentlich (Abt. f, g, h und i, dritte Reihe der Tabelle 2, Kurven der Figur 3).

Auch ein erster 25 Minuten lang erwärmter Tumor verhindert das Wachstum eines zweiten 40 Minuten lang erwärmten Tumors, während die Wachstumsenergie eines zweiten 35 Minuten lang erwärmten durch den ersten Tumor nicht wesentlich beeinflusst wurde. In unseren Versuchen war die Wachstumsenergie der zweiten 25 und 30 Minuten lang erwärmten Tumoren ein wenig herabgesetzt im Vergleich zu den Kontrolltumoren (vierte Reihe der Abteilungen f, g, h und i der Tabelle 2, Kurven der Figur 4).

Während ein erster 25 Minuten lang erwärmter Tumor das Wachstum eines zweiten 40 Minuten lang erwärmten Tumors verhindert, ist ein erster 30 Minuten lang erwärmter Tumor nicht mehr imstande, diese Wirkung auszuüben; doch war die Wachstumsenergie der zweiten 30, 35 und 40 Minuten lang erwärmten Tumoren etwas herabgesetzt (fünfte Reihe, Abt. g, h und i Tabelle 2, Kurven Fig. 5).

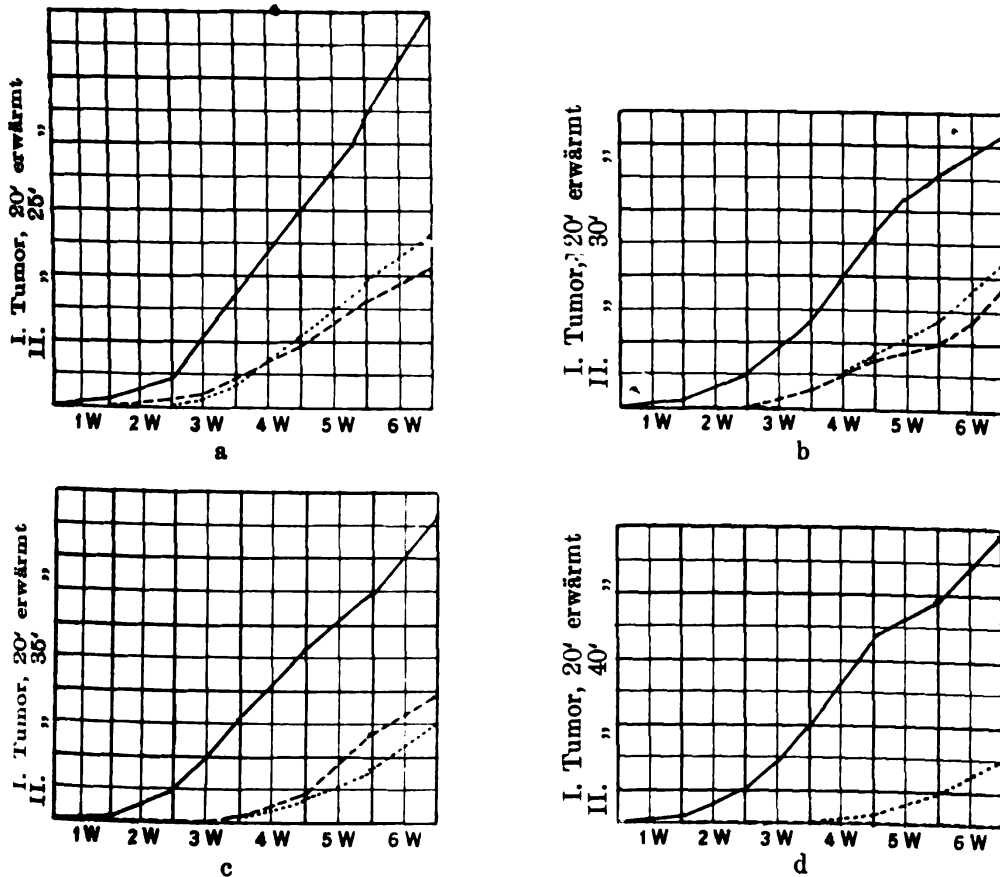
Erste 35 Minuten lang erwärmte Tumoren setzten die Wachstumsenergie der zweiten 40 Minuten lang erwärmten Tumoren herab, während zweite 30 und 35 Minuten lang erwärmte Tumoren in unseren Versuchen

sogar verstärkte Wachstumsenergie zeigten. Die Wachstumsenergie der zweiten 25 Minuten lang erwärmten Tumoren war nicht wesentlich verändert (vorletzte Reihe, Abt. f, g, h und i, Kurven Fig. 6).

Fig. 3.

Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren bei Doppelimpfungen.

I. Inokulation mit 20 Minuten lang erwärmtem Material. Siehe im übrigen Erklärung zu Fig. 2.



Ein erster 40 Minuten lang erwärmter Tumor veränderte die Wachstumsenergie der zweiten 25 und 30 Minuten lang erwärmten Tumoren nicht wesentlich; die Wachstumsenergie der zweiten 35 Minuten lang erwärmten Tumoren war besser und der zweiten 40 Minuten lang erwärmten Tumoren weniger gut als die der ebenso lange erwärmten Kontrolltumoren (letzte Reihe, Abt. f, g, h und i Tab. 2, Kurven Fig. 7).

Zusammenfassend können wir also feststellen, daß ein zweiter Tumor die Wachstumsenergie eines ersten Tumors nicht wesentlich verändert und daß ein erster nicht erwärmter Tumor das Wachstum eines zweiten 40 und 35 Minuten lang erwärmten Tumors fast ganz verhindert, und die Wachstumsenergie eines zweiten 30 Minuten lang erwärmten Tumors abschwächt; ferner daß ein erster 20 und 25 Minuten lang erwärmter Tumor das Wachstum eines zweiten 40 Minuten lang erwärmten Tumors verhindert.

Wir fanden auch, daß ein zweiter 25 Minuten lang erwärmter Tumor die Wachstumsenergie eines ersten 20 Minuten lang erwärmten Tumors verstärkt, ebenso ein zweiter 25, 30 und 35 Minuten lang erwärmter die

Fig. 4.
Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren bei Doppelimpfungen.

I. Inokulation mit 25 Minuten lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 2.

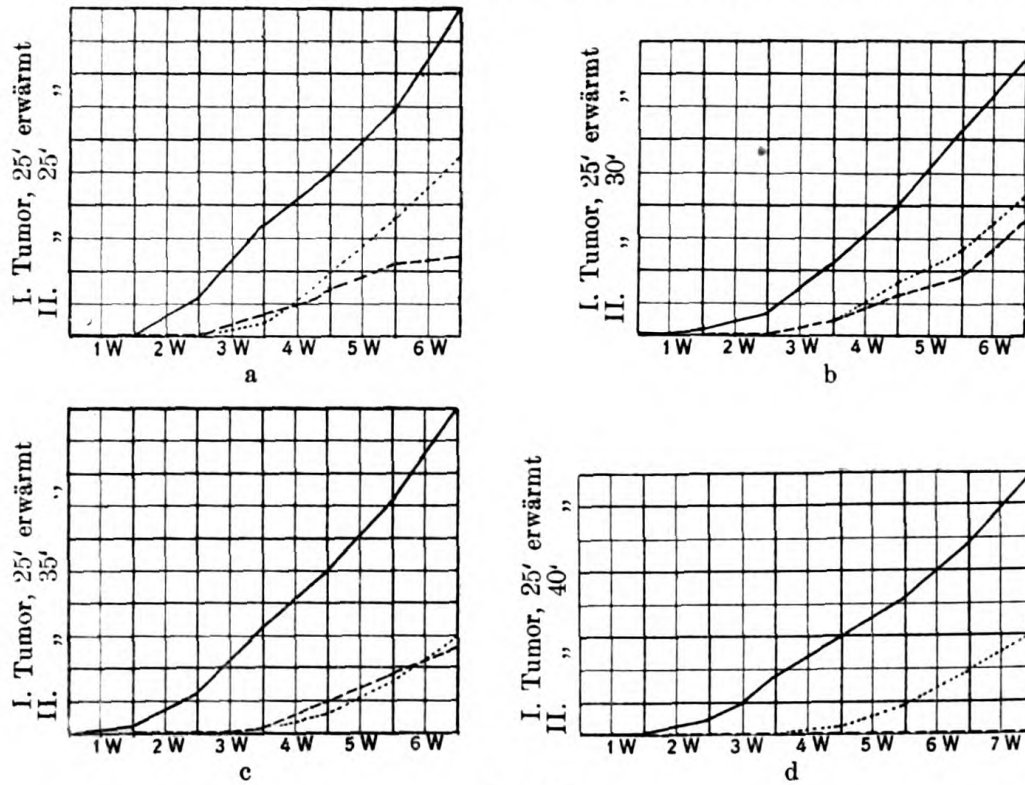


Fig. 5.
Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren bei Doppelimpfungen.

I. Inokulation mit 30 Minuten lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 2.

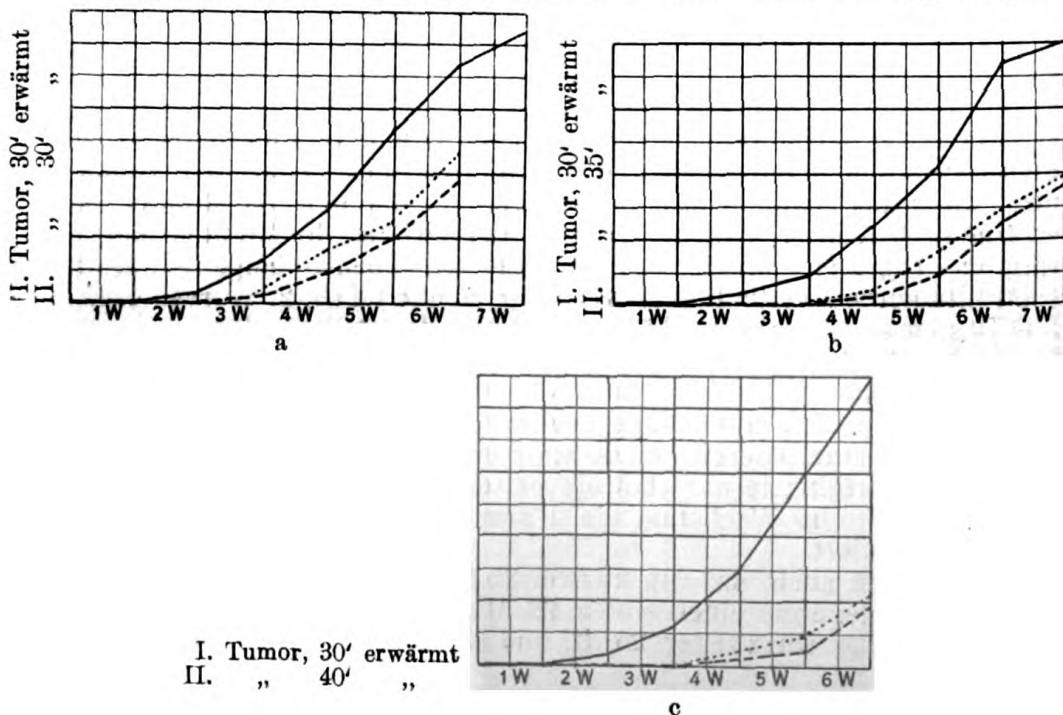


Fig. 6.
Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren bei Doppel-
impfungen.

I. Inokulation mit 35 Minuten lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 2.

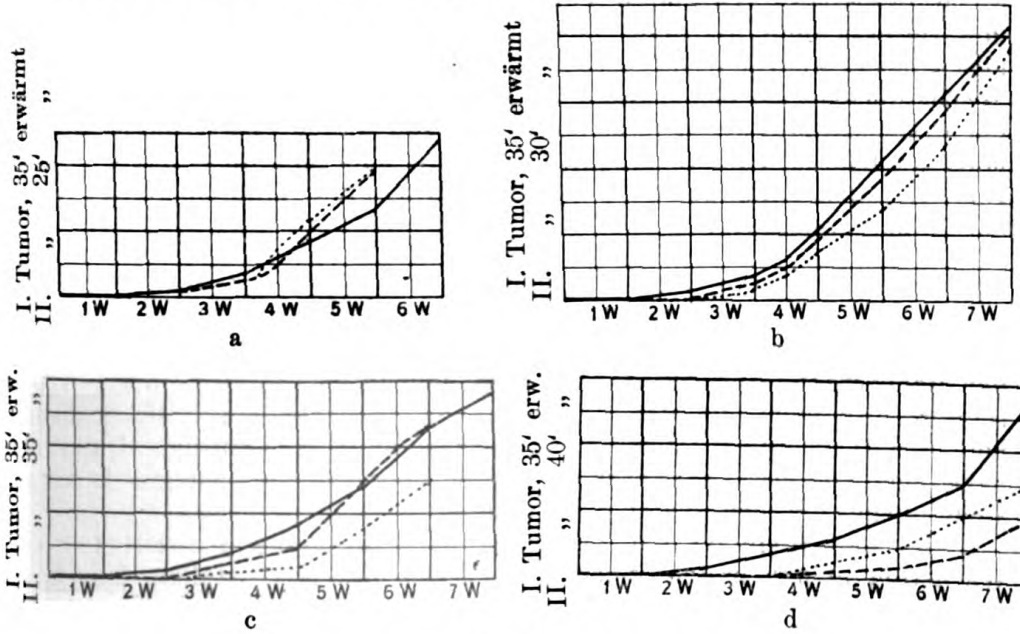
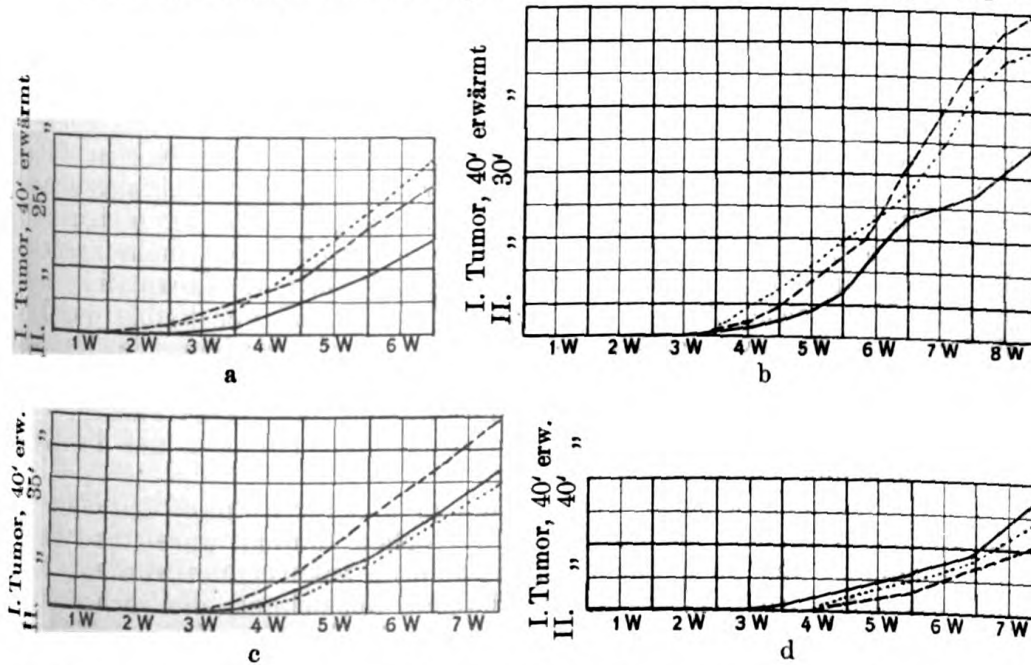


Fig. 7.
Wachstumsenergie der ersten und zweiten Tumoren bei Doppel-
impfungen.

I. Inokulation mit 35 Minuten lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 2.



Wachstumsenergie eines ersten 25 Minuten lang erwärmten Tumors und ein zweiter 30 Minuten lang erwärmter Tumor die eines ersten 35 Minuten lang erwärmten Tumors verstärkt. Wir finden ferner, daß ein erster

nicht erwärmter Tumor die Wachstumsenergie eines zweiten 20 und 25 Minuten lang erwärmten Tumors, ein erster 25 Minuten lang erwärmter Tumor, die eines zweiten 25 und 30 Minuten lang erwärmten, ein erster 30 Minuten lang erwärmter Tumor die eines zweiten 30, 35 und 40 Minuten lang erwärmten Tumors, ein erster 35 und 40 Minuten lang erwärmter Tumor die eines zweiten 40 Minuten lang erwärmten Tumors abschwächt, während ein erster 35 Minuten lang erwärmter Tumor die Wachstumsenergie eines zweiten 30 und 35 Minuten lang erwärmter und ein erster 40 Minuten lang erwärmter Tumor die eines zweiten 35 Minuten lang erwärmten Tumors erhöht. Wie weit aber alle diese letztgenannten Einwirkungen zufälliger oder kausaler Natur sind, müssen weitere Untersuchungen feststellen.

Der Einfluß der Doppelimpfungen auf die Zahl der angehenden und sich rückbildenden Tumoren.

Als definitiv wachsende Tumoren bezeichnen wir solche, die während der Beobachtungszeit ein beständiges Wachstum zeigten, diese Klasse schließt also nicht die sich rückbildenden Tumoren ein. Die Schnelligkeit des Wachstums ist hingegen hierbei ohne Bedeutung. Unter angehenden Tumoren verstehen wir alle zeitweise wachsende Tumoren, auch solche, die sich später zurückbilden.

Bei der Mehrzahl der Tumoren macht es keine Schwierigkeit, das Wachstum in den ersten Wochen mit Sicherheit festzustellen, falls z. B. die Tumoren nach 2 oder 3 Wochen eine Größe von 7 : 7 : 7 mm oder von 10 : 10 : 10 mm erreicht haben. Schwieriger ist die Entscheidung, sobald es sich um ganz kleine Tumoren handelt. Nicht selten beobachten wir in den ersten Wochen nach der Inokulation kleine Knötchen von 1—3 mm Durchmesser. Einige dieser Knötchen wurden etwa 3 Wochen nach der Inokulation exzidiert und mikroskopisch untersucht. In der Peripherie des Knötchens, sowie auch in der umgebenden Bindegewebskapsel fanden sich lebendes Tumorgewebe, sowie in Mitose begriffene Tumorzellen. Falls nun solche Knötchen vor Ablauf der ersten 4 Wochen verschwanden, rechneten wir sie zu der Klasse der nicht angehenden Tumoren. Waren dieselben aber noch nach Ablauf von 4 Wochen fühlbar, und verschwanden sie erst später, so wurden dieselben als angehende und später sich rückbildende Tumoren bezeichnet. Sehr oft bilden sich auch Tumoren mit einem Durchmesser von 10 mm und mehr zurück; die Rückbildung mag zu verschiedenen Zeiten nach der Inokulation einsetzen. Nur solche Tiere, die so lange lebten, daß der Erfolg der Inokulation bestimmt werden konnte, wurden bei der Anfertigung der Kurven oder Tabellen berücksichtigt. Die Zahl der definitiv wachsenden und angehenden Tumoren ist in Prozent der inokulierten Mäuse ausgedrückt, während der Prozentsatz der sich rückbildenden Tumoren auf die Zahl der angehenden Tumoren bezogen ist.

Es möge hier bemerkt werden, daß in unserer früheren Mitteilung¹⁾ die kleinen Knötchen, die noch nach 4 Wochen fühlbar waren und dann verschwanden, den nicht angehenden Tumoren zugerechnet wurden. Nur die Tumoren wurden als sich rückbildende bezeichnet, die vorher etwa den Durchmesser einer kleinen Erbse erreicht hatten. In der früheren Mitteilung war daher sowohl die Zahl der angehenden, als auch der sich rückbildenden Tumoren kleiner als in dieser Mitteilung auf Grund der

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. Heft 3/4.

hier benutzten Definitionen. Quantitativ können daher die Ergebnisse der beiden Mitteilungen nicht verglichen werden. Aber es möge doch schon hier hervorgehoben werden, daß in allem wesentlichen die Ergebnisse der früheren und dieser Mitteilung, soweit dieselben Probleme berührt werden, identisch sind. In beiden Fällen ist die Latenzzeit, Wachstumsenergie der Tumoren, die Zahl der sich rückbildenden Tumoren direkt resp. umgekehrt proportional der Dauer der Erwärmung, während die Zahl der angehenden Tumoren ein bestimmtes Verhältnis hierzu nicht erkennen läßt. Die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren, die durch Subtraktion der sich rückbildenden von der Zahl der angehenden Tumoren erhalten wird, muß daher wieder ein bestimmtes Verhältnis zu der Einwirkung der Wärme zeigen, wie sich dies auch tatsächlich aus den Resultaten dieser Untersuchung ergibt.

Es möge hier auch bemerkt werden, daß unsere weiteren Versuche, auch das wesentliche Ergebnis der früheren Untersuchungen bestätigten, dahingehend, daß eine Summierung der schwächenden Wirkung der Erwärmung in aufeinanderfolgenden Generationen nicht stattfindet und ebensowenig auch Anpassung des Tumors an höhere Wärmegrade. Nur eine Differenz von Bedeutung besteht zwischen unseren früheren und neueren Ergebnissen. In unseren neuen Versuchen wurde die Empfindlichkeit der Tumoren der Erwärmung gegenüber größer gefunden, soweit die stärkeren Grade der Erwärmung in Betracht kommen. Während früher 55–60 Minuten langes Erwärmen auf 44° die obere Grenze darstellte, liegt diese Grenze in diesen neuen Versuchen bei 45 Minuten langem Erwärmen. Ob es sich hier um eine tatsächliche Änderung in der Empfindlichkeit der Tumorzellen oder um andere, bisher nicht erkannte variable Faktoren handelt, müssen fortgesetzte Untersuchungen zeigen.

Umgekehrt ist in der neuen Serie die Zahl der erfolgreichen Tumortransplantationen größer als in den früheren Versuchen, falls das Tumormaterial nicht oder nur wenig erwärmt war. Dieser Umstand ist wohl durch die günstigen Bedingungen verursacht, unter denen die neueren Versuche ausgeführt werden; insbesondere war das Tiermaterial jetzt homogen und nur die günstigeren Mäuserassen wurden zur Inokulation benutzt, während früher der Charakter der benutzten Mäuse weniger gleichmäßig war.

Das Verhalten der Kontrolltumoren (d. h. Tumoren von Tieren, die nur einmal mit Tumormaterial inokuliert worden waren) ergibt sich aus Fig. 19. Dieselbe zeigt die Bedeutung der Quantität des nicht erwärmten Materials sowie der Dauer des Erwärmens für die Zahl der angehenden und definitiv wachsenden Tumoren. Wie die obere Kurve zeigt, ist die Zahl der angehenden Tumoren weitgehend unabhängig von der Dauer der Erwärmung, während die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren eine deutliche Abhängigkeit von der Dauer der Erwärmung zeigt. Ferner ergibt sich, daß ein 45 Minuten langes Erwärmen die Kurve nahe den Nullpunkt bringt.

Im folgenden soll erst die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren bei Kontrolltieren einerseits mit der Zahl der definitiv wachsenden Tumoren bei der Gesamtzahl der doppelt inokulierten Tiere andererseits verglichen werden. Wir sehen hierbei zunächst von den Unterschieden ab, die zwischen den Effekt von stark und schwach erwärmten Tumoren bei Doppelinokulationen bestehen (s. Tabelle 4a und b).

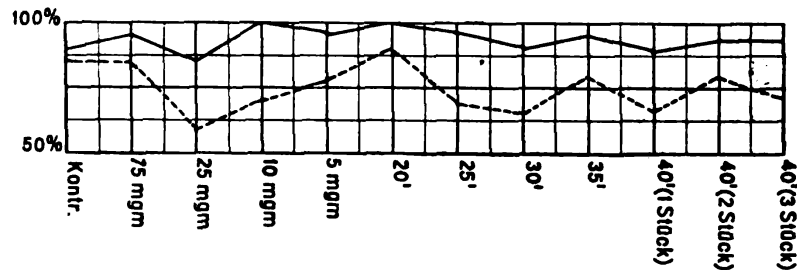
Die Zahl der definitiv wachsenden ersten (75 mg) oder zweiten nicht erwärmten (75–5 mg) Tumoren wird durch eine zweite resp. erste

Tabelle 3.

| | Latenzzeit Tage | Definitiv wachsende Tumoren | Sich rückbildende Tumoren | Angehende Tumoren |
|---|--------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------------|
| | 5-7 (5%) | 86 Proz. | 6 Proz. | 90 Proz. |
| a) Erste Tumoren. | | | | |
| I. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: | | | | |
| " | " | 86 | 12 | 96 |
| " | " | 57 | 26 | 81 |
| " | " | 70 | 30 | 100 |
| " | " | 78 | 19 | 97 |
| " | " | 91 | 9 | 100 |
| " | " | 67 | 27 | 94 |
| " | " | 73 | 21 | 92 |
| " | " | 80 | 27 | 94 |
| " | " | 67 | 28 | 94 |
| " | " | 83 | 14 | 96 |
| " | " | 73 | 24 | 95 |
| II. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: | | | | |
| " | " | 56 | 44 | 100 |
| " | " | 90 | 0 | 90 |
| " | " | 85 | 12 | 95 |
| " | " | 76 | 5 | 80 |
| " | " | 44 | 35 | 75 |
| " | " | 62 | 0 | 62 |
| " | " | 72 | 24 | 91 |
| b) Zweite Tumoren. | | | | |
| II. Tumor, 25 mg nicht erwärmt | | | | |
| " | " | 80 | 11 | 90 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 75 | 16 | 91 |
| c) Erste Tumoren. | | | | |
| I. Tumor, 20' erwärmt: | | | | |
| " | 6-9 (7) | 89 | 11 | 100 |
| " | " | 80 | 11 | 90 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 75 | 16 | 91 |
| d) Zweite Tumoren. | | | | |
| I. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: II. Tumor, 20' erwärmt | | | | |
| " | " | 89 | 11 | 100 |
| " | " | 80 | 11 | 90 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 65 | 34 | 95 |
| " | " | 75 | 16 | 91 |
| e) Erste Tumoren. | | | | |
| I. Tumor, 25' erwärmt | | | | |
| " | 6-10 (8) | 72 | 22 | 90 |
| " | " | 80 | 20 | 88 |
| " | " | 58 | 40 | 86 |
| " | " | 80 | 13 | 92 |
| " | " | 69 | 23 | 91 |
| f) Zweite Tumoren. | | | | |
| I. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: II. Tumor, 25' erwärmt | | | | |
| " | " | 40 | 45 | 74 |
| " | " | 52 | 27 | 75 |
| " | " | 60 | 15 | 70 |
| " | " | 36 | 45 | 64 |
| " | " | 60 | 25 | 80 |

Inokulation vermindert (Abt. a, Tabelle 3, Fig. 8; Abt. b, Tabelle 3, Fig. 14). Die Zahl der definitiv wachsenden ersten Tumoren zeigt eine Verringerung, falls die zweite Injektion mit 75—5 mg nicht erwärmtem oder 75 mg 20—40 Minuten lang erwärmtem Material vorgenommen wurde. Die Kontrolltumoren wuchsen in 86 Proz., die ersten Tumoren, wuchsen in Tieren, die 6 Tage später wieder inokuliert worden waren, in 75 Proz. der Fälle. Ob bei der zweiten Inokulation 1, 2 oder 3 bis 5 Stücke 40 Minuten lang erwärmten Materials inokuliert wurden, war ohne Bedeutung (s. die 3 letzten Reihen der Abteilung a).

Fig. 8.



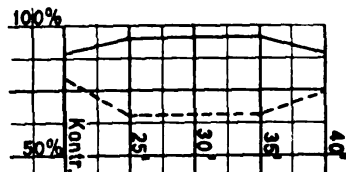
Zahl der angehenden (schwarze Linie) und definitiv wachsenden (unterbrochene Linie) ersten Tumoren, im Falle einer zweiten Impfung mit verschiedenen Quantitäten nicht erwärmten oder mit 75 mg verschieden lang erwärmten Materials. Zu der ersten Inokulation wurden in jedem Falle 75 mg nicht erwärmten Materials benutzt.

Die verschiedenen Punkte der Abszisse entsprechen den verschiedenen Quantitäten und der verschiedenen langen Erwärmung des inokulierten Materials bei der zweiten Impfung, die Ordination der Zahl der angehenden und definitiv wachsenden ersten Tumoren in Prozenten der inokulierten Tiere.

Die nicht erwärmten zweiten Tumoren wuchsen in 63 Proz., falls eine erste Inokulation mit nicht erwärmtem Material vorhergegangen war. Im einzelnen finden sich wohl mehr oder weniger zufällige Variationen in den verschiedenen Versuchsreihen. Es ist wahrscheinlich, daß der Effekt der Doppelimpfung im ganzen ursächlich mit der Verminderung der Zahl der definitiv wachsenden Tumoren zusammenhängt.

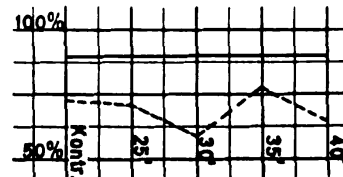
Die Zahl der sich rückbildenden Tumoren nimmt bei Doppelimpfungen zu.

Fig. 9.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden ersten, 20 Minuten lang erwärmten Tumoren, im Falle einer zweiten Impfung mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 8.

Fig. 10.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden ersten, 25 Minuten lang erwärmten Tumoren, im Falle einer zweiten Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 8.

Falls die ersten Tumoren 20 oder 25 Minuten lang erwärmt wurden (Abt. c, Tabelle 3, Fig. 9 und Abt. e, Tabelle 3, Fig. 10), wird die Zahl der angehenden Tumoren im Vergleich zu den Kontrolltumoren durch die Doppelimpfung nicht verändert, wohl aber die Zahl der definitiv wachsenden und sich rückbildenden Tumoren. In Kontrolltieren betragen die Zahlen der definitiv wachsenden Tumoren 80 Proz. resp. 72 Proz. und der sich rückbildenden Tumoren 11 Proz. und 21 Proz. Im Falle von

Doppelimpfungen fällt die Zahl der ersten 20 Minuten lang erwärmten Tumoren von 80 Proz. auf 67 Proz. und die ersten 25 Minuten lang erwärmten Tumoren von 72 Proz. auf 69 Proz. 25 Minuten lang erwärmte Tumoren wurden also nur mehr in geringfügiger Weise durch die zweite Inokulation affiziert.

Die Zahlen der sich rückbildenden Tumoren werden in beiden Fällen in entsprechender Weise affiziert. Die Zahl der angehenden Tumoren wird hingegen nicht verändert.

In einem Versuch, in dem nach einer ersten Inokulation mit 75 mg nicht erwärmten Materials eine zweite Inokulation mit 20 Minuten lang erwärmten Tumorstückchen vorgenommen wurde, wuchs der zweite Tumor sehr gut.

Die Zahl der angehenden wie der definitiv wachsenden zweiten, 25 Minuten lang erwärmten Tumoren ist verringert im Vergleich zu den Kontrolltumoren (Abt. f, Tab. 3, Fig. 15). Die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren fällt von 72 Proz. in den Kontrolltieren auf 49 Proz. bei Doppelimpfung. Die Zahl der sich rückbildenden zweiten Tumoren ist andererseits vermehrt im Vergleich zu den Kontrolltumoren. In einzelnen finden sich hier Variationen je nach der Art der ersten Tumoren.

Bemerkenswert ist das Ansteigen des Endteils der Kurve des zweiten Tumors, das wir auch noch später bei Betrachtung der Zahl der definitiv wachsenden Tumoren wiederfinden werden.

Die länger erwärmten Tumoren verhalten sich etwas anders im Falle von Doppelimpfungen. Wir finden, daß Doppelimpfungen das Wachstum der ersten Tumoren verbessern und das der zweiten Tumoren nur in geringerem Maße oder nicht verschlechtern. Wir können hier ferner einen Unterschied in der Zahl der definitiv wachsenden, 30–40 Minuten lang erwärmten ersten oder zweiten Tumoren je nach dem Grade der Abschwächung des anderen Tumors finden.

Tabelle 4.

a) Prozentsatz der definitiv wachsenden und sich rückbildenden Tumoren im Falle einer zweiten Inokulation und ohne eine solche (Kontrolltiere).

| | Definitiv wachsende Tumoren | | Sich rückbildende Tumoren | |
|---------------|-----------------------------|---------------|---------------------------|---------------|
| | Mit zweiter Inokulation | Kontrolltiere | Mit zweiter Inokulation | Kontrolltiere |
| Nicht erwärmt | 75 Proz. | 86 Proz. | 21 Proz. | 6 Proz. |
| 20' | 67 " | 80 " | 26 " | 11 " |
| 25' | 69 " | 72 " | 24 " | 21 " |
| 30' | 75 " | 50 " | 20 " | 45 " |
| 35' | 49 " | 33 " | 36 " | 60 " |
| 40' | 35 " | 30 " | 47 " | 65 " |

b) Prozentsatz der definitiv wachsenden und sich rückbildenden zweiten Tumoren und Kontrolltumoren.

| | Definitiv wachsende Tumoren | | Sich rückbildende Tumoren | |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|
| | Zweite Tumoren | Kontrolltumoren | Zweite Tumoren | Kontrolltumoren |
| Nicht erwärmt (5–75 mg) | 63 Proz. | 85 Proz. | 24 Proz. | 6–12 Proz. |
| 25' | 49 " | 72 " | 31 " | 21 " |
| 30' | 46 " | 50 " | 42 " | 45 " |
| 35' | 34 " | 33 " | 39 " | 60 " |
| 40' | 15 " | 30 " | | |

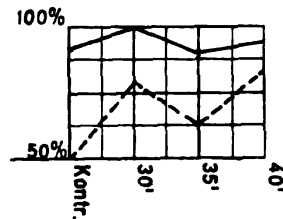
Die Kurven der 30 Minuten lang erwärmten ersten Tumoren zeigen im ganzen noch einen gleichförmigen Verlauf (Fig. 11). Eine zweite Inokulation mit 30, 35 oder 40 Minuten lang erwärmtem Material ver-

30*

mehrt hier die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren von 50 Proz. (Kontrolltumoren) auf 75 Proz. (Doppelimpfungen) (Abt. g, Tab. 3 u. 4). Die Zahl der angehenden Tumoren ist hier ebensowenig wie bei den Kontrolltumoren verändert. Zur zweiten Inokulation wurden hier nur länger erwärmte, nämlich 30, 35 und 40 Minuten lang erwärmte Tumoren benutzt. Die Zahl der sich rückbildenden Tumoren ist gegenüber den Kontrolltieren verringert.

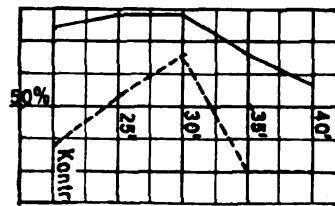
Nach 35 Minuten langer Erwärmung ist bei den Kontrolltieren nicht nur die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren herabgesetzt, sondern auch die Zahl der angehenden Tumoren im Vergleich zu den weniger lang erwärmten Tumoren; doch ist die Verminderung in der Zahl der angehenden Tumoren hier sowohl wie bei den 40 Minuten lang erwärmten Tumoren nur geringfügig.

Fig. 11.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden ersten, 30 Minuten lang erwärmten Tumoren, im Falle einer zweiten Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe im übrigen Erklärung zu Fig. 8.

Fig. 12.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden ersten, 35 Minuten lang erwärmten Tumoren, im Falle einer zweiten Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe im übrigen Erklärung zu Fig. 8.

Eine zweite Inokulation vergrößert die Zahl der definitiv wachsenden ersten, 35 Minuten lang erwärmten Tumoren von 33 Proz. auf 49 Proz. (Tabelle 4). Diese günstige Beeinflussung der ersten Tumoren findet sich aber nur, falls der zweite Tumor 25 und 30 Minuten lang erwärmt worden war, während eine zweite Inokulation mit 35 und 40 Minuten lang erwärmtem Tumormaterial die Zahl der definitiv wachsenden ersten Tumoren vermindert. Es kommt hierdurch eine typische Kurve mit erst auf- und dann absteigendem Schenkel zustande (Abt. i der Tabelle 3, Fig. 12). Entsprechend der Vermehrung der Zahl der definitiv wachsenden findet sich eine Verminderung der Zahl der sich rückbildenden Tumoren.

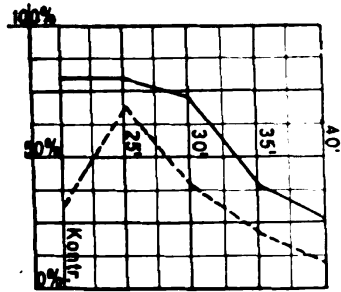
Alles, was für die 35 Minuten lang erwärmten ersten Tumoren gesagt wurde, gilt auch für die 40 Minuten lang erwärmten ersten Tumoren. Nur ist hier schon in den Kontrolltumoren die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren noch bedeutender verringert und die Zahl der sich rückbildenden Tumoren vergrößert. Eine zweite Inokulation mit 25 und 30 Minuten lang erwärmtem Material vergrößert die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren, verringert die Zahl der sich rückbildenden Tumoren, während eine zweite Inokulation mit 35 und 40 Minuten lang erwärmtem Material die umgekehrte Wirkung hat.

Auch die Wachstumsenergie der ersten 30 und 35 Minuten lang erwärmten Tumoren wurde durch eine zweite Inokulation mit 25 und 30 Minuten lang erwärmtem Material verstärkt; doch war dies allerdings nicht bei den 40 Minuten lang erwärmten ersten Tumoren der Fall.

Fig. 4a und 4b zeigen die Zahl der definitiv wachsenden und sich rückbildenden Tumoren bei Kontrolltieren und nach Doppelimpfung-

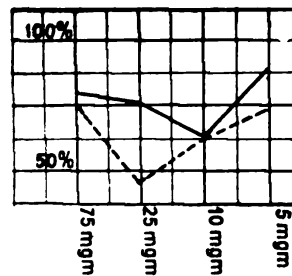
Wir erkennen hier auch, daß die Zahl der definitiv wachsenden zweiten Tumoren merklich geringer ist als die der entsprechenden ersten Tumoren.

Fig. 13.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden ersten, 40 Minuten lang erwärmten Tumoren, im Falle einer zweiten Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 8.

Fig. 14.

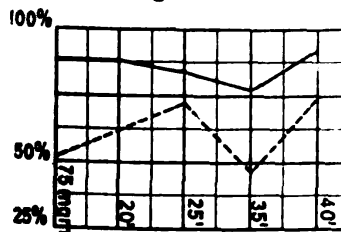


Zahl der angehenden (schwarze Linie) und definitiv wachsenden (unterbrochene Linie) zweiten Tumoren, nach Inokulation von verschieden großen Quantitäten von Tumormaterial bei der zweiten Impfung. Die erste Inokulation wurde jeweils mit 75 mg nicht erwärmten Materials vorgenommen.

Auf der Abszisse sind die verschiedenen Quantitäten des bei der zweiten Inokulation benutzten Tumormaterials angegeben. Die Ordinaten stellen die Zahl der angehenden und definitiv wachsenden Tumoren in Prozenten der inokulierten Tiere dar.

Im Falle der zweiten Tumoren findet eine günstige Beeinflussung der Zahl der definitiv wachsenden Tumoren durch eine zweite (in diesem Falle vorhergehende) Inokulation nicht statt oder dieselbe ist nicht bedeutend. Mit steigendem Erwärmen fällt hier nicht nur, wie bei den

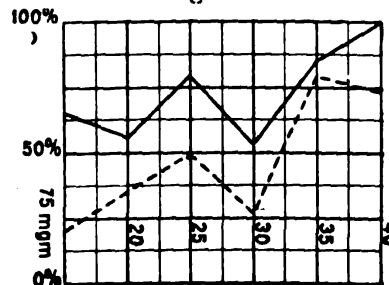
Fig. 15.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden zweiten, 25 Minuten lang erwärmten Tumoren, nach erster Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material.

Auf der Abszisse ist der Grad der Erwärmung des bei der ersten Inokulation benutzten Tumormaterials aufgetragen. Die Ordinaten stellen die Anzahl der angehenden zweiten Tumoren (schwarze Linie) oder der definitiv wachsenden zweiten Tumoren (unterbrochene Linie) in Prozenten der insgesamt inokulierten Tiere dar.

Fig. 16.



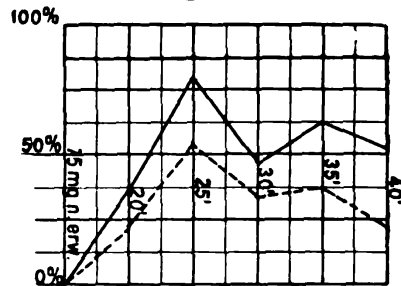
Zahl der angehenden und definitiv wachsenden zweiten, 30 Minuten lang erwärmten Tumoren, nach erster Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe im übrigen Erklärung zu Fig. 15.

Kontrolltieren, die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren, sondern es wird auch die Zahl der angehenden Tumoren geringer, als dies bei den entsprechenden ersten Tumoren der Fall ist. Die Zahl der angehenden Tumoren nimmt hier deutlich mit zunehmendem Erwärmen ab. Im Falle der zweiten 30 und 40 Minuten lang erwärmten Tumoren scheint

eine erste Inokulation mit 35 und 40 Minuten lang erwärmtem Material günstig zu wirken. Hier besteht die Neigung der Endstücke der Kurven, einen aufsteigenden Verlauf zu nehmen, während die Endstücke der entsprechenden Kurven der ersten Tumoren sich der Abszisse zuwenden.

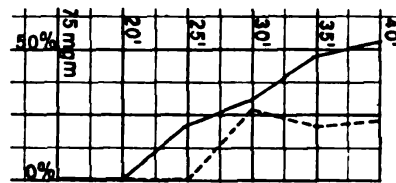
Wie wir schon früher erwähnten, verhindert ein erster nicht erwärmter Tumor fast gänzlich das Wachstum von 35 Minuten lang erwärmten zweiten Tumoren, wie dies auch aus Fig. 17 hervorgeht. Ferner

Fig. 17.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden, 35 Minuten lang erwärmten zweiten Tumoren, nach erster Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 15.

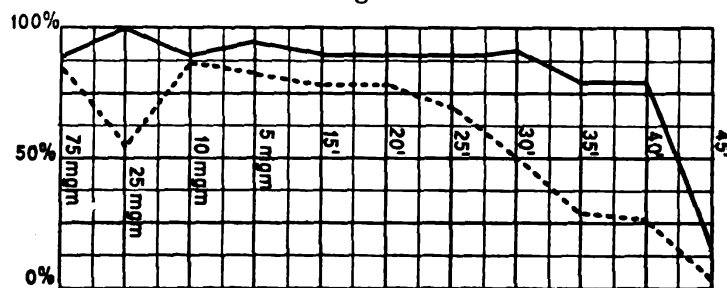
Fig. 18.



Zahl der angehenden und definitiv wachsenden, 40 Minuten lang erwärmten zweiten Tumoren nach erster Inokulation mit verschieden lang erwärmtem Material. Siehe Erklärung zu Fig. 15.

stellten wir fest, daß nicht erwärmter, sowie 20 und 25 Minuten lang erwärmter erster Tumor das Wachstum des zweiten, 40 Minuten lang erwärmten Tumors fast ganz verhindert. Fig. 18 veranschaulicht diesen Befund. Zugleich zeigt diese Figur, daß ein erster, 25 Minuten lang erwärmter Tumor weniger stark präventiv wirkt als ein unerwärmter oder 20 Minuten lang erwärmter erster Tumor. Während die beiden

Fig. 19.



Zahl der angehenden (kontinuierliche Linie) und definitiv wachsenden (punktierete Linie) Tumoren in Kontrolltumoren, die nur einmal inokuliert worden waren.

Auf der Abszisse sind die verschiedenen Quantitäten nicht erwärmten Tumormaterials und die verschiedenen Zeiten des Erwärmsens der 75 mg Tumormaterials, das bei der Inokulation benutzt wurde, aufgetragen. Die Ordinaten stellen die Zahl der angehenden und definitiv wachsenden Tumoren in Prozenten der inokulierten Tiere dar.

letzteren das Angehen des zweiten Tumors völlig verhindern, geht nach Inokulation von 25 Minuten lang erwärmtem Material zuerst eine gewisse Zahl von Tumoren an; dieselben bilden sich sodann aber alle zurück. Wir finden hier also eine quantitativ fein abgestufte Wirkung der Tumoren.

Auch bei Prüfung der Wachstumsenergie der Tumoren fanden wir, daß oft die Wachstumsenergie der zweiten Tumoren verstärkt wurde, falls eine erste Inokulation mit stark abgeschwächtem Material voran-

gegangen war. Auf der anderen Seite fanden wir, daß virulente erste Tumoren die Wachstumsenergie der zweiten Tumoren in vielen Fällen herabsetzten.

Wir untersuchten bisher den Einfluß der Doppelimpfungen auf die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren, indem wir in der Hauptsache den Prozentsatz der wachsenden Tumoren bei Kontrolltieren auf der einen und bei allen doppelt geimpften Tumoren auf der anderen Seite in toto verglichen. Wir fanden aber schon Hinweise darauf, daß auch hier verschieden stark virulente Tumoren eine ganz verschiedene Einwirkung aufeinander ausüben können. Näheren Aufschluß hierüber geben uns Tabellen 5–9.

1) Erste Inokulation mit 75 mg nicht erwärmten, zweite Inokulation mit 75–5 mg nicht erwärmten Materials (Abt. a, b, c und d, Tabelle 5). Wir können auf Grund dieser Zusammenstellung folgende Schlußfolgerungen ziehen: In der großen Mehrzahl der Fälle findet ein Wachstum beider Tumoren statt. In einigen wenigen Fällen wächst der zweite Tumor nicht, obwohl der erste Tumor wuchs. In den Fällen, in denen der erste Tumor nicht wächst, wächst auch der zweite Tumor nicht. In den Fällen, in denen der erste Tumor sich zurückbildet, bildet sich der zweite Tumor ebenfalls zurück, oder er geht von vornherein nicht an. Die Tatsache, daß in einigen Fällen der erste Tumor wächst, während der zweite Tumor nicht wächst oder daß der zweite Tumor überhaupt nicht angeht in Fällen, in denen der erste Tumor sich zurückbildet, beweist, daß das Wachstum des ersten Tumors auf das des zweiten einen schädlichen Einfluß ausübt; hierdurch wird bewirkt, daß nicht nur die Zahl der definitiv wachsenden Tumoren bei der zweiten Inokulation geringer wird, sondern daß auch die Zahl der zweiten angehenden Tumoren geringer werden kann.

Vergleichen wir Abteilung b (Tabelle 5) einerseits und Abteilungen a, c und d andererseits, und den absteigenden Verlauf der Kurven auf Fig. 8 und 14 (Inokulation mit 25 mg), so ergibt sich, daß gewisse Variationen, wie sie in den Kurven der Figuren 9 bis 18 sichtbar sind, auf zufälligen Umständen, zum Teil wohl auf einer größeren Resistenz der Mäuse beruhen. Daher zeigen die Kurven der ersten und zweiten Tumoren einen parallelen Verlauf. Diese Schwankungen in der Resistenz der Mäuse bedingen auch die Variationen in der Zahl der angehenden und sich zurückbildenden ersten Tumoren. Durch das Wachstum des ersten Tumors war dann diese Resistenz noch verstärkt worden, so daß die Rückbildung des ersten Tumors erfolgen kann. In solchen Fällen wird dann zuweilen die Resistenz so verstärkt, daß der zweite Tumor überhaupt nicht angeht.

2) Erste Inokulation mit nicht erwärmtem, zweite Inokulation mit 20 Minuten lang erwärmtem (Abt. e, Tabelle 5) oder 25, 30 und 35 Minuten lang erwärmtem Material (Abt. f, Tabelle 5).

Hier ist es von Interesse, daß in 11 Tieren die zweiten, 35 Minuten lang erwärmten Tumoren nicht angingen, obwohl die ersten Tumoren wuchsen. In ähnlicher Weise fanden wir, daß in einer Anzahl von Fällen die zweiten, 30 Minuten lang erwärmten Tumoren nicht angingen, obwohl die ersten Tumoren wuchsen, während in anderen ähnlichen Fällen die zweiten Tumoren sich zurückbildeten.

Der zweite 35 Minuten lang erwärmte Tumor wuchs gewöhnlich nicht, falls eine Inokulation mit nicht erwärmtem Tumor vorausgegangen war; in 2 Mäusen wuchsen jedoch die zweiten, 35 Minuten lang er-

Tabelle 5.
Vergleich der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren in den einzelnen Tieren,
falls der erste Tumor nicht erwärmt war.

| Zahl der Mäuse | | I. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------------------|----|-----------------------------------|----|-----------------------------------|----|----------------------------------|----|---------------------------|--|
| Versuche | | a) II. Tumor, 75 mg nicht erwärmt | | b) II. Tumor, 25 mg nicht erwärmt | | c) II. Tumor, 10 mg nicht erwärmt | | d) II. Tumor, 5 mg nicht erwärmt | | e) II. Tumor, 20' erwärmt | |
| I. Tumor wuchs | bildete sich zurück | 27 | 2 | 31 | 3 | 10 | 1 | 38 | 3 | 12 | |
| " | wuchs längere Zeit | 23 | 3 | 19 | 8 | 7 | 3 | 36 | 7 | 1 | |
| " | " | 21 | 3 | 11 | 8 | 3 | 3 | 27 | 7 | 11 | |
| " | " | 19 | 0 | 11 | 11 | 5 | 5 | 24 | 27 | 1 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24 | 8 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 1 | 1 | 7 | 7 | 0 | 0 | 7 | 7 | 0 | |
| " | " | 2 | 0 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 1 | 1 | 4 | 4 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | |
| I. Tumor, 75 mg nicht erwärmt: | | 68 | 37 | 58 | 5 | 107 | 10 | 56 | 4 | 68 | |
| Zahl der Mäuse | | 68 | 37 | 58 | 5 | 107 | 10 | 56 | 4 | 68 | |
| Versuche | | 68 | 37 | 58 | 5 | 107 | 10 | 56 | 4 | 68 | |
| I. Tumor wuchs | bildete sich zurück | 6 | 3 | 5 | 42 | 10 | 10 | 4 | 4 | 5 | |
| " | wuchs längere Zeit | 45 | 27 | 7 | 14 | 69 | 27 | 47 | 7 | 49 | |
| " | " | 19 | 7 | 19 | 14 | 27 | 27 | 7 | 7 | 16 | |
| " | " | 32 | 19 | 29 | 29 | 48 | 48 | 21 | 21 | 30 | |
| " | " | 21 | 6 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | |
| " | " | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 11 | 7 | 27 | 27 | 48 | 48 | 21 | 21 | 27 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 16 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | |
| " | " | 3 | 0 | 14 | 14 | 27 | 27 | 7 | 7 | 0 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | 4 | 4 | 2 | 2 | 11 | 11 | 2 | 2 | 3 | |
| II. Tumor wuchs | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| bildete sich zurück | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| wuchs | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| bildete sich zurück | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| wuchs nicht | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| bildete sich zurück | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| wuchs nicht; II. Tumor wuchs | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| bildete sich zurück | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |
| wuchs nicht | | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | 19 | |

f) II. Tumor, II. Tumor, II. Tumor, g) II. Tumor, II. Tumor, II. Tumor, 40' erwärmt (1 Stück) 40' erwärmt (2 Stücke) 40' erwärmt (3 Stücke)

wärmten Tumoren neben den ersten, nicht erwärmten Tumoren. Allerdings wuchsen die erwärmten Tumoren viel langsamer als die Kontrolltumoren.

Auch die zweiten, 40 Minuten lang erwärmten Tumoren wuchsen nur ausnahmsweise, nämlich in 3 Mäusen, in denen gleichzeitig 3 erwärmte Stücke bei der zweiten Inokulation eingeführt worden waren. In allen diesen Fällen wuchsen der erste sowohl wie der zweite Tumor.

3) Tabelle 6 zeigt das Verhalten von Tieren, die erst mit 20 Minuten lang erwärmtem Material und sodann bei der zweiten Inokulation mit 25, 30, 35 und 40 Minuten lang erwärmtem Material geimpft worden waren.

Natürlich wuchsen in diesen Fällen die zweiten Tumoren entsprechend der Abschwächung durch die Erwärmung ebenso wie die Kontrolltumoren mit abnehmender Häufigkeit. Von Interesse ist nun die Tatsache, daß auch in diesen Versuchen die zweiten Tumoren nur in den Tieren wuchsen, in denen auch die ersten Tumoren wuchsen, wie wir dies auch fanden, falls die ersten Tumoren nicht erwärmt waren. Nur in einem Falle fanden wir, daß ein 35 Minuten lang erwärmter zweiter Tumor in einem Tiere wuchs, in dem der erste Tumor nicht anging, ein Verhalten, wie wir dies später unter gewissen Verhältnissen als typisch finden werden.

Wir stellen ferner die Tatsache fest, daß, je stärker der zweite Tumor erwärmt war, desto größer die Zahl derjenigen zweiten Tumoren wurde, die, falls der erste Tumor sich zurückbildete, von vornherein nicht angingen, während weniger erwärmte zweite Tumoren unter diesen Umständen in größerer Zahl angingen, sich dann aber zurückbildeten. Auch hier findet ebenso wie bei den zweiten Tumoren, die auf eine erste Inokulation mit nicht erwärmtem Material folgten, ein Wachstum der zweiten Tumoren nicht statt, falls sich die ersten Tumoren zurückbildeten.

4) Erste Inokulation mit 25 Minuten lang erwärmtem Material (Tabelle 7). Auch hier wächst durchweg der zweite Tumor nur in Fällen, in denen auch der erste 25 Minuten lang erwärmte Tumor wuchs. Je länger der zweite Tumor erwärmt war, desto größer war die Zahl der Tiere, in denen der erste Tumor wuchs, während der zweite nicht anging oder sich zurückbildete.

5) Erste Inokulation mit 30 Minuten lang erwärmtem Material (Tabelle 8). Hier finden wir wieder ähnliche Beziehungen der beiden Tumoren zueinander. Je länger der zweite Tumor erwärmt worden war, in einer desto größeren Zahl von Fällen unterbleibt sein Wachstum in Tieren, in denen der erste Tumor wuchs; in anderen Fällen, besonders bei geringeren Graden der Erwärmung, z. B. 30 Minuten langer Erwärmung des zweiten Tumors, bildete sich der zweite Tumor zurück, während der erste wuchs. Bei höheren Graden der Erwärmung des zweiten Tumors kam es dann überhaupt nicht mehr zum Angen des zweiten Tumors. Wo der zweite Tumor wuchs, wuchs gewöhnlich auch der erste Tumor. Bemerkenswert ist aber die Tatsache, daß je einmal ein 30 und ein 35 Minuten lang erwärmter zweiter Tumor wuchs in Fällen, wo der erste, 30 Minuten lang erwärmte Tumor sich zurückbildete. Es hat offenbar viel weniger Bedeutung, falls ein abgeschwächter Tumor, als wenn ein vollvirulenter Tumor sich zurückbildet. In letzterem Falle ist das Tier viel stärker immun als im ersteren Falle. Es ist also nicht die Resorption von Tumormaterial an sich, die zur

Tabelle 6.

Vergleich der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren in den einzelnen Tieren, falls der erste Tumor 20 Minuten lang erwärmt war.

| Zahl der Mäuse " " Versuche I. Tumor wuchs: " bildete sich zurück: " wuchs längere Zeit " " " " " " " " " " " " " bildete sich zurück: " " " " " " " " " wuchs nicht: " " " " | I. Tumor, 20' erwärmt | | II. Tumor, 25' erwärmt | | II. Tumor, 30' erwärmt | | II. Tumor, 35' erwärmt | | II. Tumor, 40' erwärmt | |
|---|-----------------------|------------------------|------------------------|----|------------------------|----|------------------------|--|------------------------|--|
| | | | | | | | | | | |
| | | | 24 | 22 | 27 | 12 | | | | |
| | | | 2 | 2 | 2 | 1 | | | | |
| | | | 17 | 15 | 17 | 9 | | | | |
| | | | 6 | 6 | 9 | 2 | | | | |
| | | | 17 | 15 | 17 | 9 | | | | |
| | | | 13 | 7 | 5 | 0 | | | | |
| | | II. Tumor wuchs | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | " bildete sich zurück | 4 | 8 | 12 | 9 | | | | |
| | | " wuchs nicht | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | " wuchs | 5 | 4 | 4 | 0 | | | | |
| | | " bildete sich zurück: | 1 | 2 | 5 | 2 | | | | |
| | | " " " | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | " wuchs nicht: | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | " " " | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | " " " | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | |

Tabelle 7.

Vergleich der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren in den einzelnen Tieren, falls der erste Tumor 21 Minuten lang erwärmt worden war.

| Zahl der Mäuse " " Versuche I. Tumor wuchs: " bildete sich zurück: " wuchs: " " " " " bildete sich zurück: " " " " " wuchs nicht: " " " " | I. Tumor, 25' erwärmt | | II. Tumor, 30' erwärmt | | II. Tumor, 35' erwärmt | | II. Tumor, 40' erwärmt | |
|--|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------|------------------------|----|------------------------|--|
| | | | | | | | | |
| | | | 28 | 28 | 26 | 32 | | |
| | | | 2 | 2 | 2 | 3 | | |
| | | | 19 | 18 ¹⁾ | 21 | 22 | | |
| | | | 5 | 8 | 3 | 7 | | |
| | | II. Tumor wuchs | 17 | 13 | 14 | 0 | | |
| | | " bildete sich zurück | 1 | 3 | 4 | 0 | | |
| | | " wuchs nicht | 1 | 0 | 3 | 0 | | |
| | | " wuchs | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | " bildete sich zurück: | 1 | 7 | 2 | 0 | | |
| | | " " " | 4 | 1 | 1 | 7 | | |
| | | " wuchs nicht: | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | " " " | 1 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | " " " | 3 | 2 | 2 | 3 | | |

1) 2 dieser Mäuse starben so früh, daß das Schicksal der zweiten Tumoren nicht festgestellt werden konnte.

Tabelle 8.

Vergleich der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren in den einzelnen Tieren, falls der erste Tumor 30 Minuten lang erwärmt worden war.

| I. Tumor, 30' erwärmt: | II. Tumor, 30' erwärmt | II. Tumor, 35' erwärmt | II. Tumor, 40' erwärmt |
|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Zahl der Mäuse | 21 | 24 | 19 |
| I. " Tumor wuchs | 2 | 2 | 2 |
| I. " bildete sich zurück | 17 | 15 | 16 |
| I. " wuchs: | 4 | 6 | 2 |
| I. " " | 5 | 7 | 4 |
| I. " bildete sich zurück: | 5 | 1 | 0 |
| I. " " | 7 | 7 | 12 |
| I. " " | 1 | 1 | 0 |
| I. " " | 2 | 2 | 0 |
| I. " wuchs nicht: | 1 | 3 | 2 |
| I. " " | 0 | 0 | 0 |
| I. " " | 0 | 0 | 0 |
| I. " " | 0 | 3 | 1 |
| II. Tumor wuchs | | | |
| II. " bildete sich zurück | | | |
| II. " wuchs nicht | | | |
| II. " wuchs | | | |
| II. " bildete sich zurück | | | |
| II. " wuchs nicht | | | |
| II. " wuchs | | | |
| II. " bildete sich zurück | | | |
| II. " wuchs nicht | | | |

Tabelle 9.

Vergleich der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren in den einzelnen Tieren, falls der erste Tumor 35 Minuten lang erwärmt worden war.

| I. Tumor, 35' erwärmt: | II. Tumor, 25' erwärmt | II. Tumor, 30' erwärmt | II. Tumor, 35' erwärmt | II. Tumor, 40' erwärmt |
|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Zahl der Mäuse | 23 | 12 | 24 | 37 |
| I. " Tumor wuchs | 2 | 1 | 2 | 4 |
| I. " bildete sich zurück | 14 | 10 | 6 | 9 |
| I. " wuchs: | 5 | 0 | 8 | 13 |
| I. " " | 8 | 9 | 2 | 0 |
| I. " bildete sich zurück: | 4 | 0 | 2 | 1 |
| I. " " | 2 | 1 | 2 | 8 |
| I. " " | 1 | 0 | 5 | 0 |
| I. " wuchs nicht: | 2 | 0 | 2 | 3 |
| I. " " | 2 | 0 | 1 | 10 |
| I. " " | 0 | 1 | 2 | 7 |
| I. " " | 1 | 1 | 2 | 7 |
| I. " " | 3 | 1 | 6 | 1 |
| II. Tumor wuchs | | | | |
| II. " bildete sich zurück | | | | |
| II. " wuchs nicht | | | | |
| II. " wuchs | | | | |
| II. " bildete sich zurück | | | | |
| II. " wuchs nicht | | | | |
| II. " wuchs | | | | |
| II. " bildete sich zurück | | | | |
| II. " wuchs nicht | | | | |

Immunisierung führt, sondern wahrscheinlich ist die Rückbildung nur ein Symptom dafür, daß infolge des Wachstums des später sich zurückbildenden Tumors in einem hierzu prädisponierten Tiere (einem Tier mit größerer Resistenz) Immunität eintrat, die zur Rückbildung führte.

Falls die ersten Tumoren 35 und 40 Minuten lang erwärmt worden waren, liegen, wie die Tabellen 9 und 10 zeigen, die Verhältnisse anders. Die zweiten Tumoren wurden in diesen Fällen 25, 30, 35 und 40 Minuten lang erwärmt. Falls die zweiten Tumoren 25 und 30 Minuten lang erwärmt worden waren, wurde das Wachstum des ersten Tumors durch den zweiten Tumor begünstigt, während eine zweite Inokulation mit 35 und 40 Minuten lang erwärmtem Tumor das Wachstum des ersten Tumors eher ungünstig beeinflusste. In dem Wachstum der zweiten Tumoren waren unter diesen Umständen die Unterschiede nicht so markant. Hiermit geht eine zweite Veränderung einher. Falls die zweite Inokulation mit 25 und 30 Minuten lang erwärmtem Material vorgenommen wird, finden wir noch im ganzen dieselben Verhältnisse wie früher, d. h. der zweite Tumor wächst nur in solchen Fällen, wo auch der erste Tumor wächst. Doch finden wir in Tabelle 9 und insbesondere in Tabelle 10, daß in einigen Fällen der zweite Tumor wächst, obwohl der

Tabelle 10.

Vergleich der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren in den einzelnen Tieren, falls der erste Tumor 40 Min. lang erwärmt worden war.

| | | II. Tumor, 25' erwärmt | II. Tumor, 30' erwärmt | II. Tumor, 35' erwärmt | II. Tumor, 40' erwärmt |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| I. Tumor, 40' erwärmt: | | | | | |
| Zahl der Mäuse | | 10 | 11 | 24 | 41 |
| " " Versuche | | 1 | 1 | 2 | 4 |
| I. Tumor wuchs | | 7 | 5 | 5 | 3 |
| I. " bildete sich zurück | | 1 | 3 | 4 | 7 |
| I. " wuchs: | II. Tumor wuchs | 4 | 3 | 4 | 1 |
| I. " " | II. " bildete sich zurück | 1 | 2 | 0 | 2 |
| I. " " | II. " wuchs nicht | 0 | 0 | 1 | 0 |
| I. " bildete sich zurück: | II. " wuchs | 0 | 2 | 2 | 1 |
| I. " " " " | II. " bildete sich zurück | 1 | 1 | 2 | 3 |
| I. " " " " | II. " wuchs nicht | 0 | 0 | 0 | 3 |
| I. " wuchs nicht: | II. " wuchs | 2 | 3 | 9 | 7 |
| I. " " " | II. " bildete sich zurück | 0 | 0 | 5 | 8 |
| I. " " " | II. " wuchs nicht | 2 | 0 | 1 | 16 |

erste Tumor sich zurückbildete oder nicht wuchs. Falls aber der zweite Tumor 35 oder 40 Minuten lang erwärmt worden war, finden wir, daß der zweite Tumor wuchs in Fällen, in denen der erste Tumor nicht wuchs oder sich zurückbildete, während die Fälle, in denen beide Tumoren wuchsen, nur eine kleine Minderzahl bildeten. Ferner findet sich hier eine größere Zahl von Tieren, in denen der erste Tumor nicht anging, während der zweite Tumor anging, sich aber dann zurückbildete, was früher ein seltenes Vorkommnis war.

Natürlich kommen auch hier Fälle vor, wo der zweite Tumor nicht wuchs, während der erste Tumor wuchs; diese Fälle waren aber besonders dann selten, falls auch der erste Tumor 40 Minuten lang erwärmt worden war. Ferner fand sich auch in beiden Reihen eine Anzahl von Tieren,

in denen der erste und zweite Tumor sich entweder zurückbildeten oder nicht angingen. (Vgl. Fig. 12 und 13 mit Fig. 17 und 18.)

Tabelle 11.

Zahl der angehenden, sich rückbildenden und definitiv wachsenden Tumoren bei Kontrolltieren, die nur einmal inokuliert wurden, ferner die Latenzzeit dieser Tumoren bei Inokulation mit verschieden großen Quantitäten nicht oder 15—45 Minuten lang erwärmten Tumormaterials.

| Dauer der Erwärmung | Latenzzeit Tage | Prozentzahl der definitiv wachsenden Tumoren | Prozentzahl der sich rück- bildenden Tumoren | Prozentzahl der an- gehenden Tumoren |
|------------------------|---|---|---|---|
| 45' | Im Durchschnitt 21 Variiert zwischen 18—23 | 5 Proz. | 66 Proz. | 15 Proz. |
| 40' | Im Durchschnitt 14 Variiert zwischen 12—17 | 30 „ | 65 „ | 81 „ |
| 35' | Im Durchschnitt 12 Variiert zwischen 11—14 | 33 „ | 60 „ | 81 „ |
| 30' | Im Durchschnitt 10 Variiert zwischen 8—13 | 50 „ | 45 „ | 92 „ |
| 25' | Im Durchschnitt 8 Variiert zwischen 6—10 | 72 „ | 22 „ | 90 „ |
| 20' | Im Durchschnitt 7 Variiert zwischen 6—9 | 80 „ | 11 „ | 90 „ |
| 15' | Im Durchschnitt 6 Variiert zwischen 5—7 | 80 „ | 11 „ | 90 „ |
| 5 mg nicht erwärmt | Im Durchschnitt $5\frac{1}{2}$ Variiert zwischen 5—7 | 85 „ | 12 „ | 95 „ |
| 10 mg nicht erwärmt | Im Durchschnitt $5\frac{1}{2}$ Variiert zwischen 5—7 | 90 „ | 0 „ | 90 „ |
| 25 mg nicht erwärmt | Im Durchschnitt $5\frac{1}{2}$ Variiert zwischen 5—7 | 56 „ | 44 „ | 100 „ |
| 75 mg nicht erwärmt | Im Durchschnitt $5\frac{1}{2}$ Variiert zwischen 5—7 | 85 „ | 6 „ | 90 „ |

Wir finden also zweierlei Wachstumsarten bei Kombination zweier Tumoren, die nach sukzessiven Inokulationen sich bilden, 1) das simultane und 2) das alternierende Wachstum. Das simultane Wachstum finden wir in der großen Mehrzahl der Fälle; hierbei wachsen die zweiten Tumoren in solchen Tieren, in denen auch die ersten Tumoren wachsen; das alternierende Wachstum finden wir nur in solchen Fällen, in denen beide Tumoren stark abgeschwächt waren. Hierbei wächst gewöhnlich entweder der eine oder der andere der beiden Tumoren in demselben Tier; nur selten wachsen beide Tumoren gleichzeitig in demselben Tier.

Zusammenfassung.

a) Aus den hier mitgeteilten Untersuchungen ergibt sich, daß es möglich ist, die Immunität gegen Tumoren quantitativ zu untersuchen, und daß diese quantitativen Untersuchungen imstande sind, Widersprüche in der Literatur zu erklären; so läßt sich mit Exaktheit feststellen, daß nur, wenn gewisse quantitative Bedingungen erfüllt sind, das Wachstum eines Tumors das eines anderen verhindert; je nach den Tumorkombinationen, die wir wählen, können wir alle verschiedenen Grade der Hemmung beobachten.

b) Wir können 3 Typen in der gegenseitigen Beeinflussung zweier sukzessiv inokulierten Tumoren unterscheiden:

1) Ein virulenter erster Tumor verhindert das Wachstum eines sehr abgeschwächten zweiten Tumors. Ist der zweite Tumor etwas weniger abgeschwächt, so wird nur die Ausbeute und Wachstumsenergie des zweiten Tumors durch den virulenten Tumor verringert.

2) Sind beide Tumoren virulent oder in mittlerem Grade abgeschwächt (20—30 Minuten lange Erwärmung) oder im Falle einer Kombination eines stark (35—40 Minuten lange Erwärmung) und eines im mittleren Grade abgeschwächten Tumors, finden wir den Typus des simultanen Wachstums; ebenso auch bei Kombination eines stark und eines im mittleren Grade abgeschwächten Tumors. In diesem Falle wächst der zweite Tumor nur, wenn der erste Tumor wächst, und falls der erste Tumor sich zurückbildet, bildet sich auch der zweite Tumor zurück oder derselbe geht von vornherein nicht an.

3) Bei Kombination von 2 stark abgeschwächten Tumoren finden wir den Typus des alternierenden Wachstums; der zweite Tumor wächst in Fällen, in denen der erste Tumor nicht angeht oder sich zurückbildet, ein gleichzeitiges Wachstum beider Tumoren in demselben Tiere ist selten.

c) Unsere Versuche machen es sehr wahrscheinlich, daß Tumoren zweierlei Einwirkungen auf das Resultat einer vorangehenden oder nachfolgenden Inokulation ausüben können, nämlich eine begünstigende oder hemmende, je nach der Kombination der Tumoren. Sukzessive Inokulation mit virulentem Material schädigt das Tumorwachstum; ebenso schädigt das Wachstum eines ersten virulenten Tumors das Wachstum eines zweiten abgeschwächten Tumors; ein zweiter stark abgeschwächter Tumor scheint das Wachstum eines ersten stark abgeschwächten Tumors ungünstig zu beeinflussen. Ein erster stark abgeschwächter begünstigte in unseren Versuchen das Wachstum eines zweiten stark abgeschwächten Tumors. Ebenso scheint ein im mittlerem Grade abgeschwächter Tumor durch das Wachstum eines stark abgeschwächten Tumors in manchen Fällen gefördert zu werden. Es wird fortgesetzten Untersuchungen vorbehalten bleiben müssen, festzustellen, ob dieser fördernde und unter Umständen hemmende Einfluß, den wir beobachteten, auf zufälligen Variablen beruht oder ob dieser Zusammenhang ein kausaler ist.

Die unter c) festgestellten Befunde werden daher vorläufig nur bedingungsweise mitgeteilt.

d) Aus unseren Versuchen ergibt sich, daß die mit der Rückbildung der Tumoren verbundene Immunität gegen das Wachstum eines anderen Tumors verschieden ist, je nach der Abschwächung, die der sich zurückbildende Tumor vor der Inokulation erfahren hatte. Die Immunität, die mit der Rückbildung abgeschwächter Tumoren verbunden ist, ist geringer als die mit der Rückbildung virulenter Tumoren verbundene. Es ist naheliegend anzunehmen, daß die Rückbildung nur ein Zeichen der infolge des Tumorwachstums in schon vorher etwas resistenteren Tieren eingetretenen Immunität darstellt.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die bakteriziden und antiparasitären Eigenschaften des Phosgens (COCl_2).

[Aus dem Nicolaischen Marinehospital in Kronstadt (Leitender Arzt Ezz. Issaieff).]

Von Dr. Semibratoff.

Prof. Chlopin (Wratschebnaja Gazeta. 1910. No. 48) hat zur Vernichtung der Ratten die Anwendung von chlorsaurem Kohlenstoff oder Phosgen vorgeschlagen. Zu gleicher Zeit hat er die Hoffnung ausgesprochen, daß wir in dem Phosgen vielleicht auch ein gutes Desinficiens finden werden.

Wie bekannt, bildet sich das Phosgen bei Einwirkung der Sonnenstrahlen auf Kohlenoxyd (CO) und Chlor. Es gibt auch noch andere Methoden zur Gewinnung des Phosgens; letzteres bildet sich z. B., wenn man eine Mischung von Kohlensäure (CO_2) und Chlor glühende Kohlen passieren läßt. PCl_2 und AgCl geben, wenn man sie in einem Strom von CO erglühen läßt, teilweise auch Phosgen. Chloroform (CHCl_3) verwandelt sich bei Erwärmung mit $\text{SO}_2(\text{OH})\text{Cl}$ auch in COCl_2 .

Phosgen ist ein farbloses Gas von erstickendem Geruch, das eine starke Reizung der Augen, der Kehle und der Nase hervorruft; in letzterer kommt es bis zum vollständigen, natürlich vorübergehenden, Verluste des Geruchssinnes.

Bei Abkühlung verwandelt sich das Phosgen in eine Flüssigkeit, deren spezifisches Gewicht 1,43 beträgt und die bei 8°C kocht. Das Phosgen ist $3\frac{1}{2}$ mal schwerer als die Luft, löst sich leicht in Benzol, Essigsäure und einigen anderen Kohlenwasserstoffen.

Das Wasser absorbiert 2 Volumeinheiten des Phosgens, zerlegt es aber auch sofort in Kohlensäure und Salzsäure. Mit Ammoniak ergibt das Phosgen Harnstoff und NH_4Cl : mit Anilin Carbamid. Auf diese Weise kann Phosgen durch Ammoniak oder Anilin neutralisiert werden.

Ungeachtet dessen, daß das Phosgen in der technischen Industrie eine ziemlich weite Verbreitung gefunden hat (es wird zur Bereitung von einigen pharmazeutischen Präparaten, u. a. Duotal, Kreosotal, Euchinin, Hedonal sowohl wie bei der Fabrikation einer ganzen Reihe von Farben: Viktoriablau, Nachtblau usw. benutzt), ist sein Preis sehr hoch. 1 Kilo 20-proz. Lösung von Phosgen in Toluol kostet in Berlin bei Kahlbäum 8 M.

Ich habe bei meinen Experimenten die 20-proz. Lösung von Phosgen in Toluol benutzt und die Berechnungen dabei auf reines Gas gemacht.

Vorher habe ich folgende Untersuchungen ausgeführt:

I.

In 5 sterile Petri-Schalen wurden je 2 ccm Phosgen gegossen und in letzteres Seidenfäden eingetaucht, die mit Sporen des Milzbrandbacillus, mit diesen Bacillen selbst, mit Cholera- und Typhusstäbchen und mit *Staph. aureus* infiziert waren.

Die Seidenfäden blieben 12 Stunden bei einer Temperatur von 18°C im Phosgen, wurden darauf in steriler Ammoniaklösung ausgewaschen und auf Bouillon ausgesät. Im Laufe von 3 Wochen konnte in keinem der Reagenzgläser irgendein Wachstum beobachtet werden. Die Kontrollseidenfäden waren schon nach 12 Stunden ausgewachsen, mit Ausnahme der Milzbrandbacillensporen, die erst nach 24 Stunden auswuchsen.

Auf diese Weise sehen wir, daß eine 20-proz. Lösung von Phosgen in Toluol per se auf die obengenannten Mikroorganismen vollständig bakterizid wirkt.

II.

Die Untersuchung wurde unter den gleichen Bedingungen ausgeführt, nur wurde statt der 20-proz. eine 10-proz. Lösung des Phosgens benutzt. Nach 2 Tagen war *Bac. typhi* abd. ausgewachsen, nach 4 Tagen alle Keime.

Folglich genügte die 10-proz. Lösung des Phosgens nur dazu, das Wachstum der Mikroorganismen in einem gewissen Maße aufzuhalten.

III.

Diese Untersuchung wurde auch unter denselben Bedingungen ausgeführt, dabei aber eine 5-proz. Lösung des Phosgens angewendet.

Nach 24 Stunden waren alle Keime ausgewachsen, mit Ausnahme der Milzbrandbacillensporen, die nach 48 Stunden auswachsen.

Folglich kann eine 5-proz. Phosgenlösung das Wachstum der zum Versuch benutzten Mikroorganismen nicht einmal aufhalten.

Die übrigen Experimente wurden auf folgende Weise ausgeführt:

In einem vollständig hermetisch verschließbaren Kasten von 1 cbm Inhalt wurden verschiedene Quantitäten einer 20-proz. Lösung des Phosgens verpulvert. In den Kasten wurden Ratten, Schwaben, Wanzen, Seidenfäden, die mit den obengenannten Mikroorganismen infiziert waren, und Bouillonkulturen derselben Mikroorganismen untergebracht. Die Ratten befanden sich in Drahtkäfigen, die Wanzen und Schwaben in Reagenzgläsern, die teilweise mit Marly bedeckt, teilweise mit dichten Wattepfropfen verschlossen waren. Die Seidenfäden lagen in Reagenzgläsern, die auf dem Boden des Kastens und in seinem oberen Teile angebracht waren. Die Reagenzgläser erhielten eine fast ganz horizontale Lage, damit die Objekte der Untersuchung der Einwirkung des Gases in Anbetracht seiner Schwere zugänglicher wären. Nach Verlauf eines bestimmten Zeitraums wurden in dem Kasten zwecks der Neutralisation ebensoviel Kubikzentimeter Ammoniaklösung wie Phosgen verdunstet.

Sodann wurden unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln die Seidenfäden in Bouillon gebracht und die Bouillonkulturen umgesät. Gleichzeitig wurde die Sterilität der zur Infizierung benutzten Seidenfäden und die infizierten Seidenfäden kontrolliert. Alle nach dem Experiment ausgewachsenen Kulturen wurden jedesmal mikroskopisch untersucht behufs Feststellung, daß nur die Mikroorganismen, die zur Infizierung der Seidenfäden benutzt wurden, vorhanden waren.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind aus folgender Tabelle zu ersehen.

| No. der Experimente nach der Reihe | Menge d. Toluolphosgens auf den Kubikmeter | Menge des reinen Gases in Gramm auf 1 cbm | Konzentration des Gases in Proz. | Durchschnittstemperatur | Dauer des Experimentes | B. anthracis | Vibrio cholerae as. | B. typhi abdominalis | Staphylococcus aureus | Sporen des Milzbrandbac. | Die Ratten starben nach | Die Schwaben | | Die Wanzen | |
|------------------------------------|--|---|----------------------------------|-------------------------|------------------------|--------------|---------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| | | | | | | | | | | | | in den offenen Reagenzgläsern | in d. verschlossenen Reagenzgläsern | in den offenen Reagenzgläsern | in d. verschlossenen Reagenzgläsern |
| IV | 10 ccm | 1,87 | 0,045 | | 12 Std. | + | | + | + | | 60—90 M. | + | — | + | — |
| V | 25 " | 4,675 | 0,113 | | 12 " | + | | + | + | | | + | — | + | — |
| VI | 50 " | 9,350 | 0,225 | | 12 " | + | | + | + | + | 60 Min. | + | — | + | — |
| VII | 100 " | 18,71 | 0,450 | | 15 " | + | | + | + | + | 45 " | + | — | + | — |
| VIII | 200 " | 37,42 | 0,9 | | 18 " | + | + | + | + | + | 30 " | + | — | + | — |
| IX | 225 " | 42,0 | 1,017 | | 24 " | + | + | + | + | + | 30 " | + | — | + | — |
| X | 5 ccm auf 2400 ccm | 0,935 | 9,4 | | 24 " | + | + | + | + | + | 8 " | + | — | + | — |

Anmerkungen. Das letzte (X.) Experiment wurde unter einer Glasglocke von 2400 ccm Inhalt ausgeführt, weil zur Erhaltung einer Konzentration des Gases von 9,4 Proz. in einem Kasten von einem Kubikmeter Inhalt 2 kg der 20-proz. Lösung des Phosgens hätten verbraucht werden müssen. — + bedeutet Wachstum der Kultur; — das Ausbleiben des Wachstums; das Kreuz † in den Spalten „Schwaben“ und „Wanzen“ bedeutet ihr Absterben; — daß sie leben. — Die Experimente IV und V wurden ohne Sporen des Milzbrandbacillus ausgeführt, die Experimente IV, V, VI, VII ohne Cholera vibrionen.

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß das Phosgen auf die Ratten ziemlich schnell und sicher einwirkt. Bei einer Konzentration von 0,05—1 Proz. verendeten sie im Laufe von 90—30 Minuten; bei einer Konzentration von 9 Proz. genügten 8 Minuten, um sie zu töten.

In letzterem Falle konnte man schon nach 2 Minuten sehen, wie das Tier krampfhaft nach Luft schnappte, in die Höhe sprang und dann auf die Seite fiel; darauf folgten allgemeine Krämpfe und der Tod.

Die Schwaben und Wanzen blieben am Leben oder verendeten, je nachdem die Reagenzgläser mit Marly bedekt oder mit Wattebäuschen verschlossen waren. In letzterem Falle blieben die Wanzen und Schwaben, trotz der langen Dauer des Experimentes — bis zu 24 Stunden — am Leben, was darauf hinweist, daß das Phosgen die Fähigkeit, in die Tiefe einzudringen, nur in geringem Grade besitzt. Was die bakteriziden Eigenschaften des Phosgens anbetrifft, so äußerten sich letztere bei unseren Experimenten, d. h. bei Verwendung des Phosgens in 20-proz. Lösung in Toluol, erst bei Konzentrationen, die 10 Proz. überstiegen.

Wenn aber das Phosgen auch gewisse bakterizide Eigenschaften bei schwachen Konzentrationen des Gases besitzen würde, wäre seine Anwendung praktisch doch aus zwei Gründen unmöglich: 1) infolge seines hohen Preises, 2) infolge seiner höchst schädlichen Wirkung auf den Organismus des Menschen. Nehmen wir an, daß das Phosgen schon in einer Konzentration von 1 Proz. vollständig bakterizid wirkt; so wären selbst in diesem Falle zur Desinfektion von 1 cbm 40,0 des Gases (kostet 50 Pfennig) erforderlich. Und das im Experiment, in einem fast hermetischen Raume, wo der Verlust an Gas äußerst gering ist. Was würde die Desinfektion 1 cbm in irgendeinem Kellerraume kosten?

Der zweite Grund der Unanwendbarkeit des Phosgens zur Desinfektion ist, wie gesagt, seine Giftigkeit. Selbst bei Anwesenheit von geringen Mengen des Phosgens in der Luft treten beim Menschen starke Kopfschmerzen, Tränen der Augen und Reizung der Atmungswege ein.

R. Müller (Zeitschr. f. angew. Chemie, 12. Aug. 1910) weist auf einen ganzen Symptomenkomplex der Vergiftung durch Phosgen hin. Er hatte die Möglichkeit, drei Arbeiter zu beobachten, die infolge von Unvorsichtigkeit Phosgen eingeatmet hatten. Bei allen dreien traten ein und dieselben krankhaften Erscheinungen auf, die sich in starkem Husten, Auswurf, Atemnot, Herzklopfen, in dem Gefühl einer allgemeinen Abgeschlagenheit und in der Unfähigkeit zur Arbeit äußerten.

Bei der objektiven Untersuchung wurde außer einem verbreiteten Bronchialkatarrh folgendes vorgefunden: Der Durchmesser des Herzens war auch rechts vergrößert, an der Spitze des Herzens und über den Herzklappen ließ sich ein systolisches Geräusch vernehmen; der Puls war klein und matt. Die Leber und die Milz war bei zweien von den drei Arbeitern vergrößert. Alle diese drei Fälle hatten schwere Folgen: Bei einem der drei Arbeiter entwickelte sich eine chronische Lungenentzündung, bei dem zweiten chronische Nephritis; bei dem dritten sehr starke Neurasthenie.

R. Müller hat Ratten seziiert, die im Laufe eines bestimmten Zeitraumes mit Phosgen vermischte Luft eingeatmet hatten, und dabei, außer Ueberfüllung aller Organe mit Blut, Vergrößerung und Amyloid der Leber und starke Veränderung in den Lungen, die bis zur Zerreißung der Lungenalveolen gingen, vorgefunden.

Bei der Sektion der Ratten, die bei meinen Untersuchungen umgekommen waren, habe ich alles, was R. Müller beschrieben hat, vor-

gefunden, mit Ausnahme der Veränderungen in den Lungen. Vielleicht hing das davon ab, daß die Vergiftung der Ratten durch Phosgen bei R. Müller langsam vor sich ging, indes ich es mit einer akuten Vergiftung zu tun hatte.

Auf Grund alles oben Auseinandergesetzten glaube ich, daß wenn das Phosgen auch in Konzentrationen, die 10 Proz. übersteigen, einige bakterizide Eigenschaften äußert, und wenn es auch selbst in schwachen Konzentrationen Nagetiere tötet, es doch weder zur Desinfektion noch zur Deratisation praktische Anwendung finden kann.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Agglutinations-, Komplementbindungs- methode und Conjunctivalprobe für die Diagnose des Rotzes.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelm-Instituts
in Bromberg (Vorsteher: Prof. Dr. Miessner).]

Von Prof. Dr. H. Miessner¹⁾.

Mit 6 Figuren.

I.

**Die Beziehungen zwischen den Agglutinations- bzw. Bindungswerten
und den Ergebnissen der Zerlegung rotzverdächtiger Pferde, sowie
die daraus sich ergebenden Schlußfolgerungen.**

1. 12 rotzige Pferde aus Wilhelmshöh (Angerburg).

Am 9. Dez. 1911 gelangten auf dem Gute Wilhelmshöh 12 rotzverdächtige Pferde zur Zerlegung. Aus den im Anhang befindlichen Zerlegungsberichten geht hervor, daß diese Pferde, welche auf Grund des Ergebnisses der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion als rotzverdächtig zu bezeichnen waren, sich bei der Zerlegung auch tatsächlich als rotzig erwiesen hatten. Hierbei war der Befund beim Pferd W. 36 deswegen besonders beachtenswert, weil nur außerordentlich geringe rotzige Veränderungen vorlagen. Das Serum des Pferdes hatte einen Agglutinationswert von 1500 und einen Bindungswert von 0,01. Hiernach mußte das Pferd zweifellos als rotzig gelten. Trotzdem gelang es bei oberflächlicher Untersuchung der Organe nicht, irgendwelche rotzigen Veränderungen zu ermitteln, so daß wahrscheinlich unter gewöhnlichen Verhältnissen ein solches Pferd für rotzfrei erklärt worden wäre. Erst nach langer, peinlichster Untersuchung der im Kehlgange und an der Lungenwurzel gelegenen Lymphknoten gelang es, in zwei derselben kleine rotzige Zerfallsherde nachzuweisen. Es wird hierdurch bewiesen, worauf ich schon des öfteren Gelegenheit hatte, aufmerksam zu machen, wie schwierig es unter Umständen sein kann, beim Vorhandensein nur weniger rotziger Veränderungen diese bei den ortsüblichen Obduktionen festzustellen, was leicht zur Vortäuschung von Fehldiagnosen Anlaß geben kann.

Vergleicht man die Höhe der Agglutinations- und Bindungswerte der Sera mit den Zerlegungsberichten der dazu gehörigen Pferde, so

¹⁾ Nach 4 Ministerialberichten, welche in der Zeit vom 15. Dez. bis 25. Febr. abgeliefert worden sind.

ergibt sich eine völlige Uebereinstimmung zwischen beiden insofern, als bei hohen Agglutinations- bzw. Bindungswerten auch die rotzigen Veränderungen der betr. Pferde frischer Natur waren. Ich verweise insbesondere auf die Pferde W. 20, 27, 29, 30, 31, 34 und 36 (vgl. Tabelle 7).

Beim Pferde W. 24 mit einem Agglutinationswert von 800 und einem Bindungswerte von 0,2—0,3 lagen bereits chronische Veränderungen in den Lungen vor. Es hatte also bei diesem Pferde der Rotz längere Zeit bestanden, infolgedessen war eine Verminderung der Reaktionskörper im Blute nachzuweisen, worauf die niedrigen Agglutinations- und Bindungswerte zu beziehen waren.

Bei dem Pferde W. 21 mit einem Agglutinationswerte von 500 und einem Bindungswerte von 0,4 partiell und dem Pferde W. 28 mit einem Agglutinationswerte von 800 und einem Bindungswerte von 0,4 partiell bestanden einwandfrei nachzuweisende, ganz frische Veränderungen, aus denen zu schließen war, daß die Rotzkrankheit bei der ersten Blutentnahme erst kurze Zeit bestanden haben mußte und infolgedessen die Anzahl der im Blute vorhandenen Reaktionskörper nur gering war. Damit stimmte überein, daß der Agglutinations- und Bindungswert bei den zweiten und dritten 11 bzw. 14 Tage nach der ersten folgenden Blutentnahme bedeutend gestiegen waren (vgl. Tabelle 7).

Ebenso einwandfrei konnten bei dem Pferde W. 4 des Verzeichnisses (Tab. 7), dessen Serum bei der ersten Blutentnahme noch gar keine Reaktion zeigte, bei der 11 Tage später erfolgenden zweiten Blutentnahme aber bereits einen Agglutinationswert von 1000 und einen Bindungswert von 0,1 aufwies, ganz frische rotzige Veränderungen nachgewiesen werden, deren Bestehen sich auf wenige Tage zurückdatieren ließ.

Die Pferde W. 34 und 36 zeigten nur äußerst geringfügige rotzige Veränderungen, woraus gleichzeitig geschlossen werden muß, daß die Ausdehnung des Rotzes keineswegs im Einklang mit der Höhe der Reaktionswerte zu stehen braucht. Wir beobachten hier dieselben Erscheinungen, die uns bei der Tuberkulinreaktion längst bekannt sind, bei der in vielen Fällen festgestellt wurde, daß Tiere, die beispielsweise hoch auf Tuberkulin reagierten, nur minimale tuberkulöse Veränderungen in ihren Organen erkennen ließen.

Ein Vergleich des Ergebnisses der Zerlegung mit den Reaktionswerten des Blutes zeigt ferner, daß es nicht immer angebracht erscheint, die Beurteilung der Reaktionswerte zu streng zu schematisieren. Vielmehr sind neben der Höhe der Agglutinations- und Bindungswerte auch die äußeren Umstände, unter denen die Rotzkrankheit in einem Pferdebestande herrscht, zu berücksichtigen. So wird man zweifellos in den meisten Fällen berechtigt sein, ein Pferd, dessen Serum beispielsweise einen Bindungswert von 0,4 aufweist, für rotzfrei zu erklären, wenn ein solcher Wert bei der ersten Blutuntersuchung in einem größeren Bestande gefunden wird, in dem rotzkranken Pferde nicht ermittelt worden sind, denn es kommt nach den bisherigen Erfahrungen nicht vor, daß ein rotzkrankes Pferd längere Zeit in einem solchen Bestande verweilt, ohne ein zweites oder mehrere Pferde des gleichen Bestandes zu infizieren. Ganz anders sind dagegen derartige Bindungswerte in rotzigen Beständen zu deuten, in denen Pferde mit dem Bindungswerte 0,4 ohne weiteres als rotzverdächtig angesehen werden müssen, sei es daß sie sich noch im Stadium der frischen Erkrankung, wie in vorliegenden Fällen (Pferde W. 21 und W. 28), sei es daß sie chronisch rotzkrank sind, wie wir es beispielsweise bei mehreren Pferden der Giesche-Grube erst in

letzter Zeit zu beobachten Gelegenheit hatten. Es wäre bedenklich, wollte man in solchen Fällen von der Tötung solcher Pferde absehen.

Auch erscheint es im Interesse einer schnellen Seuchentilgung wichtig, daß in rotzigen Beständen die zweite und dritte Entnahme des Blutes der ersten möglichst schnell folgen, und daß die diesbezüglichen Blutuntersuchungen schnell zur Ausführung gelangen, damit diejenigen Pferde, welche sich zur Zeit der ersten Blutuntersuchung noch im Inkubationsstadium befanden, sofort ermittelt und ausgemerzt werden können, um nicht weitere Quellen zu neuer Infektion zu liefern. Zur Beschleunigung der Untersuchung würde es sich eventuell empfehlen, in solchen Beständen die zweite bzw. dritte Untersuchung nicht in Zwischenräumen von 14 Tagen, sondern von 10 Tagen vorzunehmen. Eine Stütze für diese Ansicht liefert wiederum die Untersuchung in dem Bestande von Wilhelmshöh. Das Pferd W. 4 des Bestandes erwies sich bei der ersten Untersuchung als rotzfrei, befand sich aber in dem Inkubationsstadium, in welchem die Rotzkrankheit mit Hilfe der Serodiagnose noch nicht nachgewiesen werden konnte. Schon 11 Tage später zeigte das Serum eine deutliche Reaktion; das betreffende Pferd erwies sich bei der Zerlegung tatsächlich als rotzig. Nur durch die zufällige frühzeitigere Blutentnahme und durch die Beschleunigung der Untersuchung im vorliegenden Falle war es möglich, so schnell zu einem Ergebnis zu kommen und durch sofortige Tötung des Pferdes weiterer Ansteckung vorzubeugen. Würde, wie sonst üblich, das Blut erst nach 14 Tagen entnommen worden sein, so könnte die Untersuchung unter Berücksichtigung eines zweitägigen Transportes des Blutes zum Institut erst am 17. Tage begonnen werden und würden zur Ausführung der üblichen Komplementbindungsmethode weitere 2 Tage erforderlich sein. Rechnet man einen Tag auf die Berichterstattung und die Benachrichtigung der in Frage kommenden Behörden, so würde dieses Pferd tatsächlich erst nach 20 Tagen und nicht, wie es dieses Mal geschehen konnte, schon nach 14 Tagen aus dem Bestande entfernt werden können.

2. 6 rotzige Pferde aus Lappien, Kreis Niederung.

Am 27. Jan. 1912 wurden 6 Pferde in Lappien, Kreis Niederung, getötet, welche auf Grund des Ergebnisses der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion als rotzverdächtig bezeichnet waren.

Bei der Zerlegung erwiesen sich sämtliche Pferde als rotzkrank, wie aus den im Anhang beigefügten Zerlegungsberichten hervorgeht. Bezüglich des Alters der rotzigen Veränderungen lagen bei dem Pferde L. 1 ganz frische Veränderungen vor, während bei den Pferden L. 4, L. 7 und L. 8 der Rotz schon längere Zeit bestanden haben mußte. Besonders wichtig erscheint das Ergebnis der Zerlegung des Pferdes L. 7, weil dessen Serum, wie auch durch oftmals wiederholte Prüfung der drei zu verschiedenen Zeiten entnommenen Blutproben sich ergeben hatte, stets einen Bindungswert von noch nicht 0,3 hatte. In den Lungen des Pferdes fand sich eine größere Anzahl zweifellos rotziger Herde, die auf ein höheres Alter deuteten. Es handelt sich also in diesem Falle nicht um ein frisch erkranktes Pferd, das sich noch in demjenigen Inkubationsstadium befindet, in welchem das Serum noch keine Komplementbindungsreaktion ergibt, sondern um chronischen Rotz, bei welchem der Bindungswert des Serums bereits wieder im Sinken begriffen ist. Es bestätigt sich demnach, wie ich das bereits im Falle 1 Wilhelmshöh zum Ausdruck gebracht habe, daß es berechtigt erscheint, niedrige

Bindungswerte bei Pferden rotziger Bestände stets als mehr oder weniger verdächtig zu bezeichnen.

3. 38 rotzige Pferde aus Chludowo, Kreis Posen Ost.

Am 16. und 17. Febr. 1912 wurden 38 Pferde des Ansiedelungsgutes Chludowo, Kreis Posen Ost, welche auf Grund des Ergebnisses der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode als rotzverdächtig bezeichnet worden waren, getötet und erwiesen sich sämtlich mit mehr oder weniger frischen rotzigen Veränderungen behaftet. Die Rotzherde in den Lungen waren bei der Mehrzahl der Tiere sehr umfangreich. Mit besonderer Sorgfalt wurden die Pferde C. 15, C. 18 und C. 40 obduziert, bei welchen gewisse Unstimmigkeiten zwischen dem Ergebnis der Komplementbindungsmethode und dem der Conjunctivalprobe bestanden. So hatte das Serum des Pferdes C. 18 nur einen Bindungswert von 0,4 partiell, dagegen aber eine typische Conjunctivalreaktion gezeigt. Es sei hierzu noch bemerkt, daß das dem Pferde C. 18 3mal in Zwischenräumen von 3 und 8 Tagen zwecks Untersuchung entnommene Blut stets nur die angegebenen niedrigen Bindungswerte gezeigt hat. Bei der Obduktion erwies sich dieses Pferd mit zahlreichen, einwandfrei rotzigen Herden in den Lungen und in den Lymphknoten behaftet, die meist einen älteren Charakter hatten. Es bestätigte sich auch hier wiederum die bei den früheren Untersuchungen gemachte Erfahrung, daß niedrige Bindungswerte der Sera von Pferden aus rotzigen Beständen stets als äußerst verdächtig anzusehen sind.

Das Pferd C. 15 hatte eine sehr schwache atypische und das Pferd C. 40 gar keine Malleinreaktion gezeigt. Die Sera beider Pferde ließen aber eine typische Komplementbindungsreaktion erkennen. Beide Pferde wurden bei der Obduktion rotzig befunden.

4. 5 rotzige Pferde aus Chludowo, Kreis Posen Ost.

Am 19. Febr. 1912 wurde von den Pferden des Ansiedelungsgutes Chludowo, Kreis Posen Ost, zum zweiten Male Blut entnommen. Hierbei erwiesen sich sämtliche Agglutinations- und Bindungswerte unverändert mit Ausnahme der Pferde 36, 89, 92, 93 und 94, deren Sera folgende Agglutinations- und Bindungswerte zeigten:

| Pferd | C. | Agglutinationswert | 1000, | Bindungswert | 0,05 |
|-------|----|--------------------|-------|--------------|--------|
| " | " | 89 | " | 2000, | " 0,01 |
| " | " | 92 | " | 600, | " 0,1 |
| " | " | 93 | " | 2000, | " 0,05 |
| " | " | 94 | " | 1500, | " 0,05 |

Auf Grund dieses Ergebnisses mußten die 5 Pferde als rotzverdächtig angesehen werden, und es war anzunehmen, da mit Ausnahme des Pferdes C. 92, welches nur einen niedrigen Agglutinationswert zeigte, bei allen anderen Pferden Agglutinations- und Bindungswert sehr hoch gestiegen waren, daß die genannten Pferde mit frisch rotzigen Veränderungen behaftet waren und sich während bzw. nach der vorhergehenden Blutuntersuchung infiziert hatten.

Bei der Obduktion sämtlicher Pferde wurden einwandfrei rotzige Veränderungen ermittelt.

Zusammenfassung.

- 1) Die Höhe des Agglutinations- und Bindungswertes des Serums rotziger Pferde steht im bestimmten Verhältnis zum Alter der rotzigen Prozesse, nicht aber zur Ausdehnung derselben.

2) Bindungswerte von 0,3 und 0,4 der Sera von Pferden rotzfreier Bestände sind als unverdächtig zu bezeichnen, sprechen aber in rotzigen Beständen für einen Rotzverdacht.

3) Es empfiehlt sich, in rotzigen Beständen möglichst schon in Zwischenräumen von 10 Tagen die zweite und dritte Blutentnahme folgen zu lassen und die Untersuchung des Blutes zu beschleunigen.

II.

Ergebnis der Conjunctivalprobe (Augenprobe, Ophthalmoreaktion) bei gesunden und rotzkranken Pferden.

1. 35 Pferde des Gutes Wilhelmshöh, Kreis Angerburg.

Auf Grund des Ergebnisses der Blutuntersuchung der 35 Pferde des Gutes Wilhelmshöh hatten sich 11 bzw. 12 Tiere als rotzverdächtig erwiesen, und so bot dieser Fall eine willkommene Gelegenheit, um vor Tötung der als rotzverdächtig bezeichneten Pferde sowohl bei diesen als auch bei den gesunden Pferden die Conjunctivalprobe auszuführen.

Die Einverleibung eines Bakterienpräparates ins Auge zu diagnostischen Zwecken wurde zuerst von Wolff-Eisner ausgeführt. Dieser Autor träufelte zur Diagnose der Tuberkulose in das Auge des Menschen Tuberkulin und bezeichnete die dabei entstehende Reaktion als Conjunctivalreaktion. Es gebührt diesem Namen der Vorzug vor den übrigen häufig gebrauchten Bezeichnungen, wie Ophthalmoreaktion oder Augenprobe, einmal um dem Entdecker der Methode gerecht zu werden, ferner dürfte der bezeichnete Name das Richtige treffen, da sich die Reaktion nicht im Auge, sondern auf der Conjunctiva abspielt. Vallée und Martel führten das neue Verfahren zur Rotzdiagnostik ein. Ihnen sind De Blicq und Panizza, ferner Schnürer sowie Chromansky, Wladimiroff, Müller, Gaethgens und Aoki, sowie Fröhner und andere gefolgt. Insbesondere wird heute die Conjunctivalprobe in Gemeinschaft mit der Agglutination in ausgedehntem Maße von Schnürer bei den österreichischen Militärpferden mit Erfolg angewandt.

Bevor wir an die Ausführung unserer Versuche gingen, fanden bei sämtlichen Pferden Temperaturmessungen statt. Diese erfolgten stets in meiner Gegenwart, wobei jedem Pferde 2, zuweilen sogar 3 Thermometer in den After gesteckt wurden und daselbst wenigstens 5 Minuten lang liegen blieben. Die Ablesung galt nur dann, wenn sämtliche bei einem Pferde verwendeten Thermometer den gleichen Temperaturgrad anzeigten oder um höchstens $\frac{1}{10}^{\circ}$ differierten.

Bei der ersten Temperaturmessung, die 6 Stunden vor Inangriffnahme der Conjunctivalprobe am 6. Dez. 1911 nachmittags 4 Uhr stattfand, zeigten sich sämtliche Tiere, mit Ausnahme der braunen Stute W. 31, fieberfrei. Am 6. Dez., abends 10 Uhr, erfolgte dann bei allen Pferden auf dem linken Auge die Instillation des Malleins. Als Mallein wurde das Malleinum siccum Foth verwendet, welches in verschlossenen Tuben in Mengen von 0,03 durch die Sächsischen Serumwerke in den Handel kommt. Man vermischt dasselbe kurz vor der Verwendung mit 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung; durch leichtes Schütteln löst sich das Mallein bald auf, wobei eine trübe Flüssigkeit resultiert. Für die Pferde W. 1—13 und 37 wurde ein aus derselben Tube stammendes Mallein (Dosis I) verwertet; der Inhalt einer zweiten und dritten Tube (Dosis II) wurde in einem Glase mit physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und zur Instillation bei den übrigen Pferden benutzt.

Die Einträufung in den Lidbindesack wurde zuerst mit Hilfe einer Pipette, die in einen Gummiballon auslief, versucht. Es ergab sich aber sehr bald, daß diese Art der Applikation mit Schwierigkeiten und Ungenauigkeiten verknüpft war. Wenn man, wie in Wilhelmshöh, unter gewöhnlichen Verhältnissen der Landwirtschaft bei mangelnder Beleuchtung und oft recht ungebärdigen Pferden die Einträufelung ausführt, so leisten die Tiere häufig schon beim Abheben des unteren Augenlides mit Hilfe von Zeigefinger und Daumen zum Zwecke der Instillation des Malleins in den Lidsack Widerstand. Auch können geringe Bewegungen des Kopfes die Applikation erschweren. Man gebraucht ferner, da häufig Tropfen danebengehen, verhältnismäßig viel Mallein und muß sehr gewissenhaft aufmerken, daß tatsächlich auch ein Tropfen in den Lidbindesack gelangt. Deshalb habe ich gern bei den späteren Versuchen von dem von Schnürer empfohlenen gewöhnlichen Pinsel Gebrauch gemacht, mit dem sich das Material ausgezeichnet in den Augenlidsack einpinseln läßt, ohne daß die Pferde sich dem widersetzen und ein besonderes Gefühl des Unbehagens oder gar des Schmerzes dabei äußerten. Es wurden zuerst die gesunden Pferde mit dem Pinsel behandelt und im Anschluß daran die rotzverdächtigen, wenn auch Schnürer angibt, daß irgendeine Gefahr der Uebertragung der Rotzkrankheit mit Hilfe des Pinsels auf gesunde Pferde nicht bestünde, was auch durch meine Untersuchungen bestätigt werden konnte. Man vermag dieser Gefahr meines Erachtens dadurch zu entgehen, daß man bei einer größeren Anzahl von Pferden mehrere Pinsel, die man während des Nichtgebrauchs in einer Karbollösung aufbewahrt, verwendet und dieselben vor dem Gebrauch noch einmal mit Wasser ausspült und durch Auspressen mit den Fingern von dem Wasser befreit. Es muß natürlich vermieden werden, daß man durch die dem Pinsel anhaftende Flüssigkeit die Malleinlösung zu sehr verdünnt, da sonst die Wirksamkeit derselben in Frage gestellt wird. Müller, Gaethgens und Aoki verwenden zur Instillation einen Glasstab, dem aber meines Erachtens dieselben Mängel wie der Pipette anhaften.

Die ersten Untersuchungen über das Ergebnis der Malleinisierung wurden 6 Stunden nach der Einpinselung vorgenommen, wobei gleichzeitig eine genaue Feststellung der Temperatur der behandelten Pferde erfolgte. Wie aus der beigegebenen Temperaturtabelle 1 ersichtlich ist, hatten zu der angegebenen Zeit nur die Pferde 27 und 31 eine Temperatur von über 38,5. Beide Tiere zeigten aber bereits am Tage vorher etwa gleichhohe Temperaturen, so daß in diesen Fällen ebenso wie bei allen übrigen Pferden nach Verlauf der ersten 6 Stunden von einer Temperatursteigerung nichts zu bemerken war. Genau so lagen die Verhältnisse nach 10 Stunden. Dagegen wurden in der 14. Stunde bei den Pferden W. 4, W. 21, W. 23, W. 24, W. 27, W. 28, W. 31 und W. 34 deutliche Temperatursteigerungen wahrgenommen, die im Höchsthalle bis auf 39,4 gingen. Diese Temperatursteigerungen hielten teilweise noch bis zur 18. und bei wenigen Tieren bis zur 22. Stunde nach der Einträufelung an. Es waren also die Höchsttemperaturen durchschnittlich in der 14. und 18. Stunde zu beobachten.

Was die lokalen Reaktionen anbetrifft, so trat nach 6 Stunden bei dem Pferde W. 10, welches aber schon vorher mit einem Lidbindehautkatarrh behaftet war, eine geringe Sekretion ein. Ferner zeigten einige der als rotzverdächtig bezeichneten Pferde (W. 20, 24, 30, 31, 34

Tabelle

| No. | Kennzeichen | 6. 12. 11 4 ⁿ nachm. | 6. 12. 11 10 Uhr abends | 7. 12. 11 4 Uhr morgens | 7. 12. 11 8 Uhr vormitt. | 7. 12. 11 12 Uhr vormitt. | 7. 12. 11 4 Uhr nachm. |
|---------|------------------------------------|------------------------------------|---|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| W 1 | Schwarzbr. Wallach, 6 J. | 38,0 | Dos. I mit Pipette instilliert | 37,9 | 37,9 | 37,9 | 38,2 |
| W 2 | Brauner Wallach, 6 Jahre | 38,1 | l. Auge do. | — 37,8 | — 37,8 | — 37,8 | — 38,5 |
| W 3 | Fuchsstute, 4 Jahre | 38,4 | l. Auge do. | — 37,9 | — 37,8 | — 37,5 | — 37,6 |
| W 4 | Braune Stute, 15 Jahre | 38,6 | l. Auge do. | — 37,9 | — 38,3 | — 39,0 | — 39,6 |
| | | | l. Auge Beiders. Binde- hautkat. | — | + | ++ ger. 2 große Eiterflocken | ++ |
| W 5 | Braune Stute, 6 Jahre | 37,9 | Dos. I mit Pinsel instilliert | 37,9 | 37,5 | 37,4 | 38,0 |
| | | | l. Auge | — | — | — | — |
| W 6 | Braune Stute, 10 Jahre | 37,6 | do. l. Auge | — 37,4 | — 37,7 | — 37,1 | — 37,3 |
| W 7 | Brauner Wallach, 10 Jahre | 37,8 | do. l. Auge | — 37,9 | — 37,8 | — 37,3 | — 37,6 |
| W 8 | Schimmelwallach, 16 Jahre | 38,1 | do. l. Auge | — 37,9 | — 38,4 | — 38,4 | — 38,2 |
| W 9 | Fliegenschimmelwallach, 6 Jahre | 37,9 | do. l. Auge | — 37,5 | — 37,8 | — 38,2 | — 37,8 |
| W 10 | Braune Stute, 12 Jahre | 37,9 | do. l. Auge Eitrg. Lid- binde- hautkat. | — 37,8 + | — 37,9 — | — 37,5 — | — 37,8 — |
| W 11 | Braune Stute, 14 Jahre | 38,0 | do. l. Auge | — 37,4 | — 37,8 | — 37,8 | — 37,3 |
| W 12 | Fuchsstute, 5 Jahre | 38,0 | do. l. Auge | — 37,8 | — 37,8 | — 37,8 | — 37,8 |
| W 13 | Fuchswallach, 6 Jahre | 37,8 | do. l. Auge | — 37,6 | — 37,6 | — 37,4 | — — |
| W 14 | Rappstute, 8 Jahre | 37,9 | Dos. II mit Pinsel instilliert | 37,9 | 37,2 | 37,5 | 38,3 |
| W 15 | Rappwallach, 6 Jahre | 38,2 | l. Auge do. | — 37,5 | — 38,0 | — 38,2 | — 38,0 |
| W 16 | Hellbrauner Wallach, 6 J. | 38,0 | l. Auge do. | — 37,9 | — 37,8 | — 37,8 | — 38,2 |
| W 17 | Rappstute, 6 Jahre | 38,0 | l. Auge do. | — 37,7 | — 38,2 | — 37,7 | — 37,3 |
| W 18 | Fuchswallach, 4 Jahre | 37,8 | l. Auge do. | — 38,1 | — 37,8 | — 37,8 | — 38,0 |
| W 19 | Brauner Wallach, 16 Jahre | 38,1 | l. Auge do. | — 37,8 | — 38,1 | — 37,8 | — 38,3 |
| W 25 | Fuchsstute, 9 Jahre | 37,2 | l. Auge do. | — 37,4 | — 37,8 | — 37,6 | — 37,7 |
| W 26 | Fuchswallach, 9 Jahre | 37,8 | l. Auge do. | — 37,8 | — 37,9 | — 37,6 | — 37,4 |

I.

| 7. 12. 11 8 Uhr abends | 7. 12. 11 10 Uhr abends | 8. 12. 11 4 Uhr morgens | 8. 12. 11 8 Uhr morgens | 8. 12. 11 12 Uhr mittags | 8. 12. 11 4 Uhr nachm. | 8. 12. 11 8 Uhr abends | 9. 12. 11 5 Uhr morgens |
|------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 37,9 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,7 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,7 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 39,2 | Dosis III mit Pinsel instilliert | 38,2 | 38,3 | 38,5 | 38,7 | 37,7 | 37,7 |
| ++ | | — | — | — | — | — | — |
| 37,8 | r. Auge do. | + | +++ | +++ | +++ ger. | ++ | ++ |
| | | 37,7 | 37,8 | 37,8 | 37,6 | 37,6 | 37,8 |
| — | | — | — | — | — | — | — |
| 37,8 | r. Auge do. | — | — | — | — | — | — |
| — | | 37,2 | 38,0 | 37,4 | 37,6 | 37,1 | 37,6 |
| 37,9 | r. Auge do. | — | — | — | — | — | — |
| — | | 37,8 | 37,2 | 37,8 | 37,6 | 37,5 | 37,2 |
| 37,7 | r. Auge | — | — | — | — | — | — |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,7 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,3 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,3 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,9 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,7 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,2 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,5 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,5 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |

| No. | Kennzeichen | 6. 12. 11 4 ^h nachm. | 6. 12. 11 10 Uhr abends | 7. 12. 11 4 Uhr morgens | 7. 12. 11 8 Uhr vorm. | 7. 12. 11 12 Uhr vorm. | 7. 12. 11 4 Uhr nachm. |
|------|------------------------------------|------------------------------------|---|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| W 20 | Braune Stute, 3 Jahre (I. d. Boxe) | 38,5 | Dosis II mit Pinsel instilliert l. Auge | 37,6 +++ r. | 37,8 + r. | 38,2 + | 38,2 + |
| W 21 | Brauner Wallach, 4 Jahre | 37,8 | do. l. Auge | 37,4 + r. | 38,0 ++ r. | 38,9 + r. | 38,3 + |
| W 23 | Fuchsstute, 4 Jahre | 37,9 | do. l. Auge | 37,9 + r. | 38,5 ++ r. | 39,3 + r. | 39,0 — |
| W 24 | Fuchsstute, 8 Jahre | 37,6 | do. l. Auge | 37,5 ++ r. Oedem | 38,2 ++ | 39,4 +++ | 38,6 + r. |
| W 27 | Fuchswallach, 10 Jahre | 38,5 | do. l. Auge | 38,6 + | 38,5 ++ | 38,9 + r. | 38,6 + r. |
| W 28 | Fuchsstute, 8 Jahre | 38,2 | do. l. Auge | 37,7 + | 37,9 + | 38,6 + | 38,0 + |
| W 29 | Fuchsstute, 6 Jahre | 37,5 | do. l. Auge | 37,9 + r. | 37,6 + r. | 38,4 r. | 37,8 r. |
| W 30 | Braune Stute, 5 Jahre | 37,6 | do. l. Auge | 37,7 ++ | 37,6 ++ | 38,2 r. | 38,2 + r. |
| W 31 | Braune Stute, 16 Jahre | 39,0 | do. l. Auge | 39,0 ++++ r. Oedem | 39,2 ++++ | 39,2 ++++ | 38,2 ++++ |
| W 34 | Brauner Wallach, 3 Jahre | 37,9 | do. l. Auge | 37,4 ++++ r. | 38,0 +++ | 39,3 +++ r. | 39,6 ++ |
| W 36 | Fuchswallach, 2 Jahre | 38,2 | do. l. Auge | 37,8 +++ r. | 38,3 +++ | 38,2 +++ r. | 38,2 ++ |
| W 37 | Fuchswallach, $\frac{3}{4}$ Jahr | 38,3 | Dos. I mit Pipette instilliert l. Auge | 37,6 | 37,6 | 37,9 | 38,2 |
| W 38 | Fuchsstute, 16 Jahre | 38,0 | Dosis II mit Pinsel instilliert l. Auge | — | 37,8 | 37,8 | 37,7 |
| W 39 | Dunkelbrauner Wallach, 16 Jahre | 38,0 | do. l. Auge | — | 37,8 | 37,8 | 37,9 |

Bedeutung der
 — = Auge unverändert. + = geringer serös-schleimiger Ausfluß. ++ = Ausfluß unteres Augenlid geschwollen. ++++ = starker eitriger Ausfluß, beide Augenlider

und 36) bereits mehr oder weniger starke Reaktionen. Aus dem inneren Augenwinkel floß ein eiterähnliches, schleimiges Sekret, welches teilweise an der unter dem inneren Augenwinkel liegenden Haut in zuweilen fingerlangen Fetzen liegen blieb. Diese Tiere ließen eine Rötung der Lidbindehäute erkennen. Bei den Pferden W. 24 und W. 31 bestand

| 7. 12. 11 8 Uhr abends | 7. 12. 11 10 Uhr abends | 8. 12. 11 4 Uhr morgens | 8. 12. 11 8 Uhr morgens | 8. 12. 11 12 Uhr mittags | 8. 12. 11 4 Uhr nachm. | 8. 12. 11 8 Uhr abends | 9. 12. 11 5 Uhr morgens |
|------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 40,0 | Dosis III mit Pinsel instilliert | 37,5 | 37,2 | 37,5 | 37,5 | 37,7 | 37,4 |
| — | | — | — | — | — | — | — |
| 38,3 | r. Auge | + | + | — | — | — | — |
| + | do. | 38,0 | 37,9 | 39,0 | 38,9 | 39,6 | 38,1 |
| 38,5 | r. Auge | ++ r. | + | + | + | + | ++ |
| — | do. | 37,7 | 37,7 | 38,2 | 38,1 | 39,0 | 38,0 |
| 38,3 | r. Auge | + | + | + | — | — | — |
| ++ r. | do. | 38,0 | 37,7 | 38,2 | 38,5 | 39,0 | 38,3 |
| | | + | — | — | — | — | — |
| 38,7 | r. Auge | ++ r. | ++ r. | ++ r. | ++ r. | + r. | — |
| + r. | do. | 38,2 | 37,5 | 37,6 | 37,7 | 38,8 | 37,8 |
| 38,3 | r. Auge | + | + | + | + | — | — |
| — | do. | 36,8 | 37,5 | 37,2 | 37,2 | 38,0 | 38,0 |
| 37,8 | r. Auge | — | + | — | — | — | — |
| — | do. | 37,3 | 37,4 | 37,2 | 36,9 | 37,3 | 37,6 |
| 38,0 | r. Auge | + | + | — | — | — | — |
| ++ r. | do. | 37,7 | 38,1 | 37,8 | 37,9 | 38,2 | 37,8 |
| 38,3 | r. Auge | ++ | + | + | + | — | — |
| ++++ | do. | 38,9 | 38,5 | 38,4 | 37,8 | 38,2 | 38,4 |
| | | ++ | ++ | ++ r. | ++ | ++ | ++ |
| 38,7 | r. Auge | ++ r. | +++ r. | ++ r. | ++ | ++ | ++ |
| ++++ | do. | 38,6 | 38,4 | 39,1 | 39,2 | 39,4 | 38,4 |
| | | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 38,2 | r. Auge | ++++ r. | ++++ r. | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| + r. | do. | 37,9 | 37,5 | 38,1 | 37,9 | 38,2 | 37,9 |
| 37,7 | r. Auge | + | + | + | — | — | — |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | . | . | . | . | . | . | . |
| — | . | . | . | . | . | . | . |

Abkürzungen.

mit Eiterflocken vermischt. ++ = eitriger Ausfluß. +++ = eitriger Ausfluß, geschwollen und verklebt.

starkes Oedem des oberen und unteren Augenlides, die Augenlider waren aufgequollen und hatten eine glasige Beschaffenheit. Bei den Pferden W. 21, 23, 27, 28 und 29 konnte man ein schleimiges Sekret am inneren Augenwinkel erkennen. Nach 10 Stunden wies das Pferd W. 4, welches mit einem beiderseitigen Bindehautkatarrh behaftet war, einen eiter-

ähnlichen Ausfluß auf dem behandelten linken Auge auf, während die nicht rotzverdächtigen Pferde W. 1—3, 5—19, 25, 26 und 37—39 keine Veränderungen zeigten; die inneren Augenwinkel waren trocken, ebensowenig fand sich im Lidsack vermehrte Flüssigkeit; die Schleimhaut des oberen und unteren Augenlides war von rosaroter Farbe. Beim Pferde W. 20 ließ in dieser Zeit schon die Sekretion nach. Der ursprünglich schleimigen Tränenflüssigkeit der Pferde W. 21, 23 und 27 hatte sich ein eiterähnliches Material beigemischt. Bei den übrigen rotzverdächtigen Pferden hielten sich die lokalen Reaktionen im großen und ganzen auf derselben Höhe wie vorher. Auch blieb ungefähr dasselbe Stadium bis zur 14. Stunde, während nach der 18. Stunde die Reaktion meist schon stark nachließ, eine Ausnahme machten die Pferde No. 31 und 34, welche von Anfang an heftig reagierten. Bei diesen Tieren floß aus dem inneren Augenwinkel zahlreiches Sekret, auf der Nasenschleimhaut konnte man eitrig-schleimige Flocken beobachten, teilweise wurde auch eine geringe Vergrößerung der im Kehlgange gelegenen Lymphknoten wahrgenommen. Die beiden Tiere standen mit gesenktem Kopfe ziemlich teilnahmslos vor der Krippe. Bei dem Pferde W. 4 war die Reaktion in der 14. und 18. Stunde stärker geworden und markierte sich durch deutliche eitriche Sekretion.

Am nächsten Tage wiesen die Pferde W. 4, 20, 23, 28, 29 und 30 auf dem zuerst behandelten Auge keine Reaktion mehr auf, auch war sie bei den übrigen Tieren mit Ausnahme der Pferde W. 31 und 34 sehr gering und in ständigem Abnehmen begriffen.

Am Abend des 7. Dez., 24 Stunden nach der ersten Instillation, erfolgte bei allen rotzverdächtigen Pferden und zur Kontrolle bei den Pferden W. 4, 5, 6 und 7 in gleicher Weise eine Instillation des Malleins auf dem rechten Auge und zwar wiederum mit Hilfe eines Pinsels. Sämtliche Tiere erhielten das Mallein aus derselben Mischung. Dabei wurden genau wie vorher in etwa vierstündigen Zwischenräumen die Temperaturen aufgenommen.

Am Morgen des nächsten Tages, also 6 Stunden nach der zweiten und 30 Stunden nach der ersten Instillation waren alle Tiere mit Ausnahme der Pferde W. 31 und 34 fieberfrei, desgleichen auch 4 Stunden später. 14, 18 und 22 Stunden nach der zweiten Einpinselung stellten sich dann bei den Pferden W. 21, 23, 24, 27 und 34 geringe Temperatursteigerungen ein, die später wieder verschwanden. Die Reaktion nach der zweiten Instillation war fast bei allen reagierenden Tieren geringer als nach der ersten mit Ausnahme der Pferde W. 4 und 21. Die Pferde W. 20, 28 und 29 wiesen keine merklichen Reaktionen auf. Rötung und Schwellung der Lidbindehäute konnten nicht nachgewiesen werden. Im übrigen sind die Einzelheiten aus vorstehender Tabelle I ersichtlich.

Fassen wir die nach den ersten bzw. den zweiten Malleineinpinselungen gemachten Beobachtungen zusammen, so läßt sich im allgemeinen eine Abschwächung des Ergebnisses der zweiten Conjunctivalprobe, welche nach 24 Stunden der ersten auf dem bisher nicht behandelten Auge folgte, feststellen.

Die Temperatursteigerungen waren vornehmlich in der 12. bis 20. Stunde nach der Einpinselung zu beobachten, bewegten sich aber in der Mehrzahl der Fälle nur auf ganz geringen Höhen und waren nach der zweiten Malleinapplikation kaum von großer Bedeutung.

Es l
regun

Bedeutung der Conjunctivalprobe.

Bei der Beurteilung des Ausfalls der vorliegenden Versuche kommt es in erster Linie darauf an, festzustellen, was man unter einer positiven, zweifelhaften und negativen Reaktion überhaupt zu verstehen hat. Es lassen sich hierfür erst gewisse Normen feststellen, wenn man über ein größeres Material verfügt und ich folge deswegen der Ausführung von Schnürer, der bereits an mehr als 10000 Pferden die Conjunctivalprobe ausgeführt hat. Seine Erfahrungen auf diesem Gebiete hat Schnürer in der neuesten Arbeit in der Zeitschrift für Infektionskrankheiten 1911, Bd. 16, p. 320. „Die Resultate des diagnostischen Verfahrens bei Rotz in Oesterreich im Jahre 1910“ niedergelegt. Auf p. 321 dieser Arbeit finden sich folgende Angaben:

„Als seuchenverdächtig gelten:

b) alle Tiere, welche schon bei der Ausführung der Augenprobe eine Körpertemperatur von 39° und darüber aufweisen;

c) alle Tiere, welche eine zweifelhafte Augenprobe oder bei negativer Augenprobe eine Temperatur von $38,5^{\circ}$ und darüber zeigen;“

und in der Anleitung zur Augenprobe (p. 322) bezeichnet Schnürer als spezifische Reaktion eine eitrig-eitrige Bindehautentzündung, Rötung, Schwellung und eitrig-eitriges Sekret. Dieser Autor unterscheidet ferner

„1) die positive Reaktion, d. i. eitriges Sekret in wechselnder Menge bei geringer Sekretion am ehesten im inneren Augenwinkel sichtbar;

2) die negative Reaktion, d. i. Fehlen jeden Sekretes, und

3) die zweifelhafte Reaktion, d. i. schleimiges Sekret oder Tränenfluß noch nach 24 Stunden.“

In seinen weiteren Ausführungen legt dann Schnürer großen Wert auf die Temperaturmessungen und kommt zu folgendem Schluß (p. 337):

„Eine deutliche positive Reaktion, 24 Stunden nach der Anstellung, ohne Fiebersteigerung über $38,5^{\circ}$ muß mit großer Vorsicht beurteilt werden.“

Derselbe Verfasser vertritt ferner die Ansicht, daß eine an demselben Auge nach Entfernung des eitrig-eitriges Sekretes wiederholte oder auf dem anderen Auge vorgenommene Probe stets ein positives Resultat geben müsse, soll die erste Reaktion als Malleinreaktion bezeichnet werden.

Legt man diese Grundsätze der Beurteilung der vorstehenden Versuche zugrunde, so haben, wie aus der Tabelle 1 und 7 ersichtlich, die Pferde W 1—3, 5—19, 25, 26 und 37—39 eine negative Malleinreaktion gezeigt. Die Konjunktivalprobe ist positiv ausgefallen bei den Pferden W 4, 20, 21, 23, 24, 27, 31 und 34. Die genannten Pferde zeigten eitrig-eitriges Ausfluß, Temperaturerhöhung über $38,5$ und reagierten nach der zweiten Malleinisation, wenn auch in viel geringerem Grade. Das Pferd W 36 hatte zwar keine Temperaturerhöhung, dagegen eine derartig starke lokale Reaktion, daß auch dieses Tier ohne weiteres als positiv reagierend bezeichnet werden mußte. Zu ähnlichen Resultaten führte die Malleinprüfung bei dem Pferde W 30, wenn auch die lokalen Reaktionen weniger stark ausgeprägt waren. Dagegen bestand bei den Pferden W 28 und W 29 keine fieberhafte Temperatursteigerung und nur ein geringer schleimiger Ausfluß, so daß diese beiden Pferde als nicht reagierend angesehen werden müssen.

Zusammenfassung.

Es haben von 35 rotzansteckungsverdächtigen Pferden 10 bei der Zerlegung als rotzig ermittelte Pferde positive Konjunktivalreaktion

gezeigt, von den übrigen 25 nicht reagierenden Tieren wurden auf Grund der Blutuntersuchung W 28 und 29 getötet. Dieselben erwiesen sich bei der Zerlegung als rotzig.

Es reagierten hiernach unter 12 rotzigen Pferden 10 positiv = 83 Proz., während keines der gesunden Pferde eine positive Reaktion aufwies.

2. 8 Pferde aus Lappien, Kreis Niederung.

Vor Inangriffnahme der Versuche wurden durch zweimalige Messungen in Zwischenräumen von 5 Stunden die Temperaturen der betreffenden Pferde ermittelt, wobei sich ergab, daß alle Pferde mit Ausnahme des Pferdes L. 1 fieberfrei waren.

Am 25. Jan. abends 11 Uhr erfolgte die Instillation des Malleinum siccum Foth mit Hilfe eines Pinsels genau in derselben Weise, wie es früher in Wilhelmshöhe geschehen war. 0,03 Malleinum siccum löste man unmittelbar von der Ingebrauchnahme in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf, tränkte hiermit einen Pinsel und verstrich das Material im unteren Lidsack des rechten Auges.

Bei der am nächsten Tage morgens 4 Uhr stattgehabten weiteren Untersuchung ergab sich, daß die Temperaturen sämtlicher Pferde gegenüber der Abendtemperatur nur unwesentliche Veränderungen aufwiesen; dagegen zeigten fünf (L 1, L 4, L 5, L 6 und L 8) der als rotzverdächtig bezeichneten Pferde bereits einen deutlichen schleimigeitrigen Ausfluß aus dem rechten Auge. Beim Pferde L 7 war das untere Augenlid wenig geschwollen und gerötet. Die Pferde L 2 und L 3 ließen keine Veränderungen erkennen.

3 Stunden später, also 8 Stunden nach der Einpinselung hatten die rotzverdächtigen Pferde noch keine wesentlichen Temperaturerhöhungen, dagegen nahmen die lokalen Reaktionen an Stärke zu; ebenso war bei dem Pferde L. 7 ein geringer eitriger Ausfluß eingetreten. Beim Pferde L. 5, welches die stärkste Reaktion zeigte, bestand außerdem starke Schmerzhaftigkeit (cf. Fig. 1 und 2).

Nach fernerem 3 Stunden wiesen die Pferde L 1, L 4 und L 6 eine fieberhafte Temperatur auf und eine weitere Zunahme der lokalen Reaktion. Die Pferde L 1, L 4, L 5 und L 6 (cf. Tabelle II) hatten einen sehr starken eitrigen Ausfluß; der Eiter klebte an der Haut am inneren Augenwinkel fest, der Lidsack war mit Eiter gefüllt, teilweise hing der Eiter an den Wimpern des oberen Augenlides. Beim Vergleich mit dem linken nicht behandelten Auge konnte man in allen Fällen eine deutliche ödematöse Schwellung des unteren Augenlides beobachten. Die Schleimhaut des betreffenden Teiles war geschwollen und von glasigem Aussehen. Auch beim Pferde L 7 hatte die Schleimhaut des geschwollenen unteren Augenlides eine gallertige Beschaffenheit.

Um 1 Uhr, also 12 Stunden nach der Instillation, wurden bei allen rotzverdächtigen Pferden mit Ausnahme des Pferdes L. 7 mehr oder weniger hohe fieberhafte Temperaturen beobachtet, die auch um 4 Uhr noch anhielten, dagegen abends um 7 Uhr, d. s. 20 Stunden nach der Behandlung, allmählich wieder abstiegen.

Die beiden rotzfreien Pferde L. 2 und L. 3 blieben während der ganzen Beobachtungszeit fieberfrei. Die Augenlider dieser Tiere ließen auch nicht die geringste Schwellung erkennen; der Lidsack sowie der innere Augenwinkel war frei von jeder Spur eines Sekretes, sei es eitriger oder schleimiger Natur.

Am Abend des 26. um 9 Uhr wurden sämtliche Pferde einer noch-

maliger Behandlung unterzogen und zwar einmal auf dem linken, bisher unbehandelten Auge und ferner auf dem bereits vorbehandelten rechten Auge. Das letztere geschah deswegen, um zu sehen, ob die innerhalb 24 Stunden erfolgte zweite Instillation bei demselben Auge auf die Reaktion von irgendwelchem Einfluß sein würde.

Am nächsten Morgen um 4 Uhr, also 7 Stunden nach der Einpinselung, erfolgten die Temperaturmessungen. Hierbei zeigte auch das Pferd L. 7 dessen Höchsttemperatur bisher $38,7^{\circ}$ betragen hatte, eine Temperatur von $39,1^{\circ}$ und was mir besonders wichtig erschien, war die Reaktion auf dem rechten Auge, welche nach der ersten Instillation als schwach bezeichnet werden mußte, offensichtlich und deutlich geworden. Es hatte sich im unteren Lidsack viel Eiter gebildet, das Auge trännte und irgend ein Zweifel über den positiven Ausfall der Reaktion konnte nicht bestehen. Im Lidsack des linken Auges dagegen waren nur eine



Fig. 1.

geringe Rötung und ein Eiterpfropf bemerkbar. Dieselbe Verstärkung der Reaktion auf dem rechten vorbehandelten Auge konnte im entsprechenden Verhältnis ausnahmslos bei allen übrigen rotzverdächtigen Pferden wahrgenommen werden: Die Augenlider waren miteinander verklebt, so daß der Augapfel überhaupt nicht sichtbar wurde, die Augenlider und die Wimpern der Augenlider waren mit Eiterfetzen bedeckt, desgleichen der innere Augenwinkel. Dazu stellte sich starkes Tränen ein und endlich bestand auch ziemlich starke Schmerzhaftigkeit an den betreffenden Augenlidern. Dabei waren die Tiere meist matt und fraßen schlecht. Dieser Zustand erhielt sich auch während der weiteren Beobachtung, die bis kurz vor der Tötung der Pferde mittags 1 Uhr fortgesetzt wurde. In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen in Wilhelmshöh war dagegen die Reaktion auf dem anderen bisher nicht vorbehandelten Auge nur als gering zu bezeichnen.

Es war hiernach durch die zweimalige Conjunctivalprobe auf demselben Auge eine deutliche Verstärkung der Reaktion bei rotzigen Pferden



Fig. 2.



Fig. 4.



Fig. 3.



Fig. 5.

eingetreten, welche dann von besonderer Wichtigkeit zu sein scheint, wenn die erste Conjunctivalprobe eine schwache und zweifelhafte Reaktion geliefert hatte. Die Augen der beiden rotzfreien Pferde L. 2 und L. 3

sehen un
mmal ein
Ein
gefügte
Die Bilder
nd 3 (P
2 Stunden
Einpinsel
schneestul
Pferd L. 2
L. 1) 96 S
ersten bz
nach der
eine beide
gestellt. I
das Pferde
nd 2 ist
z. Mittelei
während e
die Einpin
ist gesch
rrd und
iebt ist.
die Schwel
Augenlid
rechten er
nd 6 ges
eine Beurt
Schwere d
rechten A
stärkte Rea
regs auf
ehung zu
wie aus d
abends un
Morgen, 1
Deutliche
endlich a
dem recht
Ange. D
mit Eiter
durch Eit
am innere
pero der
Die
Tabelle 2

Die
guten Re
rotzverlä
ein Zwif
nach e w
Bene Ab

blieben unverändert und ließen nicht die geringste Reaktion, auch nicht einmal einen Tränenausfluß aus dem Augenwinkel, erkennen.

Ein anschauliches Bild von der Stärke der Reaktion liefern die beigefügten, an Ort und Stelle von mir aufgenommenen Photographieen.

Die Bilder 1, 2 (Pferd L. 5) und 3 (Pferd L. 6) sind 12 Stunden nach der ersten Einpinselung (leider bei Schneesturm), die Bilder 4 (Pferd L. 5), 5 und 6 (Pferd L. 1) 36 Stunden nach der ersten bzw. 12 Stunden nach der zweiten Einpinselung beider Augenlider hergestellt. Das rechte Auge des Pferdes L. 5 in Fig. 1 und 2 ist noch nicht sehr in Mitleidenschaft gezogen, während es nach der zweiten Einpinselung (Fig. 4) fest geschlossen gehalten wird und durch Eiter verklebt ist. Fig. 2 läßt ferner die Schwellung des unteren Augenlides gegenüber dem rechten erkennen. Fig. 5 und 6 gestatten weiterhin eine Beurteilung über die Schwere der Reaktion am rechten Auge. Diese verstärkte Reaktion ist keineswegs auf die erste Einpinselung zu beziehen, denn



Fig. 6.

wie aus der Tabelle ersichtlich, hatte die Reaktion bei dem Pferde L. 5 abends um 7 Uhr schon nachgelassen (++) und war am nächsten Morgen, 12 Stunden nach der zweiten Einpinselung, mit viel größerer Deutlichkeit (+++++) als vorher aufgetreten. In Fig. 5 sieht man endlich auch einen deutlichen Unterschied in der Reaktion zwischen dem rechten zum zweiten und dem linken zum ersten Male behandelten Auge. Der Augapfel am rechten Auge ist infolge der verquollenen und mit Eiter verklebten Augenlider zurückgedrängt. Die Wimperhaare sind durch Eiter verdeckt. Linkerseits sieht man wohl ein eitriges Sekret am inneren Augenwinkel, im übrigen aber ist das Auge klar, die Wimpern der oberen Augenlider sind deutlich erkennbar.

Die Einzelheiten der Untersuchungen ergeben sich aus folgender Tabelle 2.

Zusammenfassung.

Die conjunctivale Malleinreaktion hat im vorliegenden Falle zu einem guten Resultat geführt, denn die lokale Reaktion war bei sämtlichen rotzverdächtigen Pferden derartig einwandfrei, daß über die Beurteilung ein Zweifel nicht bestehen konnte. Wie in früheren Beobachtungen waren nach etwa 10—12 Stunden bei allen Pferden deutliche und starke Lokal-

Tabelle 2.

| 26. 1. 1912 | | 26. 1. 1912 | | 9 Uhr abends | 27. 1. 1912 | | 27. 1. 1912 | | 27. 1. 1912 | |
|--------------|----------|--------------|----------|---|---------------|---|---------------|---|--------------|---|
| 4 Uhr nachm. | | 7 Uhr abends | | | 4 Uhr morgens | | 7 Uhr morgens | | 11 Uhr vorm. | |
| Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion |
| 38,1 | — | 38,1 | — | Malleineinpinselung (1 Proz.) ins rechte und linke Auge | 37,5 | — | 37,7 | — | 37,7 | — |
| 38,2 | — | 38,2 | — | | 37,6 | — | 37,8 | — | 37,8 | — |
| 40,1 | +++ | 39,6 | +++ | | 39,6 | r. +++++ Augenlider verklebt, schmerzhaft l. ++ | 39,3 | r. +++++ verklebt, schmerzhaft l. ++ | 39,9 | r. +++++ verklebt, schmerzhaft l. ++ |
| 40,3 | ++ | 39,2 | ++ | | 39,1 | r. +++++ verklebt l. + | 39,3 | r. +++++ l. + | 39,4 | r. +++++ l. + |
| 39,1 | +++ | 39,0 | ++ | | 38,9 | r. +++++ verklebt l. ++ | 38,9 | r. +++++ l. ++ | 39,1 | r. +++++ l. ++ |
| 40,2 | ++++ | 40,1 | ++++ | | 40,1 | r. +++++ verklebt und stark gerötet l. ++ | 39,4 | r. +++++ l. + | 39,3 | r. +++++ l. + |
| 38,7 | ++ | 38,4 | ++ | | 39,1 | r. +++ l. ++ | 39,2 | r. +++ schmerzhaft l. ++ | 39,5 | r. +++ schmerzhaft l. ++ |
| 40,3 | ++ | 38,2 | + | | 37,6 | r. +++++ verklebt l. ++ | 38,4 | r. +++++ l. ++ | 38,1 | r. +++++ l. ++ |

reaktionen eingetreten. Es konnte ferner ähnlich wie in Wilhelmshöh festgestellt werden, daß die Wiederholung der conjunctivalen Probe auf dem bisher nicht behandelten Auge nach 24 Stunden keine besonders guten Resultate zeitigte, da die Reaktion auf diesem Auge fast überall schwächer wie auf dem zuerst behandelten Auge war. Dagegen geht aus den Versuchen hervor, daß die nochmalige Behandlung desselben Auges nach Ablauf von 24 Stunden vielleicht infolge von Ueberempfindlichkeit eine bedeutend stärkere Reaktion ausgelöst hatte, als beim ersten Male. Diese Beobachtung erscheint beachtenswert in denjenigen Fällen, in denen die erste Reaktion nur gering war (cf. Pferd L. 7), und es wird sich vielleicht empfehlen, vorausgesetzt, daß weitere Untersuchungen in demselben Sinne ausfallen, bei zweifelhaften Reaktionen nach 24 Stunden die Conjunctivalprobe auf demselben Auge zu wiederholen. Die Temperaturen der rotzigen Pferde sind in dem vorliegenden Falle meist hoch fieberhaft gewesen. Die Feststellung einer fieberhaften Temperaturerhöhung nach der Conjunctivalprobe kann aber meines Erachtens um so mehr unterbleiben, als die für jeden Kenner deutlich sichtbare und leicht festzustellende Lokalreaktion am Auge zur Beurteilung ausreichen

Tabelle 2.

| No. des Pferdes | 25. 1. 1912 | | | 26. 1. 1912 | | 26. 1. 1912 | | 26. 1. 1912 | | 26. 1. 1912 | |
|-----------------|--------------|---------------|---|---------------|--|---------------|---|----------------|--|----------------|----------|
| | 5 Uhr nachm. | 10 Uhr abends | 11 Uhr abends | 4 Uhr morgens | | 7 Uhr morgens | | 10 Uhr morgens | | 11 Uhr mittags | |
| | Temp. | Temp. | Temp. | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion |
| 1 | 37,8 | 37,8 | | 37,6 | — | 37,9 | — | 38,1 | — | 38,1 | — |
| 2 | 37,9 | 37,9 | | 37,7 | — | 38,3 | — | 38,1 | — | 38,2 | — |
| 3 | 38,5 | 38,6 | | 38,4 | ++ | 38,6 | ++ unteres Augenlid ge- schwollen | 38,8 | +++ Tränen- fluß, Augenlid, glasig | 39,3 | ++ |
| 4 | 38,2 | 38,3 | Malleineinpinselung (1 Proz.) ins rechte Auge | 38,6 | +++ viel Eiter u. Tränen- fluß | 38,7 | +++ | 39,2 | +++ unteres Augenlid stark ge- schwollen, Nasen- ausfluß | 40,4 | ++ |
| 5 | 37,9 | 37,9 | | 38,1 | ++ | 37,6 | +++ schmerz- haft | 38,2 | +++ Augenlid gallertig | 38,7 | ++++ |
| 6 | 38,3 | 37,9 | | 37,6 | +++ | 38,3 | +++ | 38,9 | +++ schmerz- haft | 40,1 | +++ |
| 7 | 37,7 | 37,7 | | 37,8 | — unteres Augenlid ge- schwollen | 37,9 | ++ etwas Eiter | 37,9 | ++ Augenlid gallertig | 38,2 | ++ |
| 8 | 37,8 | 37,9 | | 37,3 | + | 36,9 | ++ | 37,3 | ++ Nasen- ausfluß | 39,1 | ++ |

dürfte. Es genügt daher zur Rotzdiagnose die Beobachtung des mit Mallein behandelten Auges nach Ablauf von 16—20 Stunden; bei zweifelhafter Reaktion muß die Malleinprobe auf demselben Auge etwa 12 Stunden später wiederholt werden und deren Ausfall nach 16—20 Stunden festgestellt werden.

3. 85 Pferde aus Chludowo, Kreis Posen Ost.

Erster Versuch.

Der Pferdebestand des Ansiedlungsgutes Chludowo, Kreis Posen Ost, setzte sich zusammen aus 96 Pferden. 2 Pferde dieses Bestandes waren bereits vor der Untersuchung wegen Rotzverdacht getötet und bei der Obduktion rotzig befunden worden, weitere 3 Pferde zeigten äußerlich sichtbare Veränderungen, die auf rotzige Erkrankung hindeuten und waren in einem besonderen Stalle isoliert. Die Pferde des Gutes waren, wie folgt, untergebracht:

- | | |
|------------------------|--------------------------|
| 1. Im Rotzstall | 3. Im Arbeitsstall |
| die 3 Pferde No. 3—5. | die 75 Pferde No. 13—87. |
| 2. Im Kutschstall | 4. Im Fohlenstall |
| die 7 Pferde No. 6—12. | die 9 Pferde No. 88—96. |

Tabelle 3. Ackerstall.

| | | | |
|------|-----|--------|-----|
| | | Kammer | |
| 13 | 14 | 15 | 16 |
| 17 | 18 | 19 | 20 |
| 21 | 22 | 23 | 24 |
| 25 | 26 | 27 | 28 |
| 29 | 30 | 31 | 32 |
| Gang | | | |
| 33 | 34 | 35 | 36 |
| 37 | 38 | 39 | 40 |
| 41 | 42 | 43 | 44 |
| 45 | 46 | 47 | 48 |
| 49 | 50 | 51 | 52 |
| Gang | | | |
| 53 | 54 | 55 | 56 |
| 57 | 58 | 59 | 60 |
| 61 | 62 | 63 | 64 |
| 65 | 66 | 67 | 68 |
| 69 | 70 | 71 | 72 |
| Gang | | | |
| 73 | 74 | 75 | 76 |
| 77 | 78 | 79 | 80 |
| 81 | 82 | 83 | 84 |
| 85 | 86 | 87 | |
| | (4) | (3) | (3) |
| | (1) | (2) | |

Die Aufstellung der 76 Arbeitspferde ist aus der vorstehenden Tabelle III zu ersehen.

Da die Fohlen No. 88—96 sehr ungebärdig waren und ihre fortlaufende Untersuchung mit großen Zeitverlusten verbunden gewesen wäre, so wurde von einer Malleinisation dieser Tiere abgesehen und lediglich bei den übrigen 6 Kutsch- und 79 Arbeitspferden die Conjunctivalprobe ausgeführt. Es erfolgte in diesen Fällen abweichend von der Malleinisation der Pferde in Wilhelmshöh und Lappien die Malleinisation sofort im Anschluß an die erste Blutentnahme, damit das Ergebnis der Malleinisation unabhängig von dem Ergebnis der Blutuntersuchung festgestellt werden konnte. Die frühzeitige Malleinisation ermöglichte ferner eine längere Beobachtung der malleinisierten Pferde und gestattete den Nachweis, ob ein etwaiger Einfluß der Malleinisation auf die Agglutinations- bzw. Bindungswerte des Blutes rotziger Pferde durch eine zweite Untersuchung ausgeübt wurde.

Am 7. Februar nachmittags wurde sämtlichen Pferden das zur Untersuchung notwendige Blut entnommen und gleichzeitig am Nachmittag und am Abend die Temperatur der 85 für die Conjunctivalprobe in Betracht kommenden Pferde festgestellt. Am Abend desselben Tages um 11 Uhr erhielten sämtliche Pferde mit Hilfe eines Pinsels in das rechte Auge eine 1-proz. Lösung Malleinum siccum Foth eingestrichen. Die behandelten Pferde wurden an den darauf folgenden 3 Tagen auf das genaueste beobachtet, wobei gleichzeitig in gewissen Zwischenräumen die Temperaturen festgestellt wurden. Auch hierbei verfuhr man mit der größten Sorgfalt und prüfte in all den Fällen, in denen sich Temperaturschwankungen ergeben hatten, durch nochmaliges Messen mit Hilfe von zwei bis drei Thermometern die ermittelten Temperaturen nach.

a) Die Lokalreaktion.

Schon am nächsten Morgen um 4 Uhr, also etwa 5 Stunden nach der Einpinselung, zeigten $\frac{2}{3}$ der später als rotzig erkannten Pferde einen gelben, eitrig-flockigen Ausfluß. Nur die 10 Pferde C 26, 37, 45, 61, 64, 67, 74, 75, 81 und 82 wiesen ein serös-schleimiges Sekret auf. Um 8 Uhr, also 8 bis 9 Stunden nach der Einpinselung, war der Ausfluß durchschnittlich überall stärker geworden und hatte auch bei etwa der Hälfte der vorher nicht reagierenden Pferde die typische eiterähnliche Beschaffenheit angenommen. Außerdem hatte sich bei Pferd C 15 ein serös schleimiger Ausfluß eingestellt, um 12 Uhr waren bei Pferd C 87 ähnliche Erscheinungen aufgetreten. Durchschnittlich auf derselben Höhe stand dann die Lokalreaktion um 12 und 6 Uhr und nahm bei einigen Pferden später noch an Stärke zu.

Am Abend desselben Tages um 9 Uhr erhielten die Pferde nochmals eine Einpinselung einer 1-proz. Malleinlösung, und zwar sowohl auf dem rechten bereits behandelten wie auch auf dem linken unbehandelten Auge. Die Einpinselung in den rechten Lidsack wurde nur bei den Pferden C 45, 55, sowie 66 und 67 unterlassen, da dieselben am Abend bereits eine sehr starke Lokalreaktion am rechten Auge zeigten. Am nächsten Morgen um 4 Uhr hatten die Lokalreaktionen auf dem rechten Auge bei den meisten Pferden in ganz erheblichem Maße zugenommen. Dies galt vornehmlich von den Pferden C 8, 12, 16, 17, 18, 21, 23, 24, 26, 28, 37, 38, 45, 55, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 75, 76, 81, 82, 83, 84, 85 und 87. Insbesondere konnten dabei manche Pferde, deren Reaktion am ersten Tage als zweifelhaft angesprochen werden mußte, so Pferd

| No. d. Pferde | 7. 2. 1912 | | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | | |
|---------------|-----------------------|-----------------------|--|------------------------|----------|---------------------------|----------|-------------------------|----------|--|
| | 5 ^b nachm. | 10 ^b abds. | 11 ^b abds. | 4 ^b morgens | | 8 ^b vormittags | | 12 ^b mittags | | |
| | Temp. | Temp. | | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | |
| 3 | . | 38,3 | Malleinpin- selung (1-proz.) ins rechte Auge | 38,3 | ++ | 38,2 | ++++ | 39,7 | ++++ | 1. Rotz- |
| 4 | . | 38,2 | | 38,1 | ++++ | 38,7 | +++ | 38,4 | ++++ | Malleinpin- selung (1-proz.) ins r. u. l. Auge |
| 5 | . | 39,8 | | 38,7 | ++ | 38,6 | ++ | 38,7 | +++ | |
| 2. Kutsch- | | | | | | | | | | |
| 6 | 37,8 | 38,1 | Malleinpin- selung (1-proz.) ins rechte Auge | 38,0 | - | 37,8 | - | 38,1 | - | |
| 7 | 38,2 | 38,2 | | 38,0 | - | 38,1 | - | 38,0 | - | |
| 8 | 39,9 | 40,3 | | 38,6 | ++ | 38,6 | ++ | 39,1 | ++ | 38,2 |
| 9 | 37,8 | 37,8 | | 37,6 | + | 37,8 | - | 37,9 | - | 37,6 |
| 10 | 37,9 | 38,0 | | 37,9 | - | 37,8 | - | 38,2 | - | 38,2 |
| 11 | 38,2 | 37,7 | | 37,2 | - | 37,2 | - | 37,6 | - | 37,4 |
| 12 | 37,9 | 37,9 | 37,7 | ++ | 37,7 | ++ | 38,3 | ++ | 39,0 | |
| 3. Arbeits- | | | | | | | | | | |
| 13 | 38,3 | 37,9 | Malleinpin- selung (1-proz.) ins rechte Auge | 37,5 | - | 38,5 | - | 37,7 | - | 37,9 |
| 14 | 38,0 | 37,3 | | 37,8 | - | 37,9 | - | 37,5 | - | 38,5 |
| 15 | 38,3 | 38,3 | | 38,4 | - | 38,4 | + | 38,1 | - | 37,9 |
| 16 | 38,6 | 38,3 | | 38,1 | ++ | 38,5 | ++ | 39,7 | ++ | 40,0 |
| 17 | 37,8 | 37,5 | | 37,7 | ++ | 38,2 | ++ | 37,9 | ++ | 38,0 |
| 18 | 38,8 | 39,3 | | 38,7 | ++ | 39,4 | ++ | 38,8 | + | 38,6 |
| 19 | 38,4 | 38,0 | | 38,0 | - | 38,2 | - | 37,8 | - | 38,3 |
| 20 | 37,7 | 37,3 | | 37,7 | - | 38,3 | - | 37,8 | - | 37,9 |
| 21 | 38,9 | 38,8 | | 38,4 | ++ | 38,4 | + | 38,2 | ++ | 38,4 |
| 22 | 38,3 | 38,1 | | 38,1 | - | 38,2 | - | 38,2 | - | 38,1 |
| 23 | 38,7 | 38,7 | | 38,3 | ++ | 38,1 | ++ | 38,5 | + | 38,5 |
| 24 | 38,7 | 38,7 | | 38,9 | ++++ | 39,0 | ++++ | 39,7 | ++++ | 40,0 |
| 25 | 37,8 | 37,9 | 37,4 | - | 37,9 | - | 38,2 | - | 37,5 | |
| 26 | 38,1 | 38,4 | 37,8 | + | 37,8 | ++ | 37,6 | + | 38,3 | |
| 27 | 38,0 | 38,0 | 37,8 | - | 37,7 | - | 37,9 | - | 38,0 | |
| 28 | 38,1 | 38,1 | 38,1 | ++ | 38,3 | ++ | 39,2 | ++ | 39,1 | |

4.

| 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 10. 2. 1912 | |
|------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| 4 ^b morgens | | 8 ^b vormittags | | 12 ^b mittags | | 7 ^b nachm. | | 4 ^b morgens | |
| Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Reaktion | Reaktion | Reaktion | Reaktion |
| stall. | | | | | | | | | |
| 39,7 | r. ++ | 37,7 | r. +++++ l. ++ | 38,7 | r. +++++ l. ++ | . | . | . | . |
| 38,2 | . | 38,1 | r. +++ l. + | 38,5 | r. +++++ l. ++ | . | . | . | . |
| 38,5 | r. ++++ | 38,7 | r. +++++ l. + | 38,6 | r. +++ l. ++ | . | . | . | . |
| stall. | | | | | | | | | |
| 37,9 | r. - l. - | 37,9 | r. - l. - | . | . | . | . | . | . |
| 37,3 | r. - l. - | 37,8 | r. - l. - | 39,3 | . | . | . | . | . |
| 38,7 | r. +++++ l. ++ | 39,1 | r. +++++ l. +++++ | 39,8 | r. +++++ l. +++ | . | . | . | . |
| 37,4 | r. - l. - | 37,6 | r. - l. - | 38,8 | . | . | . | . | . |
| 37,4 | r. - l. - | 37,8 | r. - l. - | . | . | . | . | . | . |
| 37,1 | r. - l. - | 37,1 | r. - l. - | . | . | . | . | . | . |
| 38,6 | r. +++++ l. +++++ | 38,7 | r. +++++ l. ++ | 38,2 | r. +++++! l. ++ | . | . | . | . |
| stall. | | | | | | | | | |
| 37,8 | r. - l. - | 37,7 | r. - l. - | 37,4 | r. - l. - | r. - l. - | . | . | . |
| 37,6 | r. - l. - | 37,6 | r. - l. - | 37,5 | r. - l. - | r. - l. - | . | . | . |
| 38,8 | r. + l. - | 38,8 | r. + l. - | 38,3 | r. - l. - | r. + l. - | r. - l. - | . | . |
| 40,3 | r. +++++ l. ++ | 39,5 | r. +++++ l. ++ | 39,7 | r. +++++ l. +++++ | r. +++++ l. +++++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ |
| 38,1 | r. +++++ l. ++ | 38,1 | r. +++++ l. ++ | 37,2 | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ |
| 38,7 | r. +++++ l. ++ | 38,4 | r. +++++ l. ++ | 38,3 | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ |
| 37,8 | r. - l. - | 38,1 | r. - l. - | 38,2 | r. - l. - | r. - l. - | . | . | . |
| 37,1 | r. - l. - | 37,4 | r. - l. - | 37,3 | r. - l. - | r. - l. - | . | . | . |
| 38,7 | r. +++++ l. ++ | 38,3 | r. ++ l. ++ | 38,5 | r. +++++ l. ++ | r. ++ l. + | r. ++ l. - | r. ++ l. - | r. ++ l. - |
| 37,7 | r. - l. - | 37,4 | r. - l. - | 37,3 | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - |
| 38,8 | r. +++++ l. +++++ | 38,7 | r. +++++ l. ++ | 39,0 | r. +++++ l. +++++ | r. +++++ l. +++++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ |
| 39,7 | r. +++++ l. +++++ | 39,2 | r. +++++ l. ++ | 39,5 | r. +++++ l. +++++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ |
| 37,8 | r. - l. - | 37,9 | r. - l. - | 37,7 | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - |
| 38,8 | r. +++++ l. - | 38,0 | r. +++++ l. + | 38,5 | r. +++++ l. - | r. +++++ l. - | r. +++++ l. - | r. +++++ l. - | r. +++++ l. - |
| 37,9 | r. - l. - | 37,5 | r. - l. - | 37,7 | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - | r. - l. - |
| 38,8 | r. +++++ l. ++ | 38,8 | r. +++++ l. ++ | 39,1 | r. +++++ l. +++++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ | r. +++++ l. ++ |

Generated on 2019-09-14 21:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/osu.32435070754429
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

| No. d. Pferde | 7. 2. 1912 | | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | |
|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|----------|---------------------------|----------|-------------------------|----------|-----------------------|--|
| | 5 ^a nachm. | 10 ^a abds. | 11 ^a abds. | 4 ^a morgens | | 8 ^a vormittags | | 12 ^a mittags | | 6 ^a abends | |
| | Temp. | Temp. | | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | |
| 29 | 37,9 | 37,7 | | 37,6 | — | 38,0 | — | 37,9 | — | 38,0 | |
| 30 | 38,4 | 38,2 | | 38,1 | — | 38,1 | — | 38,2 | — | 38,1 | |
| 31 | 38,3 | 37,9 | | 37,8 | — | 37,8 | — | 37,5 | — | 37,7 | |
| 32 | 37,3 | . | | . | — | . | — | . | — | . | |
| 33 | 38,2 | 38,3 | | 38,1 | — | 38,1 | — | 37,9 | — | 38,0 | |
| 34 | 38,2 | 37,9 | | 37,7 | — | 37,7 | — | 37,8 | — | 38,0 | |
| 35 | 37,9 | 37,9 | | 37,9 | — | 37,9 | — | 37,8 | — | 37,7 | |
| 36 | 38,2 | 38,0 | | 37,9 | — | 38,1 | — | 38,4 | — | 37,9 | |
| 37 | 37,5 | 37,8 | | 38,3 | + | 37,9 | ++ | 38,4 | — | 38,8 | |
| 38 | 37,7 | 38,1 | | 37,6 | +++ | 37,8 | ++ | 37,6 | — | 38,0 | |
| 39 | 38,3 | 38,1 | | 38,2 | — | 38,1 | — | 38,3 | — | 38,4 | |
| 40 | 37,9 | 37,8 | | 38,0 | — | 38,2 | — | 38,2 | — | 38,2 | |
| 41 | 37,9 | 38,3 | | 38,1 | — | 38,4 | — | 37,9 | — | 38,5 | |
| 42 | 37,5 | 37,8 | | 38,1 | — | 38,3 | — | 38,2 | — | 38,3 | |
| 43 | 37,7 | 38,0 | | 38,1 | — | 38,1 | — | 37,8 | — | 37,6 | |
| 44 | 37,5 | 37,5 | | 37,6 | — | 37,6 | — | 37,6 | — | 37,7 | |
| 45 | 37,6 | 38,1 | | 38,4 | + | 38,9 | ++ | 39,6 | +++ | 39,7 | |
| 46 | 37,6 | 37,7 | | 37,4 | — | 37,7 | — | 37,8 | — | 37,8 | |
| 47 | 38,2 | 38,0 | | 37,8 | — | 37,8 | — | 37,9 | — | 37,8 | |
| 48 | 37,8 | 37,6 | | 37,9 | — | 37,8 | — | 37,9 | — | 38,0 | |
| 49 | 37,9 | 37,8 | | 37,8 | — | 38,0 | — | 37,7 | — | 38,1 | |
| 50 | 37,9 | 37,9 | | 37,5 | — | 38,0 | — | 38,1 | — | 38,0 | |
| 51 | 37,9 | 37,8 | | 38,0 | — | 38,0 | — | 37,6 | — | 37,2 | |
| 52 | 37,8 | 37,8 | | 37,7 | — | 37,5 | — | 37,5 | — | 37,5 | |
| 53 | 37,9 | 38,3 | | 38,1 | — | 38,1 | — | 37,7 | — | 38,0 | |
| 54 | 37,9 | 38,0 | | 38,0 | — | 37,9 | — | 38,0 | — | 37,4 | |
| 55 | 38,6 | 38,5 | | 38,3 | ++ | 38,7 | +++ | 40,2 | ++++ | 40,6 | |
| 56 | 38,7 | 38,6 | | 38,4 | — | 38,0 | — | 38,1 | — | 37,9 | |
| 57 | 38,1 | 38,3 | | 38,1 | — | 38,3 | — | 38,3 | — | 37,9 | |
| 58 | 38,3 | 37,9 | | 38,1 | — | 38,2 | — | 38,4 | — | 38,0 | |

Malleinimpfung (1-proz.) ins rechte Auge

Malleinimpfung (1-proz.) ins rechte und linke Auge

| 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | 10. 2. 1912 |
|------------------------|----------|---------------------------|----------|-------------------------|----------|-----------------------|------------------------|
| 4 ^h morgens | | 8 ^h vormittags | | 12 ^h mittags | | 7 ^h nachm. | 4 ^h morgens |
| Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Reaktion | Reaktion |
| 37,8 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| . | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,9 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 38,9 | r. +++++ | 39,3 | r. +++++ | 38,8 | r. +++++ | r. +++++ | r. +++++ |
| | l. ++ | | l. ++ | | l. +++++ | l. +++++ | l. +++++ |
| 38,7 | r. +++++ | 39,1 | r. +++++ | 38,3 | r. +++++ | r. +++++ | r. +++++ |
| | l. ++ | | l. ++ | | l. ++ | l. ++ | l. — |
| 37,8 | r. — | 37,6 | r. — | 37,7 | r. — | r. — | r. — |
| | l. — | | l. — | | l. — | l. — | l. — |
| 37,8 | r. — | 38,1 | r. — | 37,9 | r. — | r. — | r. — |
| | l. — | | l. — | | l. — | l. — | l. — |
| 37,9 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,4 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,5 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 39,1 | r. +++++ | 39,0 | r. +++++ | 39,9 | r. +++++ | r. +++++ | r. +++++ |
| | l. ++ | | l. ++ | | l. ++ | l. +++++ | l. +++++ |
| 37,7 | r. — | 37,7 | r. — | 37,3 | r. — | r. — | r. — |
| | l. — | | l. — | | l. — | l. — | l. — |
| 37,2 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,6 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,9 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,9 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,4 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,4 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,9 | r. — | 37,6 | r. — | 37,5 | r. — | . | . |
| | l. — | | l. — | | l. — | . | . |
| 38,0 | r. — | 38,3 | r. — | 38,0 | r. — | . | . |
| | l. — | | l. — | | l. — | . | . |
| 38,8 | r. +++++ | 39,3 | r. +++++ | 40,0 | r. +++++ | r. +++++ | r. +++++ |
| | l. ++ | | l. ++ | | l. +++++ | l. +++++ | l. +++++ |
| 37,7 | r. — | 37,5 | r. — | 37,5 | r. — | . | . |
| | l. — | | l. — | | l. — | . | . |
| 38,3 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,7 | r. — | . | . | . | . | . | . |
| | l. — | . | . | . | . | . | . |

| No. d. Pferde | 7. 2. 1912 | | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | | 8. 2. 1912 | |
|---------------|-----------------------|-----------------------|---|------------------------|----------|---------------------------|----------|-------------------------|----------|-----------------------|--|
| | 5 ^h nachm. | 10 ^h abds. | 11 ^h abds. | 4 ^h morgens | | 8 ^h vormittags | | 12 ^h mittags | | 6 ^h abends | |
| | Temp. | Temp. | | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | |
| 59 | 38,4 | 38,3 | | 38,2 | — | 38,2 | — | 38,3 | — | 38,1 | |
| 60 | 38,3 | 38,0 | | 38,4 | — | 37,9 | — | 38,0 | — | 37,8 | |
| 61 | 38,7 | 39,2 | | 38,4 | + | 38,6 | + | 39,3 | — | 37,7 | |
| 62 | 38,2 | 38,6 | | 38,6 | ++ | 39,0 | +++ | 39,3 | ++ | 39,3 | |
| 63 | 37,2 | 37,7 | | 37,7 | ++ | 38,1 | +++ | 39,2 | ++ | 38,3 | |
| 64 | 38,5 | 38,5 | | 38,1 | + | 38,1 | ++ | 39,3 | +++ | 39,3 | |
| 65 | 37,8 | 37,8 | | 38,1 | — | 38,1 | — | 38,0 | — | 38,0 | |
| 66 | 39,5 | 38,7 | | 38,2 | +++ | 38,6 | +++ | 39,1 | ++++ | 38,9 | |
| 67 | 39,8 | 40,3 | | 39,1 | + | 38,5 | ++ | 39,2 | ++ | 38,7 | |
| 68 | 37,7 | 37,3 | Malleineinimpfung (1-proz.) ins rechte Auge | 38,1 | — | 37,9 | — | 37,0 | — | 37,3 | |
| 69 | 37,7 | 38,0 | | 38,2 | — | 38,2 | — | 37,9 | — | 38,2 | |
| 70 | 37,4 | 37,7 | | 37,8 | — | 37,9 | — | 37,6 | — | 38,3 | |
| 71 | 37,6 | 37,7 | | 37,9 | — | 37,9 | — | 37,8 | — | 37,7 | |
| 72 | 37,6 | 38,1 | | 38,0 | — | 38,0 | — | 38,2 | — | 38,3 | |
| 73 | 39,2 | 38,4 | | 39,7 | ++++ | 38,9 | +++ | 39,0 | ++ | 39,3 | |
| 74 | 37,8 | 40,2 | | 38,6 | + | 38,3 | ++ | 39,7 | ++ | 38,5 | |
| 75 | 38,7 | 38,7 | | 38,9 | + | 38,8 | ++ | 38,9 | ++ | 39,3 | |
| 76 | 38,2 | 37,7 | | 38,3 | ++ | 38,4 | ++ | 38,6 | ++ | 38,6 | |
| 77 | 37,6 | 37,7 | | 38,0 | — | 38,1 | — | 37,8 | — | 38,0 | |
| 78 | 37,5 | 37,9 | 37,7 | — | 37,9 | — | 37,9 | — | 38,2 | | |
| 79 | 37,4 | 37,8 | 37,6 | — | 37,9 | — | 37,7 | — | 37,2 | | |
| 80 | 38,2 | 38,3 | 38,1 | — | 37,8 | — | 38,4 | — | 38,1 | | |
| 81 | 38,2 | 37,9 | 38,0 | + | 37,9 | ++ | 38,5 | + | 38,5 | | |
| 82 | 38,9 | 38,5 | 38,4 | + | 38,3 | ++ | 39,1 | ++ | 38,8 | | |
| 83 | 37,5 | 38,0 | 37,6 | ++ | 37,6 | ++ | 38,5 | ++ | 38,5 | | |
| 84 | 38,5 | 38,8 | 38,5 | ++ | 38,6 | ++ | 39,5 | ++ | 39,1 | | |
| 85 | 38,0 | 38,3 | 38,3 | ++ | 38,1 | +++ | 38,8 | ++ | 39,5 | | |
| 86 | 37,6 | 38,2 | 37,9 | ++ | 38,4 | ++ | 38,3 | ++ | 38,4 | | |
| 87 | 37,6 | 37,9 | 38,0 | — | 37,9 | — | 38,2 | + | 38,2 | | |

Malleineinimpfung (1-proz.) ins rechte und linke Auge

8. 2. 1912
 4 morg
 6p Rea
 59 r.
 60 r.
 61 r.
 62 r.
 63 r.
 64 r.
 65 r.
 66 r.
 67 r.
 68 r.
 69 r.
 70 r.
 71 r.
 72 r.
 73 r.
 74 r.
 75 r.
 76 r.
 77 r.
 78 r.
 79 r.
 80 r.
 81 r.
 82 r.
 83 r.
 84 r.
 85 r.
 86 r.
 87 r.

| 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | | 9. 2. 1912 | 9. 2. 1912 |
|------------------------|------------------|---------------------------|------------------|-------------------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| 4 ^b morgens | | 8 ^b vormittags | | 12 ^b mittags | | 7 ^b nachm. | 4 ^b morgens |
| Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Temp. | Reaktion | Reaktion | Reaktion |
| 38,1 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,8 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 38,9 | r. ++ l. ++ | 38,1 | r. ++ l. ++ | 38,6 | r. — l. ++ | r. — l. ++ | r. — l. + |
| 39,2 | r. +++ l. ++ | 39,5 | r. ++ l. +++ | 39,1 | r. ++ l. +++ | r. + l. ++ | r. ++ l. ++ |
| 38,2 | r. +++ l. +++ | 38,2 | r. +++ l. ++ | 38,3 | r. +++ l. +++ | r. +++ l. +++ | r. +++ l. ++ |
| 39,1 | r. +++ l. ++ | 39,2 | r. +++ l. +++ | 40,1 | r. +++ l. +++ | r. +++ l. +++ | r. +++ l. +++ |
| 37,8 | r. — l. — | 38,1 | r. — l. — | 37,6 | r. — l. — | r. — l. — | r. — l. — |
| 38,4 | r. +++ l. ++ | 38,7 | r. +++ l. ++ | 38,5 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ |
| 39,0 | r. +++ l. ++ | 39,2 | r. +++ l. ++ | 39,3 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ |
| 37,9 | r. — l. — | 37,2 | r. — l. — | 37,3 | r. — l. — | r. — l. — | r. — l. — |
| 38,1 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 38,2 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,7 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 37,9 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 38,7 | r. ++ l. ++ | 37,6 | r. ++ l. ++ | 39,1 | r. ++ l. ++ | r. + l. + | r. + l. + |
| 38,7 | r. ++ l. ++ | 38,3 | r. ++ l. ++ | 38,7 | r. ++ l. ++ | r. ++ l. ++ | r. ++ l. + |
| 38,7 | r. +++ l. + | 38,3 | r. ++ l. ++ | 38,8 | r. +++ l. ++ | r. ++ l. ++ | r. ++ l. + |
| 39,0 | r. +++ l. — | 38,8 | r. +++ l. — | 38,7 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. + | r. +++ l. — |
| 37,6 | r. — l. — | 37,3 | r. — l. — | 37,7 | r. — l. — | . | . |
| 37,4 | r. + l. — | 37,4 | r. — l. + | 37,6 | r. — l. — | . | . |
| 37,2 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 38,1 | r. — l. — | . | . | . | . | . | . |
| 39,0 | r. +++ l. ++ | 39,5 | r. +++ l. ++ | 38,7 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. +++ | r. +++ l. ++ |
| 39,6 | r. +++ l. — | 39,4 | r. +++ l. ++ | 39,4 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ |
| 39,6 | r. +++ l. ++ | 39,0 | r. +++ l. ++ | 39,4 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ |
| 39,3 | r. +++ l. ++ | 39,3 | r. +++ l. ++ | 39,6 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ | r. ++ l. +++ |
| 38,5 | r. +++ l. ++ | 38,5 | r. +++ l. ++ | 39,0 | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ |
| 38,7 | r. ++ l. ++ | 38,5 | r. +++ l. +++ | 38,3 | . | r. +++ l. +++ | r. ++ l. ++ |
| 39,1 | r. +++ l. ++ | 38,6 | r. +++ l. + | 39,1 | . | r. +++ l. ++ | r. +++ l. ++ |

Generated on 2019-09-14 21:17 GMT / http://hdl.handle.net/2027/osu.32435070754429
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

C 8, 16, 18, 21, 23, 26, 37, 61, 67, 81, 82 und 87, als typisch reagierend bezeichnet werden. Die Reaktion auf dem linken Auge war, wie ich dies auch bei den früheren Untersuchungen beobachtet hatte, in der Mehrzahl der Fälle gering, während die starke Reaktion auf dem rechten Auge während des ganzen folgenden Tages bestehen blieb und sich zum Teil noch vermehrte. Beide Augenlider waren geschwollen. Die Schleimhaut des unteren Angenlides trat deutlich hervor, eitriges Sekret hing zwischen den Wimpern des oberen und unteren Angenlides herunter und verdeckte den Augapfel vollkommen. Dabei bestand starke Schmerzhaftigkeit.

b) Temperaturveränderungen.

Was die Temperaturveränderungen anbetrifft, so läßt sich zweifellos in der Mehrzahl der Fälle ein inniger Zusammenhang zwischen der Temperaturerhöhung und der Malleinreaktion feststellen. Wie aus der Tabelle 4, in welcher die Einzeltemperaturen angegeben sind und auch aus der Tabelle 9, welche nur die Höchsttemperaturen nach der Malleinreaktion verzeichnet, zu ersehen ist, haben alle reagierenden Pferde, mit Ausnahme von einem eine mehr oder weniger hohe Temperatursteigerung gezeigt, während die Temperaturen sämtlicher nicht reagierenden Pferde sich unter $38,5^{\circ}$ bewegten, mit Ausnahme des Pferdes No. 51, das eine Temperatur von $38,6^{\circ}$ aufwies. Es stimmt dies mit den von Schnürer gemachten Beobachtungen überein, nach welchen Temperaturerhöhungen über $38,5^{\circ}$ nach der Conjunctivalprobe als verdächtig anzusehen sind.

Zusammenfassung.

Der Ausfall der Conjunctivalprobe wurde lediglich nach den lokalen Veränderungen und unabhängig von den Temperatursteigerungen beurteilt. Um hierüber ein möglichst objektives und mehrfach kontrolliertes Urteil zu gewinnen, besichtigte ich in den in der Tabelle IV angegebenen Zwischenräumen die Augen und ließ die Stärke der Reaktion durch Kreuze notieren ohne Kenntnis meinerseits, welche Werte sich bei der vorhergehenden Untersuchung ergeben hatten. Hiernach zeigten folgende 34 Pferde positive Conjunctivalreaktionen:

C 3, 4, 5, 8, 12, 16, 17, 18, 21, 23, 24, 26, 28, 37, 38, 45, 55, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 73, 74, 75, 76, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87.

Nach Abschluß der Malleinisation ließ ich mir das Ergebnis der durch Dr. Weber ausgeführten Blutuntersuchung telephonisch mitteilen, wobei sich herausstellte, daß auch nach dem Ergebnis der Komplementbindungsreaktion alle vorbezeichneten Pferde mit Ausnahme des Pferdes C 21 als rotzverdächtig anzusehen waren und daß ferner das Pferd C 18 nur eine äußerst geringe Komplementbindungsreaktion zeigte. Außerdem waren die Pferde C 15 und 40 des Verzeichnisses auf Grund des Bindungswertes des Blutes dieser Tiere als rotzverdächtig anzusehen. Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich, hatte das Pferd C 18 eine sehr starke Malleinreaktion gezeigt. Bei dem Pferde C 21 konnte man von einer mittleren Reaktion sprechen, das Pferd C 15 dagegen wies lediglich einen vermehrten serös-schleimigen Ausfluß auf und bei dem Pferde C 40 waren die Augen während der ganzen Beobachtungszeit klar geblieben und keine Schwellung der Augenlider zu beobachten gewesen. Um Irrtümer, die eventuell bei der Blutentnahme vorgekommen sein konnten, auszuschließen, wurde den Pferden C 15, 18, 21 und 40 nochmals Blut entnommen. Die Untersuchung des Blutes der Pferde C 15, 18 und 40 ergab genau dieselben Bindungswerte wie früher, der Bindungswert des

Blutes des Pferdes C 21 dagegen war inzwischen auf 0,1 gestiegen. Es war hiernach anzunehmen, daß sich das Pferd C 21, wie auch durch die Obduktion bestätigt werden konnte, zur Zeit der ersten Blutentnahme am 7. Febr. noch im Inkubationsstadium befand, im welchem es wohl bereits auf Mallein reagierte und sein Blut einen deutlichen Agglutinationswert zeigte, der Bindungswert aber noch nicht gestiegen war. Es bestätigt sich hiernach meine frühere Beobachtung, daß ein positiver Ausfall der Agglutinationsprüfung und Conjunctivalprobe früher als die Komplementbindungsreaktion frisch rotzig erkrankter Pferde zu beobachten ist.

Zweiter Versuch.

8 Tage nach der ersten Malleinisation, also am 15. Febr. mittags um 2 Uhr wurde in die Augenlider beider Augen der auf Grund der Komplementbindungsreaktion als rotzverdächtig bezeichneten 38 Pferde mit Ausnahme der beiden Fohlen C 90 und 91 und außerdem noch weiterer 8 gesunder Pferde wiederum Mallein eingepinselt. Hierbei wiesen die Pferde C 15, 40 und 62 innerhalb einer 24-stündigen und die Pferde C 73 und 87 innerhalb einer 48-stündigen Beobachtungszeit keine Reaktionen auf. Auch waren die Reaktionen bei den übrigen Tieren gegenüber den Reaktionen nach der ersten Malleinisation durchschnittlich viel geringer. Es hatten somit 3 nach der ersten Malleinisation typisch reagierende Pferde (C 62, 73, 87) überhaupt keine und alle übrigen rotzigen Pferde abgeschwächte Reaktionen gezeigt. Man gewinnt hiernach den Eindruck, als ob durch die Malleinisation in manchen Fällen eine gewisse Gewöhnung eintritt, welche eine Abschwächung der Reaktion bei späteren Wiederholungen der Malleinisation zur Folge hat.

Zusammenfassung.

Es haben hiernach von 36 rotzigen Pferden 34 eine Malleinreaktion bei der Conjunctivalprobe gezeigt, die sich bei der Zerlegung sämtlich als rotzig erwiesen. Nicht ermittelt wurden die auf Grund der Blutuntersuchung getöteten und für rotzig befundenen Pferde C 15 und C 40. Die Reaktion wird verstärkt durch eine der ersten 20—24 Stunden später folgende zweite Malleinisation desselben Auges.

Die malleinisierten und reagierenden rotzkranken Pferde wiesen sämtlich eine Temperatursteigerung über 38,5° auf. Diese Temperaturveränderung wurde bei fast allen gesunden Pferden vermißt. Zur Beurteilung der Reaktion kann von Temperaturmessungen abgesehen werden.

Wird bei malleinisierten rotzigen Pferden nach Verlauf von 8 Tagen eine zweite Malleinisation ausgeführt, so sind die Reaktionen durchschnittlich geringer und bleiben in einigen Fällen ganz aus.

4. 5 Pferde aus Chludowo, Kreis Posen (Ost).

Durch die zweite Blutuntersuchung des Pferdebestandes von Chludowo wurden 5 Pferde als rotzverdächtig ermittelt. Bei diesen führte auf meine Veranlassung Kreistierarzt Dr. Bartels in Posen die Conjunctivalprobe am 22. Febr. 1912 aus. 20 Stunden später, nachmittags um $\frac{3}{4}$ Uhr und am 23. Febr. nachmittags um $\frac{1}{2}$ Uhr wiesen die Pferde C 36 und 93 eine starke Reaktion auf, das Pferd C 89 hatte einen linsengroßen Eiterpfropfen im inneren Augenwinkel und bei den Pferden C 92 und 94 waren keine Veränderungen wahrnehmbar. Durch Dr. Bartels wurden 24 Stunden vor der Tötung die betreffenden Pferde nochmals malleinisiert. Das Ergebnis der Conjunctivalprobe wurde am Tage der Tötung durch Dr. Bartels und meinen ersten Assistenten Dr. Weber, den ich an der Obduktion

der Pferde teilnehmen ließ, festgestellt: Hierbei zeigten die Pferde C 36, 89 und 93 wieder dieselben Reaktionen, wie vorher, außerdem wies das Pferd C 94 einen geringen serös-schleimigen Ausfluß auf, bei Pferd C 92 waren keine Veränderungen aufgetreten: Die Stärke der Reaktion ist aus Tabelle 5 ersichtlich. Die Obduktion der 5 Pferde ergab einwandfreie frisch rotzige Veränderungen.

Tabelle 5.

| No. der Pferde | Agglutinationswert | Bindungswert | Erste Malleinreaktion | Zweite Malleinreaktion |
|----------------|--------------------|--------------|-----------------------|------------------------|
| C 36 | 1000 | 0,05 | ++++ | ++++ |
| C 89 | 2000 | 0,01 | ++ | ++ |
| C 92 | 600 | 0,1 | — | — |
| C 93 | 2000 | 0,05 | ++++ | ++++ |
| C 94 | 1500 | 0,05 | — | + |

Es haben hiernach die 3 Pferde C 36, C 89 und C 93 eine positive Reaktion gezeigt.

Der Einwand, daß etwa die Pferde wegen der früher ausgeführten Conjunctivalprobe jetzt keine Reaktion gezeigt hätten, fällt weg, da bei den in Frage kommenden Fohlen C 89, C 92, C 93 und C 94, wie aus dem vorigen Bericht ersichtlich, wegen der Ungebärdigkeit überhaupt keine Malleinisation ausgeführt wurde. Es könnte ferner eingewendet werden, daß die Reaktion zur Zeit der Beobachtung schon abgelaufen war. Abgesehen davon, daß nach meinen früheren Untersuchungen stets nach 16—20 Stunden eine etwa vorhandene Reaktion mit Sicherheit festzustellen ist, sind die genannten Pferde dauernd durch den Verwalter und den Inspektor des Gutes beobachtet worden. Beide hatten für die Malleinisation größtes Interesse und hatten sich bei den früheren Untersuchungen ein gutes Urteil über den Ausfall einer positiven und negativen Reaktion angeeignet. Von beiden wurde die Angabe gemacht, daß die Pferde 92 und 94 überhaupt keine Veränderung an den Augen gezeigt hätten.

Zusammenfassung.

Es haben in diesem Falle von 5 Pferden, welche sämtlich eine typische Komplementbindungsreaktion zeigten und bei denen in vier Fällen das Ergebnis der Agglutination gleichfalls für Rotz sprach, nur 3 Pferde eine typische Malleinreaktion gezeigt.

Schlußsätze.

Es wurde im ganzen bei 133 Pferden die Conjunctivalprobe ausgeführt. Unter diesen Pferden befanden sich 74 gesunde und 59 rotzkranken Tiere. Von den 59 rotzigen Tieren zeigten 53 eine positive Conjunctivalreaktion, während keines der gesunden Pferde reagierte. Es beträgt mithin der Prozentsatz der mit Hilfe der Conjunctivalprobe ermittelten rotzigen Pferde 90 Proz. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse in den einzelnen Beständen gibt folgende Tabelle (p. 511).

1) Es haben 90 Proz. der rotzigen Pferde eine positive Conjunctivalreaktion gezeigt.

2) Sämtliche gesunden Pferde reagierten nicht auf Mallein bei Ausführung der Conjunctivalprobe.

3) Die auf Mallein reagierenden Pferde zeigen mit wenigen Ausnahmen eine Temperaturerhöhung über 38,5°, die bei gesunden Tieren nicht beobachtet wird.

4) Aus praktischen Gründen können Temperaturmessungen bei Ausführung der Conjunctivalprobe unterbleiben.

5) Das Ergebnis der Conjunctivalprobe ist 14—20 Stunden nach Einpinselung einer 1-proz. Malleinlösung festzustellen.

6) Jeder mit Eiterflocken versehene Ausfluß ist als positive Reaktion anzusehen.

7) In zweifelhaften Fällen empfiehlt sich die Wiederholung der Conjunctivalprobe auf demselben Auge nach 24 Stunden.

Tabelle 6.

| Bestand | Zahl der Pferde | Gesund | Zahl der reagierenden gesunden Pferde | Rotzig | Zahl der reagierenden rotzigen Pferde |
|----------------|-----------------|--------|---------------------------------------|--------|---------------------------------------|
| 1. Wilhelmshöh | 35 | 23 | 0 | 12 | 10 |
| 2. Lappinen | 8 | 2 | 0 | 6 | 6 |
| 3. Chludowo | 85 | 49 | 0 | 36 | 34 |
| 4. Chludowo | 5 | 0 | 0 | 5 | 3 |
| Sa. | 133 | 74 | 0 | 59 | 53 = 90 Proz. |

III.

Vergleichende Untersuchungen über die diagnostische Bedeutung der Agglutinations-, Komplementbindungsmethode und Conjunctivalprobe.

1. 35 Pferde aus Wilhelmshöh (Kreis Angerburg).

Da die Malleinisierung des Pferdebestandes in Wilhelmshöh erst im Anschluß an die zweite Blutentnahme zur Ausführung gelangte, so können nur diejenigen Blutuntersuchungen mit dem Ergebnis der Conjunctivalprobe verglichen werden, welche von am gleichen Tage entnommenen Blutproben stammen. Es scheiden deswegen die am 25. November 1911 ermittelten Agglutinations- und Bindungswerte aus und liegen der folgenden Betrachtung nur die am 6. Dezember 1911 — dem Tage der zweiten Blutentnahme — erzielten Werte zugrunde.

a) Die Komplementbindungsmethode.

Die Sera sämtlicher 12 bei der Zerlegung rotzig befundenen Pferde ergaben Bindungswerte, auf Grund deren die betreffenden Pferde ohne weiteres als rotzverdächtig gelten mußten. Es waren mithin 100 Proz. aller als rotzverdächtig anzusehenden Pferde tatsächlich auch mit Rotz behaftet.

b) Die Agglutinationsmethode.

Nimmt man unter Berücksichtigung der starken Ausbreitung des Rotzes in dem vorliegenden Bestande alle Pferde mit Agglutinationswerten über 600 als rotzverdächtig an, so würden 10 rotzige Pferde mit Hilfe der Agglutinationsmethode ermittelt worden sein, während bei 2 Pferden (W 23 und W 24) der Rotz nicht erkannt wäre. Mithin beträgt der Prozentsatz der als rotzig nachgewiesenen Pferde 83.

c) Die Conjunctivalprobe.

Wie aus dem Abschnitt II hervorgeht und in Tabelle 7 übersichtlich zusammengestellt ist, hatten die rotzfreien Pferde nicht reagiert; von

den 12 rotzigen Pferden zeigten dagegen 10 Stück positive Reaktion, d. h. es konnten 83 Proz. der rotzigen Pferde ermittelt werden, so daß im vorliegenden Falle die Conjunctivalprobe dieselben Resultate wie die Agglutinationsprobe gezeitigt hatte.

Tabelle 7. Wilhelmshöh.

| No. des Pferdes | 1. Blutentnahme 25. 11. 1911 | | 2. Blutentnahme 6. 12. 1911 | | 1. Malleinprobe 6. 12. 1911 | | 2. Malleinprobe 7. 12. 1911 | | 3. Blutentnahme 9. 12. 1911 | |
|--------------------|---------------------------------|----------------|--------------------------------|----------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|----------------|
| | Agglut.- Wert | Bind.- Wert | Agglut.- Wert | Bind.- Wert | Höchst- temp. | Lokale Reaktion | Höchst- temp. | Lokale Reaktion | Agglut.- Wert | Bind.- Wert |
| W 1 | 500 | — | 500 | — | 38,2 | — | . | — | 500 | — |
| W 2 | 600 | — | 600 | — | 38,5 | — | . | — | 600 | — |
| W 3 | 600 | — | 600 | — | 37,9 | — | . | — | 600 | — |
| W 4 | 500 | — | 1000 | 0,1 | 39,6 | ++ | 38,7 | +++ | 1500 | 0,1 |
| W 5 | 600 | — | 600 | — | 38,0 | — | 37,8 | — | 600 | — |
| W 6 | 500 | — | 500 | — | 37,8 | — | 38,0 | — | 500 | — |
| W 7 | 400 | — | 400 | — | 37,9 | — | 37,8 | — | 400 | — |
| W 8 | 400 | — | 400 | — | 38,4 | — | . | — | 400 | — |
| W 9 | 500 | — | 500 | — | 38,2 | — | . | — | 500 | — |
| W 10 | 500 | — | 500 | — | 37,9 | — | . | — | 500 | — |
| W 11 | 400 | — | 400 | — | 37,8 | — | . | — | 400 | — |
| W 12 | 600 | — | 600 | — | 37,9 | — | . | — | 600 | — |
| W 13 | 400 | — | 400 | — | 37,7 | — | . | — | 400 | — |
| W 14 | 600 | — | 600 | — | 38,3 | — | . | — | 600 | — |
| W 15 | 500 | — | 500 | — | 38,2 | — | . | — | 500 | — |
| W 16 | 500 | — | 500 | — | 38,2 | — | . | — | 500 | — |
| W 17 | 600 | — | 600 | — | 38,2 | — | . | — | 600 | — |
| W 18 | 600 | — | 600 | — | 38,0 | — | . | — | 600 | — |
| W 19 | 400 | — | 400 | — | 38,3 | — | . | — | 400 | — |
| W 25 | 500 | — | 500 | — | 37,8 | — | . | — | 500 | — |
| W 26 | 400 | — | 400 | — | 37,9 | — | . | — | 400 | — |
| W 37 | 300 | — | 300 | — | 38,2 | — | . | — | 300 | — |
| W 38 | 600 | — | 600 | — | 37,8 | — | . | — | 600 | — |
| W 39 | 500 | — | 500 | — | 38,4 | — | . | — | 500 | — |
| W 20 | 1500 | 0,05 | 1500 | 0,05 | 40,0 | ++ | 37,7 | + | 1500 | 0,05 |
| W 21 | 500 | 0,4 | 800 | 0,2 | 38,9 | ++ | 39,6 | ++ | 800 | 0,2 |
| W 23 | 600 | 0,05 | 600 | 0,05 | 39,3 | ++ | 39,0 | + | 600 | 0,1 |
| W 24 | 800 | 0,2—0,3 | 600 | 0,3 | 39,4 | +++ | 39,0 | ++ | 600 | — |
| W 27 | 1500 | 0,02 | 1500 | 0,02 | 38,9 | ++ | 38,8 | ++ | 1500 | 0,05 |
| W 28 | 800 | 0,4 | 2000 | 0,2 | 38,6 | — | 38,0 | — | 2000 | 0,2 |
| W 29 | 800 | 0,05 | 800 | 0,1 | 38,4 | — | 37,6 | — | 800 | 0,1 |
| W 30 | 1500 | 0,02 | 1500 | 0,02 | 38,2 | ++ | 38,2 | ++ | 1500 | 0,02 |
| W 31 | 1500 | 0,05 | 1500 | 0,05 | 39,2 | ++++ | 38,9 | ++++ | 1500 | 0,1 |
| W 34 | 1500 | 0,01 | 1000 | 0,02 | 39,6 | ++++ | 39,4 | ++++ | 1000 | 0,02 |
| W 36 | 1500 | 0,01 | 1500 | 0,01 | 38,3 | +++ | 38,2 | + | 1500 | 0,05 |

Aus den vorstehenden Versuchen geht mithin hervor, daß die Komplementbindungsmethode den beiden anderen hier angewandten Methoden überlegen ist. Die Conjunctivalprobe liefert dieselben Resultate wie die Agglutinationsmethode. Die Temperaturerhöhungen sind häufig nur so gering und kurze Zeit anhaltend, daß deren Ermittlung unter praktischen Verhältnissen auf Schwierigkeiten stoßen würde, da sie zahlreiche und äußerst genaue Temperaturmessungen voraussetzt. Dazu kommt, daß eine ausschlaggebende Bedeutung den Temperaturschwankungen nicht beizumessen ist, da eine geringe Temperaturerhöhung über 38,5 niemals eine negative Lokalreaktion zu einer positiven Conjunctivalreaktion und umgekehrt die fehlende Temperaturerhöhung eine positive Lokalreaktion zu einer negativen Conjunctivalreaktion stempeln wird.

Tabelle 8.

| No. des Pferdes | 1. Blutentnahme | | 2. Blutentnahme | | 1. Malleinprobe | | 2. Malleinprobe | | 3. Blutentnahme | |
|-----------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|------------------|----------------------|------------------|---|--------------------|--------------|
| | 19. 1. 1912 | | 25. 1. 1912 | | 25. 1. 1912 | | 26. 1. 1912 | | 27. 1. 1912 | |
| | Agglutinationswert | Bindungswert | Agglutinationswert | Bindungswert | Höchsttemperatur | Reaktion | Höchsttemperatur | Reaktion | Agglutinationswert | Bindungswert |
| L. 2 | 400 | — | 400 | — | 38,1 | rechtes Auge — | 37,7 | rechtes Auge — linkes Auge — | 400 | — |
| L. 3 | 400 | — | 400 | — | 38,2 | rechtes Auge — | 37,8 | rechtes Auge — linkes Auge — | 400 | — |
| L. 1 | 1500 | 0,1 | 1500 | 0,1 | 40,1 | rechtes Auge +++ | 39,6 | rechtes Auge ++++ linkes Auge ++ | 1500 | 0,1 |
| L. 4 | 800 | 0,1 | 800 | 0,1 | 40,4 | rechtes Auge +++ | 39,3 | rechtes Auge ++++ linkes Auge + | 800 | 0,1 |
| L. 5 | 2000 | 0,05 | 2000 | 0,05 | 39,1 | rechtes Auge ++++ | 38,9 | rechtes Auge ++++ linkes Auge ++ | 2000 | 0,05 |
| L. 6 | 600 | 0,05 | 600 | 0,05 | 40,2 | rechtes Auge ++++ | 40,1 | rechtes Auge ++++ linkes Auge ++ | 600 | 0,05 |
| L. 7 | 800 | 0,3 | 800 | 0,3 | 38,7 | rechtes Auge + | 39,2 | rechtes Auge +++ linkes Auge + | 800 | 0,3 |
| L. 8 | 500 | 0,1 | 500 | 0,2 | 40,3 | rechtes Auge ++ | 38,4 | rechtes Auge ++++ linkes Auge ++ | 500 | 0,2 |

2. 8 Pferde aus Lappienen, Kreis Niederung.

Vergleicht man die Agglutinations-, Komplementbindungsmethode und Conjunctivalprobe untereinander, so sind auf Grund des Ergebnisses der Komplementbindungsmethode und der conjunctivalen Malleinprobe sämtliche Pferde als rotzkrank zu bezeichnen gewesen unter Berücksichtigung des Umstandes, daß auch ein Pferd mit 0,3 in einem rotzigen Bestande als rotzverdächtig angesehen werden muß. Interessant ist, daß gerade dieses Pferd No. 7, welches eine mangelhafte Komplementbindungsreaktion zeigte, auch bei der ersten Instillation nur eine geringe Conjunctivalreaktion aufwies (vgl. Tabelle 8).

Wenn man bei Beurteilung der Agglutinationsmethode in rotzigen Beständen alle Pferde mit Agglutinationswerten über 600 als rotzverdächtig bezeichnet, so hat die Methode bei den Pferden L. 6 und L. 8 versagt und ist demnach den beiden anderen Methoden unterlegen gewesen (vgl. Tabelle 8).

Die vorstehenden Versuche zeigen, daß die conjunctivale Malleinprobe tatsächlich ein gutes Mittel zur Rotzdiagnose zu sein scheint, welches bei sachgemäßer Anwendung und Beurteilung auch in der Hand des Praktikers zur rechtzeitigen Erkennung der Rotzkrankheit gute Dienste leisten wird.

3. 85 Pferde aus Chludowo, Kreis Posen Ost.

Nach dem Ergebnis der Agglutinationsprüfung müßten die Pferde C. 40, 74, 81 und 82, welche nach dem Ausfall der Komplementbindungsmethode bzw. Conjunctivalprobe als rotzig anzusehen wären, rotzfrei sein und von den rotzfreien Pferden die Tiere C. 51 und 56 als rotzverdächtig bezeichnet werden (vgl. Tabelle 9). Es wären also von 36 rotzigen Pferden nur $32 = 88,8$ Proz. und von 49 Pferden $2 = 4$ Proz. als rotzig anzusehen.

Durch die Conjunctivalprobe konnten in dem vorliegenden Falle von 36 durch die Zerlegung erwiesenermaßen als rotzig zu bezeichnenden Pferden $34 = 94,4$ Proz. einwandfrei erkannt werden, während 2 Pferde (C. 15 und 40), welche rotzig waren, keine Reaktion zeigten (Tabelle 9). Alle übrigen Pferde, die auf Grund des Ergebnisses der Komplementbindungsmethode als rotzfrei bezeichnet werden mußten, zeigten auch nach der Conjunctivalprobe keine Reaktion. Die Reaktionen waren in der Mehrzahl außerordentlich kräftig und leicht zu erkennen; es hatte den Anschein, als ob eine nach 24 Stunden folgende zweite Malleinisation die Reaktion noch zu verstärken imstande wäre. Besonders auffallend zeigten dies die Pferde C. 81—87, welche nach der erstmaligen Malleinisation gar keine (Pferd C. 87) bzw. geringe Reaktion aufwiesen, nach der zweiten Einpinselung auf demselben Auge dagegen sehr deutlich reagierten.

Bezüglich der Temperaturmessungen stehe ich auf dem schon vorher ausgesprochenen Standpunkt, daß dieselben für die praktischen Versuche nicht notwendig sind, denn auch in diesem Falle wurden sämtliche Resultate, wie schon oben angegeben, ohne Berücksichtigung der Temperaturdifferenzen festgestellt. Da es sich ferner bei den Temperaturerhöhungen häufig nur um wenige Zehntel Grade handelte, so würden nur genaueste, aber in der Praxis äußerst zeitraubende und kostspielige Messungen für die Diagnose von Wert sein. Deshalb kann meines Erachtens die Temperatureaufnahme stets unterbleiben.

Tabelle 9.

| No. der Pferde | Agglutinationswert | Bindungswert | Malleinreaktion | Höchsttemperatur |
|-------------------------|--------------------|--------------|-----------------|------------------|
| 1. Rotzstall. | | | | |
| C. 3 | 800 | 0,2 | +++++ | 39,7 |
| C. 4 | 4000 | 0,01 | ++++ | 38,7 |
| C. 5 | 1500 | 0,05 | ++++ | 38,7 |
| 2. Kutschstall. | | | | |
| C. 6 | 200 | — | — | |
| C. 7 | 500 | — | — | |
| C. 8 | 1500 | 0,5 | +++++ | 39,1 |
| C. 9 | 300 | — | + | 37,9 |
| C. 10 | 400 | — | — | 38,2 |
| C. 11 | 600 | — | — | 37,6 |
| C. 12 | 1500 | 0,5 | +++++ | 39,0 |
| 3. Arbeitsstall. | | | | |
| C. 13 | 500 | — | — | 38,5 |
| C. 14 | 200 | — | — | 38,5 |
| C. 15 | 800 | 0,2 | + | 38,8 |
| C. 16 | 800 | 0,1 | +++++ | 40,3 |
| C. 17 | 800 | 0,2 | +++ | 38,2 |
| C. 18 | 1000 | 0,4 p. | +++++ | 39,4 |
| C. 19 | 400 | — | — | 38,3 |
| C. 20 | 300 | — | — | 38,3 |
| C. 21 | 1000 | 0,1 | ++++ | 38,7 |
| C. 22 | 600 | — | — | 38,2 |
| C. 23 | 2000 | 0,05 | +++++ | 39,0 |
| C. 24 | 2000 | 0,1 | +++++ | 40,0 |
| C. 25 | 400 | — | — | 38,2 |
| C. 26 | 1500 | 0,2 | ++++ | 38,9 |
| C. 27 | 300 | — | — | 38,0 |
| C. 28 | 1500 | 0,02 | +++++ | 39,2 |
| C. 29 | 300 | — | — | 38,0 |
| C. 30 | 400 | — | — | 38,2 |
| C. 31 | 300 | — | — | 37,8 |
| C. 32 | 200 | — | — | |
| C. 33 | 200 | — | — | 37,8 |
| C. 34 | 300 | — | — | 38,2 |
| C. 35 | 300 | — | — | 38,0 |
| C. 36 | 300 | — | — | 38,4 |
| C. 37 | 1500 | 0,05 | +++++ | 39,3 |
| C. 38 | 1500 | 0,05 | +++++ | 39,1 |
| C. 39 | 500 | — | — | 38,4 |
| C. 40 | 500 | 0,02 | — | 38,2 |
| C. 41 | 400 | — | — | 38,4 |
| C. 42 | 400 | — | — | 38,3 |
| C. 43 | 400 | — | — | 38,1 |
| C. 44 | 400 | — | — | 37,7 |
| C. 45 | 2000 | 0,05 | +++++! | 39,7 |
| C. 46 | 400 | — | — | 37,8 |
| C. 47 | 500 | — | — | 37,9 |
| C. 48 | 300 | — | — | 38,0 |
| C. 49 | 300 | — | — | 38,1 |
| C. 50 | 300 | — | — | 38,1 |
| C. 51 | 1000 | — | — | 38,6 |
| C. 52 | 400 | — | — | 37,7 |
| C. 53 | 300 | — | — | 38,1 |
| C. 54 | 500 | — | — | 38,3 |
| C. 55 | 2000 | 0,05 | +++++ | 40,6 |
| C. 56 | 800 | — | — | 38,1 |

33*

| No. der Pferde | Agglutinationswert | Bindungswert | Malleinreaktion | Höchsttemperatur |
|----------------|--------------------|--------------|-----------------|------------------|
| C. 57 | 300 | — | — | 38,3 |
| C. 58 | 300 | — | — | 38,4 |
| C. 59 | 300 | — | — | 38,3 |
| C. 60 | 300 | — | — | 38,4 |
| C. 61 | 800 | 0,2 p. | ++ | 39,3 |
| C. 62 | 1500 | 0,2 | +++ | 39,5 |
| C. 63 | 2000 | 0,1 | ++++ | 39,2 |
| C. 64 | 2000 | 0,05 | +++++ | 39,3 |
| C. 65 | 500 | — | — | 38,1 |
| C. 66 | 3000 | 0,05 | +++++ | 39,1 |
| C. 67 | 1500 | 0,05 | +++++! | 39,3 |
| C. 68 | 500 | — | — | 38,1 |
| C. 69 | 300 | — | — | 38,2 |
| C. 70 | 300 | — | — | 38,3 |
| C. 71 | 300 | — | — | 37,9 |
| C. 72 | 600 | — | — | 38,2 |
| C. 73 | 800 | 0,05 | +++ | 39,3 |
| C. 74 | 500 | 0,2 | ++ | 39,7 |
| C. 75 | 800 | 0,05 | +++ | 39,3 |
| C. 76 | 2000 | 0,02 | ++++ | 39,0 |
| C. 77 | 300 | — | — | 38,0 |
| C. 78 | 300 | — | + | 38,2 |
| C. 79 | 300 | — | — | 37,9 |
| C. 80 | 200 | — | — | 38,4 |
| C. 81 | 500 | 0,1 | ++++ | 39,5 |
| C. 82 | 600 | 0,1 | +++++ | 39,6 |
| C. 83 | 800 | 0,2 | +++++ | 39,6 |
| C. 84 | 3000 | 0,05 | ++++ | 39,5 |
| C. 85 | 800 | 0,05 | ++++ | 39,5 |
| C. 86 | 1000 | 0,2 | +++ | 38,7 |
| C. 87 | 1000 | 0,1 | +++ | 39,1 |

Zusammenfassung.

Mit Hilfe der Agglutinationsmethode wurden 88,8 Proz. der rotzigen Pferde erkannt und 2 Proz. gesunder Pferde der Rotzkrankheit verdächtigt.

Die Komplementbindungsmethode eruierte 100 Proz., die Conjunctivalprobe 94,4 Proz. rotziger Pferde. Durch die letzteren beiden Methoden wurde kein gesundes Pferd als rotzverdächtig bezeichnet.

4. 5 Pferde aus Chludowo, Kreis Posen Ost.

Aus der Tabelle 6, die hier noch einmal der Uebersicht wegen angeführt ist, ergab sich, daß alle 5 rotzigen Pferde eine positive Komple-

| No. der Pferde | Agglutinationswert | Bindungswert | I. Malleinreaktion | II. Malleinreaktion |
|----------------|--------------------|--------------|--------------------|---------------------|
| C. 36 | 1000 | 0,05 | ++++ | ++++ |
| C. 89 | 2000 | 0,01 | ++ | ++ |
| C. 92 | 600 | 0,1 | — | — |
| C. 93 | 2000 | 0,05 | ++++ | ++++ |
| C. 94 | 1500 | 0,05 | — | — |

mentbindungsreaktion, dagegen nur 4 eine Agglutinations- und 3 eine positive Conjunctivalreaktion zeigten. Das Ausbleiben der letzteren dürfte darin seine Erklärung finden, daß vermutlich sich die genannten Pferde noch in demjenigen Stadium der Inkubation befanden, in welchem sie noch nicht auf die Conjunctivalprobe reagieren. Die beiden Fälle

waren insofern ungewöhnlich, als in der Regel die Conjunctivalreaktion schon 8—10 Tage nach der rotzigen Infektion zu beobachten ist. Es wurde aber bereits von Müller, Gaehgens und Aoki, worauf an anderer Stelle hingewiesen ist, ein ähnlicher Fall beobachtet, in welchem erst nach 18 Tagen die Conjunctivalreaktion eintrat.

Schlußbetrachtung.

Aus den in 4 Versuchsreihen an einem Material von 133 Pferden, unter denen sich 59 rotzige und 74 rotzfreie Pferde befanden, erzielten Resultaten, die in der Tabelle 10 zusammengestellt sind, ergibt sich folgendes.

Tabelle 10.

| Bestand | Zahl der Pferde | Zahl der gesunden Pferde | Zahl der reagierenden gesunden Pferde | | | Zahl der rotzigen Pferde | Zahl der reagierenden rotzigen Pferde | | |
|-------------|-----------------|--------------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Agglutination | Komplementbindung | Conjunctivalreaktion | | Agglutination | Komplementbindung | Conjunctivalreaktion |
| Wilhelmshöh | 35 | 23 | 0 | 0 | 0 | 12 | 10 | 12 | 10 |
| Lappinen | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 6 | 4 | 6 | 6 |
| Chludowo | 85 | 49 | 2 | 0 | 0 | 36 | 32 | 36 | 34 |
| Chludowo | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | 5 | 3 |
| Summa | 133 | 74 | 2 = 2,7 Proz. | 0 | 0 | 59 | 50 = 84,8 Proz. | 59 = 100 Proz. | 53 = 90 Proz. |

Von den gesunden 74 Pferden reagierten 2, d. s. 2,7 Proz., mit Hilfe der Agglutinationsmethode, dagegen kein einziges bei Verwendung der beiden übrigen Methoden. Sämtliche 59 rotzigen Pferde wurden durch die Untersuchung des Blutes auf seinen Bindungswert ermittelt; es gelang aber nur 53, d. s. 90 Proz., durch die Conjunctivalprobe und 50, d. s. 84,8 Proz., durch die Agglutinationsmethode festzustellen.

Hiernach ist die Komplementbindungsmethode fraglos diejenige, welche am sichersten arbeitet. Die Conjunctivalprobe übertrifft an Güte die Agglutinationsmethode, wie aus obiger Zusammenstellung ohne weiteres zu ersehen ist.

IV.

Einfluß der Malleinisation auf die Agglutinations- und Bindungswerte.

Durch frühere Versuche von Miessner¹⁾ bzw. von Miessner und Trapp wurde festgestellt, daß der Agglutinations- bzw. Bindungswert des Serums von Pferden durch die subkutane Malleinisation eine so wesentliche Veränderung erfahren, daß nach dem Ausfall der Blutuntersuchung malleinisierte gesunde Pferde für rotzverdächtig gelten würden. Sollte daher die Anwendung des Malleins bei der Conjunctivalprobe zu gleichen Resultaten führen, so würde die Methode im Verein mit der Blutuntersuchung nicht anwendbar und bei der hervorragenden Bedeutung der letzteren zu verwerfen sein.

Es kam daher in erster Linie darauf an, festzustellen, wie sich die Agglutinations- bzw. Bindungswerte der Sera gesunder Pferde nach der Conjunctivalprobe verhalten. Durch zahlreiche Untersuchungen nach dieser Richtung hin, insbesondere auch an den in vorstehenden Ver-

1) Miessner, Versuche über den Einfluß des Malleins auf den Agglutinationswert des Blutes gesunder und rotzkranker Pferde. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. 34. 1908.

suchen angeführten 74 malleinisierten gesunden Pferden wurde der strikte Beweis erbracht, daß weder der Agglutinations- noch der Bindungswert irgendwelche Veränderung erleiden und somit die Untersuchung des Blutes gesunder Pferde durch die Conjunctivalprobe in keiner Weise beeinflusst wird.

Nicht minder wichtig erschien die zweite Frage, wie sich der Conjunctivalprobe gegenüber die Sera rotziger Pferde verhielten. Es wurde deshalb in allen vorstehenden Versuchen, wie auch aus den diesbezüglichen Tabellen ersichtlich ist, das Blut vor und nach der Malleinisation der betreffenden Pferde untersucht. Bei den Pferden in Wilhelmsort und Lappienen wurden hierbei keine Veränderungen der Agglutinations- bzw. Bindungswerte beobachtet. Aus äußeren Gründen erfolgte aber in diesen Fällen die zweite Blutuntersuchung bereits 2—3 Tage nach der Malleinisation. Das Ergebnis dieser Blutuntersuchung berechtigte indessen nicht ohne weiteres zu der Schlußfolgerung, daß die Sera rotziger Pferde überhaupt nicht durch die Malleinisation beeinflusst würden. Es könnte nämlich eingewendet werden, daß zwischen der Malleinisation und der zweiten Blutentnahme ein zu kurzer Zeitraum lag und die durch das Mallein etwa gebildeten Reaktionskörper noch nicht in aus-

Tabelle 11.

| No. der Pferde | Agglutinationswert | Bindungswert | Conjunctivalprobe | Agglutinationswert | Bindungswert | Conjunctivalprobe |
|----------------|--------------------|--------------|-------------------|--------------------|--------------|-------------------|
| C 3 | 800 | 0,2 | +++++ | 800 | 0,2 | ++++ |
| C 4 | 4000 | 0,01 | ++++ | 4000 | 0,01 | +++ |
| C 5 | 1500 | 0,05 | ++++ | 1500 | 0,05 | +++ |
| C 8 | 1500 | 0,05 | +++++ | 1500 | 0,05 | +++ |
| C 12 | 1500 | 0,05 | +++++ | 1500 | 0,05 | +++ |
| C 15 | 800 | 0,2 | + | 800 | 0,1 | — |
| C 16 | 800 | 0,1 | +++++ | 800 | 0,05 | +++ |
| C 17 | 800 | 0,2 | +++ | 800 | 0,1 | ++ |
| C 18 | 1000 | 0,4 p. | +++++ | 1000 | 0,4 p. | ++ |
| C 21 | 1000 | 0,1 | +++++ | 2000 | 0,01 | ++ |
| C 23 | 2000 | 0,05 | +++++ | 2000 | 0,02 | ++ |
| C 24 | 2000 | 0,1 | +++++ | 2000 | 0,01 | ++++ |
| C 26 | 1500 | 0,2 | ++++ | 1000 | 0,2 | ++ |
| C 28 | 1500 | 0,02 | +++++ | 1500 | 0,02 | +++ |
| C 37 | 1500 | 0,05 | +++++ | 1500 | 0,05 | ++++ |
| C 38 | 1500 | 0,05 | ++++ | 1500 | 0,05 | ++ |
| C 40 | 500 | 0,02 | — | 500 | 0,02 | — |
| C 45 | 2000 | 0,05 | +++++! | 2000 | 0,05 | ++++ |
| C 55 | 2000 | 0,05 | +++++ | 2000 | 0,05 | ++ |
| C 61 | 800 | 0,2 p. | ++ | 1500 | 0,01 | ++ |
| C 62 | 1500 | 0,2 | +++ | 1500 | 0,01 | — |
| C 63 | 2000 | 0,1 | +++++ | 2000 | 0,05 | ++++ |
| C 64 | 2000 | 0,05 | +++++ | 2000 | 0,05 | ++++ |
| C 66 | 3000 | 0,05 | +++++ | 3000 | 0,02 | ++++ |
| C 67 | 1500 | 0,05 | +++++! | 1500 | 0,05 | ++++ |
| C 73 | 800 | 0,05 | ++++ | 800 | 0,05 | — |
| C 74 | 500 | 0,2 | ++ | 500 | 0,2 | ++ |
| C 75 | 800 | 0,05 | +++ | 800 | 0,05 | +++ |
| C 76 | 2000 | 0,02 | ++++ | 2000 | 0,02 | ++ |
| C 81 | 500 | 0,1 | +++++ | 500 | 0,1 | ++++ |
| C 82 | 600 | 0,1 | +++++ | 600 | 0,05 | +++ |
| C 83 | 800 | 0,2 | +++++ | 800 | 0,2 | ++ |
| C 84 | 3000 | 0,05 | ++++ | 3000 | 0,05 | ++ |
| C 85 | 800 | 0,05 | ++++ | 800 | 0,05 | + |
| C 86 | 1000 | 0,2 | +++ | 1000 | 0,1 | + |
| C 87 | 1000 | 0,1 | +++ | 1000 | 0,1 | — |

Erste Malleininfektion 7. 2. 1912. Zweite Malleinisation 8. 2. 1912.

Dritte Malleinisation 16. 2. 1912

reichender Menge in das Blut übergegangen wären, um mit Hilfe der Agglutinations- bzw. Komplementbindungsmethode nachgewiesen werden zu können. Deshalb wurden die 36 rotzigen Pferde aus Chludowo noch 8 Tage nach der ersten Malleinisation am Leben belassen, wodurch sich Gelegenheit bot, nach Ablauf dieser Frist nochmals Blut zu untersuchen. Das zu vergleichenden Untersuchungen benutzte Blut war also einmal vor der Malleinisation (7. Febr. 1912) und das zweite Mal 8 Tage nach der Malleinisation (15. Febr. 1912) entnommen worden.

In der Tabelle 11 sind die Agglutinations- und Bindungswerte des Blutes der rotzigen Pferde zusammengestellt.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Agglutinationswerte Differenzen nicht aufwiesen mit Ausnahme der Pferde C. 21 und C. 61. In beiden Fällen sind auch die Bindungswerte wesentlich gestiegen, und da es sich um frisch rotzige Pferde handelte, so ist anzunehmen, daß die Erhöhung der Blutwerte auf die frische Erkrankung an Rotz und nicht etwa auf die Malleinisation zu beziehen war. Die Agglutinationswerte aller übrigen Pferde hielten sich auf gleichem Niveau.

Eine Steigerung der Bindungswerte nach der Conjunctivalprobe konnte in einem Drittel der Fälle beobachtet werden. Dieselbe erschien aber in der Mehrzahl derselben so gering, daß ihr eine praktische Bedeutung nicht zukommen dürfte. Auch bei dem chronisch rotzigen Pferde C. 18 war nach der Malleinisation keine Veränderung des niedrigen Bindungswertes (0,4 partiell) eingetreten. Nur die Sera der Pferde C. 21, C. 24, C. 61 und C. 62 wiesen eine erheblich stärkere Komplementbindungsreaktion nach der Malleinisation auf. Es scheint sich aber in allen diesen Fällen um frischen Rotz gehandelt zu haben, bei welchem der Bindungswert noch im Ansteigen begriffen war, wie auch durch das Ansteigen des Agglutinationswertes bei den Seren der Pferde C. 21 und C. 61, sowie durch die Zerlegungsberichte bewiesen werden konnte. Hiermit in Uebereinstimmung steht auch der im Abschnitt 5 beschriebene Versuch an künstlich mit Rotzbacillen infizierten Pferden. Aus Tabelle 12 daselbst ist ersichtlich, daß weder der Agglutinations- noch der Bindungswert der Sera dieser Pferde durch die Malleinisation beeinflußt wurden.

Zusammenfassung.

Es erscheint aus dem vorstehenden Versuch die Schlußfolgerung berechtigt, daß infolge vorhergehender Malleinisation der Agglutinationswert unverändert bleibt, während der Bindungswert zuweilen geringe, aber unwesentliche Steigerungen erleidet.

V.

Ueber die Agglutinations- und Bindungswerte sowie Conjunctivalprobe bei künstlich mit Rotz infizierten Pferden.

Für die Bedeutung der Conjunctivalprobe erschien es nicht unwichtig zu ermitteln, zu welchem Zeitpunkt bei frisch infizierten rotzigen Pferden die erste Conjunctivalreaktion beobachtet wird und wie sich demgegenüber die Agglutinations- und Komplementbindungsmethode verhalten. Ob die Conjunctivalprobe nach dieser Richtung der Komplementbindungsmethode so weit überlegen ist, wie Fröhner (Ophthalmoreaktion beim Rotz, Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1911. Bd. 23. p. 1) aus den Versuchen von Müller, Gaetgens und Aoki (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1911. Bd. 8. p. 626) schließt, erscheint mir sehr zweifelhaft. Beim Versuchspferde II der diesbezüglichen Arbeit von Müller etc. ist

beispielsweise die Conjunctivalreaktion erst am 18. Tage nach der Infektion beobachtet worden. Auch war in dem vorliegenden Falle bei

Tabelle 12.

| Datum | Art der Infektion | Agglutinationswert | Bindungswert | Conjunctivalreaktion | Stärke der Reaktion | Temperatur | |
|------------|---|--------------------|--------------|----------------------|---------------------|------------|--------|
| | | | | | | früh | abends |
| Pferd 305. | | | | | | | |
| 1911 | | | | | | | |
| 28. 12. | Stomachal als Pille vier Rotzkulturen einen Tag alt auf Kartoffelgestrichen | | | | | | |
| | | 200 | — | | | 37,8 | 37,9 |
| 29. 12. | | 200 | — | l. Auge | | 37,5 | 37,6 |
| 30. 12. | | 200 | — | r. „ | — | 37,6 | 39,5 |
| 31. 12. | | 200 | — | l. „ | — | 39,8 | 39,9 |
| 1912 | | | | | | | |
| 1. 1. | | 200 | — | r. Auge | — | 38,4 | 38,3 |
| 2. 1. | | 200 | — | l. „ | — | 38,3 | 38,7 |
| 3. 1. | | 300 | — | | +++ | 38,9 | 39,1 |
| 4. 1. | | 500 | — | | | 38,3 | 38,8 |
| 5. 1. | | 600 | — | „ „ | | 37,7 | 38,3 |
| 6. 1. | | 800 | — | „ „ | ++ | 38,2 | 38,4 |
| 7. 1. | | 800 | — | „ „ | | 39,7 | 39,5 |
| 8. 1. | | 800 | — | „ „ | ++ | 39,1 | 39,1 |
| 9. 1. | | 1000 | — | „ „ | ++ | 39,4 | 39,3 |
| 10. 1. | | 1500 | 0,3 p. | „ „ | ++ | 39,2 | 39,8 |
| 11. 1. | | 1500 | 0,3 p. | „ „ | ++ | 39,2 | 39,6 |
| 12. 1. | | 2000 | 0,3 | „ „ | ++ | 39,3 | 39,3 |
| | | | 0,2 — | | | | |
| 13. 1. | | 2000 | 0,3 | „ „ | ++ | 39,2 | 39,8 |
| 14. 1. | | 2000 | 0,2 | „ „ | ++ | 37,7 | 37,8 |
| 15. 1. | | 2000 | 0,1 | | | 38,3 | 40,7 |
| 16. 1. | | 2000 | 0,1 | | | 37,9 | |
| † | | | | | | | |
| Pferd 306. | | | | | | | |
| 1912 | | | | | | | |
| 4. 1. | Fünf Oesen Rotzkultur subkutan in 3 ccm Kochsalzwasser | | | | | | |
| | | 300 | — | | | | 37,7 |
| 5. 1. | | 300 | — | r. Auge | | 38,0 | 38,2 |
| 6. 1. | | 300 | — | „ „ | — | 40,0 | 39,1 |
| 7. 1. | | 300 | — | „ „ | — | 39,0 | 39,3 |
| 8. 1. | | 300 | — | „ „ | — | 38,8 | 40,0 |
| 9. 1. | | 400 | — | „ „ | — | | |
| 10. 1. | | 800 | — | „ „ | — | 40,3 | 40,5 |
| 11. 1. | | 1000 | — | „ „ | — | 39,8 | 39,8 |
| 12. 1. | | 2000 | — | „ „ | — | 39,9 | 39,9 |
| 13. 1. | | 4000 | 0,3 | „ „ | +++ | 39,8 | 39,1 |
| 14. 1. | | 4000 | 0,1 | „ „ | ++ | 39,2 | 39,2 |
| 15. 1. | | 4000 | 0,1 | „ „ | ++ | 39,3 | 39,6 |
| 16. 1. | | 4000 | 0,01 | „ „ | ++ | 39,5 | 39,7 |
| 17. 1. | | 4000 | 0,01 | „ „ | ++ | 39,8 | 40,0 |
| 18. 1. | | 4000 | 0,01 | „ „ | ++ | 39,8 | 39,7 |
| 19. 1. | | 8000 | 0,01 | „ „ | ++ | 38,8 | 39,7 |
| 20. 1. | | 8000 | 0,01 | „ „ | ++ | 39,7 | 39,6 |
| 21. 1. | | 8000 | 0,01 | „ „ | ++ | 39,5 | 39,3 |
| 22. 1. | | 8000 | 0,01 | „ „ | ++ | 39,0 | 39,0 |
| 23. 1. | | 8000 | 0,01 | „ „ | | 38,7 | |
| † | | | | | | | |

dem Pferde No. 28, das sich im Stadium der frischen Infektion befand und bereits einen hohen Agglutinations- und Bindungswert zeigte, noch keine Conjunctivalreaktion nachzuweisen.

Zur Entscheidung der obigen Frage infizierten wir zwei Pferde, und zwar in verschiedener Weise künstlich mit lebenden Rotzbacillen. Dem Pferde No. 305 wurde eine Pille eingegeben, welche aus einem im Innern mit 4 Rotzbacillenkulturen beschickten und von einer Gelatine kapsel umgebenen Kartoffelzylinder bestand. Das Pferd No. 306 erhielt 5 Oesen Rotzbacillenkultur unter die Haut an der linken Seite des Halses gespritzt. Täglich wurde das Serum dieser Tiere auf seinen Agglutinations- bzw. Bindungswert untersucht; ferner gelangte so oft als möglich die Conjunctivalprobe zur Ausführung, wobei stets frisch aufgelöstes Malleinum siccum Foth in 1-proz. Lösung benutzt wurde.

Wie aus beigefügter Tabelle 12 ersichtlich, stieg die Temperatur bei dem Pferde No. 305 zwei Tage nach der stomachalen Infektion, während sich der Agglutinationswert am 6. Tage, der Bindungswert aber erst am 13. Tage nach der Infektion veränderte. Eine deutliche Conjunctivalreaktion wurde bei diesem Pferde 6 Tage nach der Infektion beobachtet. Während der folgenden Zeit bewegten sich die Reaktionen auf mittlerer Höhe. Das Pferd starb 19 Tage nach der Infektion. Bei der Zerlegung fanden sich einige Rotzherde in den Gekröslymphknoten, sowie metastatische Rotzknoten in der Milz und in den Lungen.

Bei dem Pferde No. 306, welches am 4. Dez. subkutan mit Rotzbacillen infiziert worden war, stieg die Temperatur gleichfalls am 2. Tage nach der Infektion fieberhaft an. Der Agglutinationswert veränderte sich am 5. Tage und der Komplementbindungswert am 9. Tage, während die Conjunctivalreaktion gleichfalls am 9. Tage nach der Infektion deutlich zu beobachten war. Das betreffende Pferd starb 20 Tage nach der Infektion und wies bei der Zerlegung ausgedehnte Geschwüre in den Scheimhäuten der oberen Luftwege und zahlreiche Rotzherde in den Lungen auf.

Die Einzelheiten des Versuches sind aus beigefügter Tabelle 12 zu entnehmen.

Aus den vorstehenden Untersuchungen ergibt sich, daß der Komplementbindungswert am spätesten nach der Infektion zu steigen beginnt, während der Agglutinationswert etwa 5—7 Tage und die Conjunctivalreaktion 5—9 Tage nach der Infektion deutlich sichtbar werden. Es geht also hieraus hervor, wie das schon am Schluß der Arbeit über die Versuche in Wilhelmshöh zum Ausdruck gebracht ist, daß die Conjunctivalreaktion jedenfalls der Agglutinationsmethode gegenüber bezüglich der Frühdiagnose der Rotzkrankheit einen Vorteil nicht besitzt, im allgemeinen aber etwas früher als die Komplementbindungsmethode eine frische Rotzinfektion anzuzeigen scheint. Ausnahmen scheinen aber auch hierfür zu bestehen, wie das Ausbleiben der Conjunctivalreaktion bei den beiden frisch infizierten Pferden C. 92 und C. 94 gezeigt hat, während beide Pferde eine deutliche Komplementbindungsreaktion zeigten.

VI.

Agglutinations- und Komplementbindungswerte der Sera von 4 zu rotzigen Mutterstuten gehörigen Föten.

Von besonderem Interesse dürften weitere Versuche sein, welche zufälligerweise an den Föten der 4 Pferde W. 24, 29, 30 und 31 (aus Wilhelmsort) angestellt werden konnten. Sämtliche Föten befanden sich

etwa im 7. Monat, waren gut entwickelt und erwiesen sich bei genauester Obduktion als rotzfrei. Das Blut dieser Tiere wurde in der Weise aufgefangen, daß man dem auf dem Rücken liegenden Tiere vorsichtig das Brustbein entfernte, dann das Herz aufschnitt und das aus dem Herzen fließende Blut in einem großen Zentrifugenröhrchen auffing. Die Sero-reaktionen fielen in allen Fällen sehr niedrig aus und sind in folgender Tabelle die Agglutinations- und Bindungswerte der Muttertiere und ihrer dazu gehörigen Föten angeführt.

Tabelle 13.

| Mutter- stute | 9. 12. 1911 | | Foetus | 9. 12. 1911 | |
|------------------|-------------------------|-------------------|--------|-------------------------|-------------------|
| | Agglutinations- wert | Bindungs- wert | | Agglutinations- wert | Bindungs- wert |
| 24 | 800 | 0,3 | Foetus | 200 | — |
| 29 | 800 | 0,05 | " | 100 | — |
| 30 | 1500 | 0,02 | " | 100 | — |
| 31 | 1500 | 0,02 | " | 100 | — |

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Reaktionswerte des Blutes der Muttertiere wesentlich verschieden sind von denjenigen der dazugehörigen Föten. Es ist durch diesen Versuch in selten einwandfreier Weise einmal der Beweis erbracht, daß die im Blute der Muttertiere vorhandenen Reaktionskörper nicht auf den Foetus während der Trächtigkeitsperiode übergehen, trotzdem zwischen dem mütterlichen und fötalen Blutkreis durch die Placenta ziemlich enge Berührungsfächen bestehen.

Gleich diesen agglutinierenden und komplementbindenden Stoffen, welche durch die Aufnahme von Infektionserregern im mütterlichen Organismus sich bilden, werden sich vermutlich die in ähnlicher Weise entstehenden Immunkörper verhalten. Es berechtigt infolgedessen der vorliegende Versuch zu dem Schluß, daß die vorbezeichneten im mütterlichen Blute gebildeten Reaktionskörper während der Trächtigkeit nicht auf den Foetus übergehen. Den gleichen Standpunkt nimmt man auch heute bezüglich der Mikroorganismen selbst ein. Ein Uebertritt kann nur dann erfolgen, wenn in der den mütterlichen und fötalen Kreislauf trennenden Placenta Verletzungen oder durch Mikroorganismen hervorgerufene pathologische Prozesse bestehen. In solchen Fällen kann es zu einer direkten Kommunikation zwischen beiden Blutarten kommen oder der auf die Placenta foetalis übergreifende infektiöse Prozeß mit der fötalen Blutbahn in Verbindung treten, wodurch auch die Infektionskeime in den foetalen Organismus gelangen können.

Zusammenfassung.

Die Reaktionskörper im Blute rotziger Mutterstuten gehen nicht in das Blut der Föten über.

VII.

Schlußbetrachtung.

Fassen wir die Ergebnisse der Untersuchungen von 133 Pferden, unter denen sich 59 rotzige befanden, noch einmal zusammen, so hat die Komplementbindungsmethode die besten Resultate geliefert insofern, als durch dieselbe kein gesundes Pferd der Rotzkrankheit verdächtigt und umgekehrt sämtliche rotzigen Pferde erkannt wurden. Dabei ist zu beachten, daß stets Pferde rotziger Bestände, deren Sera einen Bindungswert von 0,3 bzw. 0,4 gezeigt hatten, als rotzverdächtig angesehen wurden.

Bei der Beurteilung der Agglutinationsmethode legten wir auf Grund unserer vielseitigen Erfahrungen einen Agglutinationswert von über 600 für die Feststellung rotziger Pferde in rotzigen Beständen zugrunde. Es hatten hiernach 2,7 Proz. gesunder Pferde einen Agglutinationswert gezeitigt, auf Grund dessen sie als rotzverdächtig bezeichnet werden mußten, und auf der anderen Seite gelang es nur, 50 von 59, das sind 84,8 Proz., der rotzigen Pferde mit Hilfe der Agglutinationsmethode zu ermitteln.

Die Conjunctivalprobe verhielt sich bezüglich der gesunden Pferde genau so wie die Komplementbindungsmethode, d. h. also, kein einziges der gesunden Pferde zeigte eine positive Reaktion. Von den 59 untersuchten rotzkranken Pferden wurde bei 53, das sind 90 Proz., eine positive Conjunctivalreaktion festgestellt, und es geht aus dieser Uebersicht hervor, daß die Conjunctivalprobe der Agglutinationsmethode sowohl bezüglich der Ermittlung der rotzfreien als auch der rotzigen Pferde überlegen ist. Die Einzelheiten sind aus folgender Tabelle ersichtlich.

Tabelle 14.

| Bestand | Zahl der Pferde | Zahl der gesunden Pferde | Zahl der reagierenden gesunden Pferde | | | Zahl der rotzigen Pferde | Zahl der reagierenden rotzigen Pferde | | |
|-------------|-----------------|--------------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | | Agglutination | Komplementbindung | Conjunctivalreaktion | | Agglutination | Komplementbindung | Conjunctivalreaktion |
| Wilhelmshöh | 35 | 23 | 0 | 0 | 0 | 12 | 10 | 12 | 10 |
| Lappinen | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 6 | 4 | 6 | 6 |
| Chludowo | 85 | 49 | 2 | 0 | 0 | 36 | 32 | 36 | 36 |
| Chludowo | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | 5 | 3 |
| Sa. | 133 | 74 | 2 | 0 | 0 | 59 | 50 = 84,8 Proz. | 59 = 100 Proz. | 53 = 90 Proz. |

Zur Sicherstellung der Diagnose hatte sich bisher die kombinierte Anwendung der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode sehr gut bewährt. Die gleichzeitige Anwendung zweier Methoden ist deswegen von Vorteil, weil dadurch eine gegenseitige Kontrolle der beiden Methoden ausgeübt wird und weil ferner die Möglichkeit besteht, daß gelegentlich einmal die eine Methode versagt, während noch die andere arbeitet. Bei den guten Resultaten, welche in den vorstehenden Versuchen die Conjunctivalprobe gezeigt hatte und die mit den Ergebnissen anderer Forscher mehr oder weniger übereinstimmen, würde die Frage zu entscheiden sein, ob es sich empfiehlt, an Stelle der in Preußen üblichen kombinierten Anwendung der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode die Agglutinationsmethode durch die Conjunctivalprobe zu ersetzen. Da aber die Conjunctivalprobe nicht durch ein mit der Rotzuntersuchung betrautes Zentralinstitut ausgeführt werden kann, sondern durch den jedesmal am Ausbruchsherd befindlichen zuständigen beamteten Tierarzt, so wäre zu beachten, ob die Conjunctivalprobe auch in der Hand des beamteten Tierarztes, der meist nur über eine geringe Übung und Erfahrung auf diesem Gebiete verfügt, dasselbe leisten würde wie eine in einem Institut stets von denselben Personen ausgeführte Untersuchung.

Nach meinen bisherigen Erfahrungen ist die Erkennung einer positiven Conjunctivalreaktion nach Einpinselung einer frischen 1-proz. Malleinlösung (Malleinum siccum Foth) nicht schwierig unter der Voraus-

setzung, daß sämtliche in Frage kommenden Tierärzte einmal Gelegenheit gehabt haben, sich mit dem Verfahren vertraut zu machen. Bei allen meinen Untersuchungen konnte ich in den Fällen, in denen die Pferde rotzfrei waren, niemals eine Veränderung an den Augen bzw. mit wenigen Ausnahmen an der Conjunctivalschleimhaut beobachten. Die Augen blieben vollkommen klar; am inneren Augenwinkel war irgendwelcher Ausfluß nicht bemerkbar. In wenigen Fällen stellte sich ein geringer, serös-schleimiger Ausfluß ein, der aber bei genauer Betrachtung, besonders des Inhalts des Lidsackes, leicht zu unterscheiden war von einem verdächtigen Ausfluß. Es muß das Sekret, und hierin stimme ich vollkommen mit Schnürer überein, eine trübe, gelbe Beschaffenheit, also einen eiterähnlichen Charakter haben. Ich bezeichne in der Tabelle den unverdächtigen serös-schleimigen Ausfluß mit +, sobald aber dieser Ausfluß eiterähnliche Flocken enthält, mit ++. Nur die Unterscheidung dieser beiden Zustände könnte zuweilen schwer sein, bietet aber für den Geübten keine Schwierigkeiten. Bei stärkeren Reaktionen, die in der Regel bei der Conjunctivalprobe rotziger Pferde beobachtet werden, findet man ein eitriges Sekret am inneren Augenwinkel und den Lidsack mit einem solchen Sekret angefüllt (in der Tabelle mit +++ bezeichnet). Häufig kommt es dann zu einer ödematösen Schwellung des unteren Augenlides, wodurch dieses eine wulstige Beschaffenheit bekommt (+++). Endlich schwillt auch das obere Augenlid an, Eiterfetzen hängen an den Wimpern und verkleben zum Teil beide Augenlider, desgleichen befindet sich eine eiterähnliche Flüssigkeit in großer Menge am inneren Augenwinkel und läuft von dort aus an der Haut weiter herunter (+++). Sollten wir es mit zweifelhaften Reaktionen zu tun haben, so empfiehlt es sich, auf Grund der von mir gemachten Feststellungen 24 Stunden nach der ersten Conjunctivalprobe auf demselben Auge die Conjunctivalprobe zu wiederholen und es bietet dann die Beurteilung der zweiten Conjunctivalreaktion in der Regel Schwierigkeiten nicht mehr.

Bezüglich der Temperaturmessungen habe ich mich bereits bei den einzelnen Fällen genügend geäußert und stehe ich auf dem Standpunkte, daß dieselben nicht notwendig sind, weil häufig nur geringe Temperaturerhöhungen vorkommen, die nur kurze Zeit anhalten, und deswegen hat die Temperaturmessung überhaupt nur Zweck, wenn sie längere Zeit in kurzen Zwischenräumen und mit größter Genauigkeit ausgeführt würde. Da auf der anderen Seite eine geringe Temperaturerhöhung ohne positive Lokalreaktion den Ausschlag nicht geben kann und die Temperaturmessungen die Einführung der Conjunctivalprobe in der Praxis in höchstem Maße erschweren und verteuern würde, so kann von den Temperaturmessungen gänzlich abgesehen werden. Wie die Versuche ferner gezeigt haben, sind die positiven Lokalreaktionen zwischen der 14. und 20. Stunde stets zu beobachten, und es genügt daher, wenn das Ergebnis der Conjunctivalprobe um diese Zeit, also etwa 14 bis 20 Stunden nach der Einpinselung des Malleins, festgestellt wird.

Die Verwendung der Conjunctivalprobe zur Diagnose des Rotzes hat neben ihrer großen Einfachheit noch den Vorteil, daß sie eine schnelle Ausführung gestattet und dem beamteten Tierarzt ermöglicht, die reagierenden Tiere sofort abzusondern und dadurch einer weiteren Uebertragung auf die gesunden Tiere vorzubeugen. Es kommt hinzu, daß Verwechselungen von Pferden, wie sie eventuell bei der Blutentnahme eintreten können, bei der Verwendung der Conjunctivalprobe ausge-

geschlossen sind. Etwaige Fehler bei der Ausführung der Conjunctivalprobe lassen sich leicht durch die Anwendung der Komplementbindungsmethode, die gleichzeitig neben der Conjunctivalprobe zur Ausführung gelangt, gutmachen.

Zur zweiten Untersuchung würde lediglich die Komplementbindungsmethode zu verwenden sein, da die Conjunctivalprobe in manchen Fällen anscheinend infolge einer gewissen Gewöhnung innerhalb 14 Tagen nach der ersten Malleinisation selbst bei rotzigen Pferden nur schwache Reaktionen anzeigt. Dazu kommt, daß sich das Tilgungsverfahren durch eine weitere Malleinisation unnützt verteuert, ohne durch die wiederholte Conjunctivalprobe gefördert zu werden. Nach den bisherigen Erfahrungen gelingt es in den meisten Fällen schon bei der ersten Untersuchung, alle rotzigen Pferde zu ermitteln, und es kommen daher die Vorzüge, welche die gleichzeitige Anwendung der Komplementbindungsmethode und Conjunctivalprobe bei der ersten Untersuchung hatte, für die Zweituntersuchung nicht in Betracht.

Ausführung.

Bezüglich der Ausführung der Untersuchung würde mit Rücksicht auf möglichste Schnelligkeit der beamtete Tierarzt sich mit dem Institut, welches die Blutuntersuchung auszuführen hat, in Verbindung setzen müssen, unter Angabe der Zahl der rotzansteckungsverdächtigen Tiere. Das Institut übersendet darauf das zur Conjunctivalprobe notwendige Mallein mit einer Gebrauchsanweisung und gleichzeitig die entsprechende Zahl von Röhrchen nebst Kanülen zur Blutentnahme. Es wird nun von sämtlichen Tieren Blut entnommen und dem Institute eingesandt und gleichzeitig die Conjunctivalprobe auf einem Auge ausgeführt.

Die Ausführung der Conjunctivalprobe gestaltet sich folgendermaßen: Mit Hilfe eines Pinsels wird eine 1-proz. Malleinlösung (Malleinum siccum Foth) auf der Schleimhaut des unteren Augenlides eines Auges verstrichen. Die Auflösung des Malleins in physiologischer Kochsalzlösung hat stets kurze Zeit vor der Ingebrauchnahme zu erfolgen. Etwa 14—20 Stunden nach der Einpinselung hat die Untersuchung stattzufinden. Hierbei sind 6 Reaktionsgrade zu unterscheiden, welche in einem bestimmten Formular (siehe Tabelle 15) durch folgende Zeichen zu vermerken sind:

- = Auge unverändert,
- + = Geringer serös-schleimiger Ausfluß,
- ++ = Ausfluß mit Eiterflocken vermischt,
- +++ = Eitriger Ausfluß,
- ++++ = Eitriger Ausfluß, unteres Augenlid geschwollen.
- +++++ = Starker eitriger Ausfluß, beide Augenlider geschwollen und verklebt.

Im unmittelbaren Anschluß an diese Augenuntersuchung wird dann in zweifelhaften Fällen nochmals auf demselben Auge wie vorher Mallein eingepinselt. Nach weiteren 14—20 Stunden werden die Augen untersucht und die Reaktionswerte in die Tabelle eingetragen. Die reagierenden Tiere sind sofort abzusondern. Die Tabelle wird dem Untersuchungsinstitut übersandt und unter Berücksichtigung des Ergebnisses der Komplementbindungsmethode und Conjunctivalprobe ist die Tötung der reagierenden Tiere in Vorschlag zu bringen. 10 Tage nach der ersten Blutentnahme hat eine zweite zu erfolgen für den Fall, daß während der ersten Untersuchung Rotz im Bestande festgestellt ist. Die gleiche Untersuchung muß nach weiteren 10 Tagen wiederholt werden.

Anlage B.

Tabelle 15.

**Komplementbindungs- und Conjunctivalprobe
in dem Pferdebestande von**

Name:
 Stand:
 Wohnort:
 Kreis:
 Reg.-Bez.:

Anlage A (Anweisung für die Blutentnahme und zur Ausführung der Conjunctivalprobe) siehe Rückseite.

| Fortlaufende No. der Pferde | Kennzeichen der Pferde. (Farbe, Geschlecht, Alter und Abzeichen) | Bemerkungen. Krankhafte Erscheinungen; Tag der Obduktion; Ergebnis der Obduktion usw. |
|-----------------------------|---|--|
| 1 | 2 | 3 |
| | | |

| Tag und Stunde der 1. Mallein- einpinselung: | Tag und Stunde der 2. Mallein- einpinselung: | Tag der 1. Blut- entnahme: | Tag der 2. Blut- entnahme: | Tag der 3. Blut- entnahme: |
|---|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Reaktion: | Reaktion: | Bindungswert: | Bindungswert: | Bindungswert: |
| 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | | | | |

I. Anweisung für die Blutentnahme.

- 1) Vor der Malleinisierung hat die Blutentnahme stattzufinden.
- 2) Zur Blutentnahme wird eine Hautstelle an der Drosselvene desinfiziert und in die letztere eine Aderlaßnadel gestochen. Den Blutstrahl, der aus der Nadel abfließt, leitet man in ein sterilisiertes Gläschen, das dreiviertel mit Blut gefüllt wird. Jedes gefüllte Gläschen ist sofort mit einem Korken zu verschließen. Die Gläschen sind mit den betreffenden Nummern bzw. mit den Namen der Pferde, denen das Blut entnommen worden ist, zu bezeichnen und gut verpackt umgehend den Untersuchungsstellen zu übersenden. Wird Blut von Pferden mehrerer Besitzer zu gleicher Zeit entnommen, so muß auch auf jedem Gläschen der Name des Besitzers vermerkt werden.

Um zu vermeiden, daß das Blut eines Pferdes durch das Blut eines anderen Pferdes verunreinigt wird, sind nach jedem Aderlaß die Hände gründlich abzuspülen; ferner ist für jedes Pferd eine neue Aderlaßnadel, oder, falls die Zahl derselben nicht ausreicht, eine der vorher gebrauchten, aber in Wasser von allen Blutspuren gereinigten Nadeln zu benutzen.

- 3) Der Name und der Wohnort des Besitzers, die Kennzeichen, Nummern oder Namen der Pferde — auch der bereits gestorbenen oder getöteten — sind in der Anlage B genau aufzunehmen. Etwaige rotzverdächtige oder sonstige Krankheitserscheinungen sind bei jedem Pferde anzugeben, ebenso das Obduktionsergebnis der bereits gestorbenen oder getöteten Pferde. Die Pferde sind der Reihe nach so aufzuführen, wie sie im Stalle gestanden haben. Auch sind die verschiedenen Ställe in der Liste genau kenntlich zu machen.

4) Der Zeitpunkt, an dem die Pferde der Ansteckung ausgesetzt waren, ist möglichst genau zu ermitteln. Auch ist über die Art und Weise des Auftretens der Rotzkrankheit in dem Bestande eingehend zu berichten.

5) Aderlaßnadeln und sterilisierte, mit Korken verschlossene Gläschen liefern die Untersuchungsstellen; die Nadeln sind jedesmal mit den Blutröhrchen wieder zurückzusenden.

6) Die beamteten Tierärzte haben vor jeder Blutentnahme dem Institute die Zahl der ansteckungsverdächtigen Pferde und Bestände mitzuteilen, damit ihnen rechtzeitig die zur Entnahme der Blutproben notwendigen Gläser, Instrumente und Formulare übersandt werden können.

7) Bei jeder Blutentnahme sind etwaige Veränderungen im Befinden der Tiere, sowie kurze Obduktionsbefunde über etwa getötete oder gestorbene Pferde einzutragen.

8) Der Tag der Blutentnahme ist jedesmal am Kopfe der entsprechenden Spalten zu vermerken.

II. Anweisung zur Ausführung der Conjunctivalprobe.

1) Der beamtete Tierarzt erhält sofort nach Anzeige der Zahl der zu untersuchenden Pferde das zur Malleinisierung notwendige Material, bestehend aus

- a) einer Dosis Mallein für einmalige Behandlung von je 20 Pferden;
- b) mehreren Pinseln;
- c) einem Reagensröhrchen mit 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung für je 20 Pferde.

2) Die Malleinisierung ist im Anschluß an die Blutentnahme auszuführen.

3) Eine Dosis Mallein wird in das Reagensröhrchen gebracht und durch kräftiges Schütteln aufgelöst.

4) Der Pinsel wird mit der Malleinlösung getränkt und im unteren Lidsack eines Auges verstrichen.

5) 14–20 Stunden später wird die Stärke der Reaktion an dem Auge beobachtet und durch folgende Zeichen in der Rubrik 4 vermerkt:

- = Auge unverändert.
- + = Geringer serös-schleimiger Ausfluß.
- ++ = Ausfluß mit Eiterflocken vermischt.
- +++ = Eitriger Ausfluß.
- ++++ = Eitriger Ausfluß, unteres Augenlid geschwollen.
- +++++ = Starker eitriger Ausfluß, beide Augenlider geschwollen und verklebt.

6) Nach Aufzeichnung der Reaktion wird bei allen schwach reagierenden Tieren dasselbe Auge nochmals mit einer frischen Malleinlösung (cf. 3) behandelt.

7) 14–20 Stunden später erfolgt die Untersuchung und Aufzeichnung der Stärke der Reaktion in Rubrik 5.

8) Alle typisch reagierenden Pferde sind sofort zu isolieren.

9) Als typisch reagierend sind die Pferde anzusehen, bei denen sich im Lidsack bzw. am inneren Augenwinkel ein deutlicher frischer Eiterpfropf oder eitriger Ausfluß gebildet hat. In der Tabelle mindestens mit ++ zu bezeichnen.

10) Nach der Beendigung der Conjunctivalprobe und Entnahme des Blutes ist die Anlage sofort dem Untersuchungsinstitut zu übersenden.

Anhang.

Zerlegungsberichte.

Am 9. Dez. 1912 wurden folgende 12 rotzverdächtige Pferde des Gutes Wilhelmshöh getötet und sofort zerlegt.

Pferd W. 4

des Verzeichnisses, braune Stute, Stern, Schnibbe, linke Hinterfessel weiß, 15 Jahre alt, 155 cm groß, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

Die linkerseits im Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind walnußgroß, glasig durchscheinend und in einem derselben befindet sich ein stecknadelkopfgroßer, eitriger Zerfallsherd.

Die Lungen enthalten eine größere Anzahl erbsen- bis stecknadelkopfgroßer, roter Herde, welche teils unter der Oberfläche der Lungen, teils im Innern des Lungparenchyms gelegen sind. Auf der Schnittfläche besteht die periphere Zone aus rotem, hepatisiertem, luftleerem Lungengewebe, während das Zentrum in Stecknadelspitzen- bis Stecknadelkopfgroße grau verfärbt ist. Die an der Lungenwurzel und im Mittelfeldraum befindlichen und vergrößerten Lymphknoten enthalten einige hirsekorngroße, gelbe Zerfallsherde.

Die übrigen Organe sind frei von rotzigen Veränderungen.

Diagnose: Frische rotzige Entzündung der im Kehlgange und an der Lungenwurzel, sowie im Mittelfeldraum gelegenen Lymphknoten, frische entzündliche Rotzherde in den Lungen.

Pferd W. 20

des Verzeichnisses, braune Stute, 3 Jahre alt, 144 cm groß, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

In der Schleimhaut an der vorderen Fläche der Luftröhre befinden sich zwei linsengroße, leicht gerötete Stellen, welche unter der Oberfläche liegen und strahlig in die Nachbarschaft auslaufen. Die im Kehlgange und hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind ohne Veränderungen.

Die Lungen enthalten eine größere Anzahl dicht unter der Oberfläche des Lungenschnitts gelegener erbsengroßer, roter Knoten. Diese bestehen auf dem Durchschnitt aus einem grauen Zentrum und einer roten Peripherie. Beim Durchschneiden der Lungen sieht man ähnliche Knoten auch im Innern des Parenchyms liegen. Die an der Lungenwurzel und im Mittelfeldraum befindlichen Lymphknoten sind geschwollen; ihre Schnittfläche ist saftreich, grauweiß und mit stecknadelkopfgroßen, hellgelben Zerfallsherden durchsetzt.

Die Milz ist an einzelnen Stellen geschwollen, die Pulpa fließt daselbst über die Schnittfläche. Das trabekuläre Gewebe wird stellenweise verdeckt. Unregelmäßig verteilt enthält die Milz mehrere dicht unter der Oberfläche liegende erbsengroße, gelbe, weiche Herde. Ähnliche Knoten finden sich in der Leber. Darm, Gekröslymphknoten und Nieren weisen keine Veränderungen auf.

Diagnose: Frische rotzige Geschwüre in der Schleimhaut der Luftröhre, frische Rotzknoten in den Lungen, metastatische Rotzherde in Leber und Milz.

Pferd W. 21

des Verzeichnisses, brauner Wallach, linke Hinterfessel weiß, 4 Jahre alt, 155 cm groß, Agglutinationswert 500, Bindungswert 0,4 partiell.

Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind erbsengroß und frei beweglich, ihre Schnittfläche ist trocken und von grauschwarzer Farbe. Dagegen sind einige der hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten um das Zwei- bis Dreifache vergrößert, ihre Schnittfläche ist sehr feucht, von glasigem Aussehen und grauweiß gefärbt. Die Schleimhäute der Nasenhöhle und der Luftröhre sind überall glatt und glänzend.

Die Lungen enthalten hirsekorngroße, graue Knoten, die dicht unter dem Lungenschnitt ihren Sitz haben und ein eiterähnliches Zentrum aufweisen. Daneben beobachtet man erbsengroße, peripher gerötete Herde, die in ihrer Mitte grau verfärbt sind. Die regionären Lymphknoten an der Teilungsstelle der Luftröhre sind vergrößert und haben teilweise eine markige, teilweise eine gallertige Beschaffenheit, andere zeigen auf der Schnittfläche eine deutliche Rötung.

Die Milz ist klein, ihre Kapsel undurchsichtig und das trabekuläre Gewebe auf der Schnittfläche deutlich erkennbar. Die Leber enthält mehrere stecknadelkopfgroße, graue Herde mit eiterähnlichem Zerfallszentrum. Die übrigen Organe sind ohne Veränderungen.

Diagnose: Frische rotzige Entzündung der im Kehlgange und an der Lungenwurzel gelegenen Lymphknoten, frische und ältere rotzige Herde in den Lungen, metastatische Rotzknoten in der Leber.

Pferd W. 23

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Stern, kurze Blässe, linker Hinterfuß weiß, 4 Jahre alt, 155 cm groß, Agglutinationswert 600, Bindungswert 0,05.

Die Schleimhaut der rechten Seite der Nasenhöhle enthält in ihrem oberen Drittel zahlreiche linsengroße Geschwüre mit aufgewulsteten Rändern und glasigem, leicht gerötetem Grunde. Größere Geschwüre haben ihren Sitz in der Schleimhaut an der vorderen Fläche der Luftröhre, und zwar vornehmlich an dem Ende derselben, welches dem Kopfe zugewandt ist. Dieselben sind zehnpfennig- bis marktstückgroß, von längs-ovaler Form und unregelmäßiger zackiger Umrandung, und besitzen einen grauroten Grund. Einzelne der Geschwüre sind mit einer grauen, schleimähnlichen Masse angefüllt. Ein linsengroßes, flaches Geschwür ist in der Schleimhaut des rechten Gießkannenknorpels gelegen. Die im Kehlgange und hinter dem Kehlkopf befindlichen Lymphknoten sind geschwollen, nicht gegeneinander verschiebbar; ihre Schnittfläche ist saftreich, gerötet und weist in größerer Anzahl eiterähnliche Zerfallsherde von Stecknadelkopfgröße und darüber auf.

Die Lungen enthalten zahlreiche, graue, durchscheinende Knoten mit zentral gelegenen eitrigen Zerfallsherden; außerdem hat ein walnußgroßer Knoten dicht unter dem Lungenfell seinen Sitz. Derselbe trägt eine dünnwandige Kapsel und besteht im Innern aus einer größeren Anzahl stecknadelkopfgroßer, mit einer schleimig-eitrigen Masse angefüllter Herde. Die an der Lungenwurzel und im Mittelfellsraum gelegenen Lymphknoten sind vergrößert, auf der Schnittfläche saftreich, von grauweißer Farbe und enthalten viele linsengroße, eitrige Zerfallsherde.

In der etwas geschwollenen Milz sind mehrere erbsengroße und in der Leber ein haselnußgroßer gelber Knoten gelegen, welche im Innern eine eitrige, rahmartige Masse enthalten.

Diagnose: Rotzige Geschwüre auf der Schleimhaut der Nasenhöhle und Luftröhre, frische Entzündung der im Kehlgange und hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten, Rotz der Lungen im vorgerückteren Stadium, rotzige Herde in Milz und Leber.

Pferd W. 24

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Flocke, 8 Jahre alt, 155 cm groß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,2—0,3

Die Schleimhaut der Nasenhöhle und die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten weisen Veränderungen nicht auf, dagegen finden sich in der Schleimhaut am vorderen Rande der Luftröhre einige weiße, strahlig verlaufende, narbige Gebilde von Linsen- bis Pfenniggröße. Die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind geschwollen und von markiger Konsistenz.

Die Oberfläche des Lungenfells ist glatt und glänzend und zeigt an drei Stellen halbkugelförmige Hervorragungen. Diese entsprechen haselnuß- bis apfelgroßen im Lungenparenchym gelegenen Knoten. Der größte derselben enthält mehrere durch Bindegewebe voneinander getrennte Höhlen, die mit einer schleimigen, eiterähnlichen Masse angefüllt sind. Der Knoten ist von einer weißen, bindegewebigen Zone umgeben und grenzt an luftleeres, leberähnliches Lungengewebe. Außerdem enthalten die Lungen noch kleinere Knoten von grauer, glasiger Peripherie, die im Innern mit einer strohgelben, mörtelähnlichen Masse angefüllt sind. Zuweilen ist die äußere graue von der inneren gelben Zone noch durch eine rote Zone getrennt. Die Lymphknoten an der Lungenwurzel sind taubeneigroß, von glasigem Aussehen, auf der Schnittfläche feucht, grauweiß und mit Eiterherden durchsetzt.

Milz, Leber, Nieren, Darm und die dazugehörigen Lymphknoten weisen Veränderungen rotziger Natur nicht auf.

In der Gebärmutter liegt ein etwa 6 Monate alter Foetus, dessen Organe Abweichungen von der Norm nicht zeigen.

Diagnose: Rotzige Narbe auf der Luftröhrenschleimhaut, chronischer Rotz der Lungen, rotzige Entzündung der an der Lungenwurzel gelegenen Lymphknoten.

Pferd W 27

des Verzeichnisses, Fuchswallach, Blässe, linker Vorder-, rechter Hinterfuß, rechte Vorderkrone weiß, ca. 12 Jahre alt, 169 cm groß, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,02.

Die Schleimhaut der Nasenhöhlen, des Kehlkopfes und der Luftröhre ist überall glatt und glänzend. Die regionären Lymphknoten sind nicht verändert, mit Ausnahme einiger nach hinten zu gelegener Kehlganglymphknoten, welche eine geringe Schwellung aufweisen.

Die Lungen sind Sitz zahlreicher pfefferkorn- bis erbsengroßer Knoten, von denen die größeren aus einer breiten, grauen, peripheren Zone bestehen und im Innern eine mörtelähnliche, strohgelbe, unregelmäßig gegen die Umgebung abgegrenzte Masse enthalten. Die kleineren Knoten sind schon äußerlich durch ihre rote Farbe leicht er-

kennbar und weisen auf der Schnittfläche ein deutlich sichtbares, graues Zentrum auf. Die Mittelfells- und Lungenwurzellymphknoten sind taubenei- bis hühnereigroß, auf der Schnittfläche feucht und von grauweißer Farbe.

Milz, Leber, Nieren, Darm und Gekröslymphknoten sind frei von rotzigen Veränderungen.

Diagnose: Frische rotzige Entzündung der an der Lungenwurzel und im Mittelfellsraum gelegenen Lymphknoten, frische rotzige Herde in den Lungen.

Pferd W 28.

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Blässe, rechte Hinterfessel weiß, ca. 9 Jahre alt, 147 cm groß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,4 partiell.

Die Schleimhäute der Nasenhöhlen zeigen einen spiegelnden Glanz. Die regionären Lymphknoten sind von Erbsengröße, auf der Schnittfläche trocken und von grauweißer Farbe. Die Schleimhaut der Luftröhre ist überall glatt, dagegen weisen die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten, welche um das Zwei- bis Dreifache vergrößert sind, zahlreiche hirsekorngroße, eiterähnliche Zerfallsherde auf.

Die Oberfläche des Lungenfells ist glatt und glänzend und ist mit einer Unmenge dicht unter dem Lungenfell gelegener, etwa fünfpennigstückgroßer, roter Herde versehen. Dieselben bestehen auf der Schnittfläche aus gallertigem, rotem Lungengewebe und enthalten ein graues, stecknadelspitzen- bis stecknadelpkopfgroßes Zentrum. Die Lymphknoten an der Lungenwurzel sind saftreich vergrößert und enthalten mehrere linsengroße, in Zerfall begriffene, gelbe, festweiche Herde.

Die Milz ist stellenweise geschwollen, die Pulpa daselbst dunkelrot und dickflüssig, wodurch das trabekuläre Gerüstwerk teilweise verdeckt wird. Die Leber ist etwas vergrößert und sehr blutreich. Der läppchenförmige Bau derselben ist nur undeutlich erkennbar. Die Nieren und der Darm zeigen keine rotzigen Veränderungen.

Diagnose: Rotzige Entzündung der hinter dem Kehlkopf und an der Lungenwurzel gelegenen Lymphknoten, ganz frische Rotzherde in den Lungen.

Pferd W 29

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Blässe, rechte Hinterfessel weiß, 6 Jahre alt, 147 cm groß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,05.

Die Schleimhaut der Nasenhöhlen und des oberen Teiles der Luftröhre ist glatt und glänzend, dagegen befindet sich in der Schleimhaut am vorderen Rande der Luftröhre, etwa handbreit von der Teilungsstelle derselben entfernt, ein ca. 3 cm langes und 1 cm breites Geschwür, welches aufgewulstete Ränder und einen graurötlichen Grund aufweist. Das Geschwür ist mit einer schleimig-eitrigen, grauroten Masse angefüllt. Die hinter dem Kehlkopf liegenden Lymphknoten sind vergrößert, einige derselben infolge Verwachsung mit der Nachbarschaft nicht gegeneinander verschiebbar.

Die Lungen beherbergen sehr viele hirsekorn- bis erbsengroße Knoten, welche teils eine glasige, graue, periphere Zone und ein eiterähnliches Zerfallszentrum besitzen, teils von einem roten Hof umgeben und im Innern grauweiß gefärbt sind.

Milz, Leber, Nieren und Darm weisen Veränderungen rotziger Natur nicht auf.

Der in der Gebärmutter befindliche etwa 6 Monate alte Foetus ist frei von Rotz.

Diagnose: Rotzgeschwür auf der Luftröhrenschleimhaut, frische rotzige Entzündung der an der Lungenwurzel gelegenen Lymphknoten, frische Rotzherde in den Lungen.

Pferd W 30

des Verzeichnisses, braune Stute, 5 Jahre alt, 155 cm groß, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,02.

Die Schleimhaut der Nasenhöhlen und der Luftröhre zeigt überall spiegelnden Glanz. Die im Kehlgang und hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind klein, auf der Schnittfläche trocken und von grauweißer Farbe.

Die Lungen sind Sitz einiger linsen- bis erbsengroßer Knoten, die im Innern zerfallen sind und aus einer mörtelähnlichen Masse bestehen. Die periphere Zone ist von grauweißer Farbe. Das Zentrum setzt sich unregelmäßig gegen die Peripherie ab. Die an der Lungenwurzel und im Mittelfellsraum gelegenen Lymphknoten sind hühnereigroß, von derber Konsistenz und enthalten im Innern eine große Anzahl stecknadelpkopfgroße bis linsengroße, strohgelber, mörtelähnlicher Zerfallsherde.

Milz, Leber, Nieren und Darm sind ohne Veränderungen.

Die Gebärmutter ist mit einem 6 Monate alten Foetus, der sich frei von rotzigen Veränderungen erweist, angefüllt.

Diagnose: Rotzige Herde in den an der Lungenwurzel gelegenen Lymphknoten, frische Rotzknoten in den Lungen.

Pferd W 31

des Verzeichnisses, braune Stute, ca. 16 Jahre alt, 151 cm groß, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,02.

Die Schleimhaut der Nasenhöhle, sowie die regionären Lymphknoten sind frei von rotzigen Veränderungen. Eine Hand breit vor der Gabelung der Luftröhre in ihre beiden Aeste hat ein längsovales, 2 cm langes und 1 cm breites Geschwür mit unregelmäßig gestaltetem und grauweißem, speckigem Grunde seinen Sitz. Die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind hasel- bis walnußgroß und weisen auf der stark durchfeuchteten Schnittfläche zahlreiche, graue, mörtelartige Zerfallsherde auf. Beide Brustfellsäcke enthalten mehrere Liter einer trüben, schwach rötlich gefärbten, zum Teil geronnenen Flüssigkeit.

Die Oberfläche des Lungenfells beider Lungen ist in der Nähe des scharfen Randes bis zur Viertelhöhe der Lungen mit einem grauen, leicht gekörnten, teilweise abheb- baren Belage versehen. Am scharfen Rande selbst sitzen einige fadenförmige Anhängsel. Die Lunge ist an den bezeichneten Stellen kleiner, ihre Schnittfläche luftleer und ge- rötet. Im Parenchym der Lungen liegen zahlreiche pfefferkorn- bis erbsengroße Knoten. Die größeren setzen sich aus mehreren kleineren Herden zusammen, die durch Binde- gewebe voneinander getrennt sind. Die kleineren Herde haben eine graue Peripherie und ein mörtelartiges Zentrum. Die an der Lungenwurzel und im Mittelfellsraum ge- legenen Lymphknoten sind vergrößert, stark pigmentiert und enthalten sehr viele eiter- ähnliche Zerfallsherde.

Die Milz ist geschwollen, die Kapsel blau durchscheinend, ihre Schnittfläche von weicher Konsistenz. Leber, Nieren und Darm sind frei von rotzigen Veränderungen, desgleichen der in der Gebärmutter befindliche 4 Monate alte Foetus.

Diagnose: Rotziges Geschwür in der Luftröhrenschleimhaut, frische rotzige Entzündung der hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten, rotzige Herde in den Lungen, serös-fibrinöse Brustfellentzündung.

Pferd W 34

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 3 Jahre alt, 157 cm groß, Agglutinationswert 1000, Bindungswert 0,01.

Die Schleimhaut der Nasenhöhle und Luftröhre ist überall glatt und glänzend. Die hinteren Pakete der Kehlganglymphknoten und die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind geschwollen und von markiger Konsistenz.

In der rechten Lunge befindet sich ein walnußgroßer Knoten, der unter der Oberfläche liegt und sich aus einer größeren Anzahl von gelben, linsengroßen Zerfalls- herden zusammensetzt. Das umgebende Lungengewebe ist luftleer, von gelbroter Farbe und gallertiger Beschaffenheit. Die an der Lungenwurzel und im Mittelfellsraum be- findlichen Lymphknoten sind um das Zwei- bis Dreifache vergrößert und enthalten eine große Menge unregelmäßig gestalteter, eitrig eingeschmolzener, gelber Herde.

Diagnose: Ein größerer Rotzherd in der Lunge, rotziger Zerfall der an der Lungenwurzel und im Mittelfellsraum gelegenen Lymphknoten.

Pferd W 36

des Verzeichnisses, Fuchswallach, Stern, 2 Jahre alt, 148 cm groß, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,01.

Die Schleimhaut der Nasenhöhlen und der Luftröhre ist überall glatt und glänzend. Die hinteren Pakete der Kehlganglymphknoten sind bohnen- bis haselnußgroß, auf der Schnittfläche weich, feucht und glänzend. Nach sorgsamem Zerlegen der einzelnen Knoten in millimeterstarke Scheiben gelingt es, in einem Lymphknoten einen stecknadel- kopfgroßen Zerfallsherd nachzuweisen, der mitten im markig geschwollenen Lymph- knotengewebe seinen Sitz hat. Die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind geschwollen und auf der Schnittfläche saftreich und gerötet.

Die an der Lungenwurzel und dem Mittelfellsraum gelegenen Lymphknoten sind vergrößert, ihre Schnittfläche ist grau und saftreich. Zwei durch Bindegewebe mit- einander verwachsene Lymphknoten enthalten je einen stecknadelkopfgroßen, eiter- ähnlichen Zerfallsherd. Die Oberfläche des Lungenfells ist glatt und glänzend und weist nirgends irgendwelche Knoten auf. Auch lassen sich solche beim sorgsamsten Durchtasten, sowie nach dem Zerlegen der Lunge in eine größere Anzahl dünner Scheiben nicht nachweisen.

Die Milz ist klein und auf der Schnittfläche trocken; das trabekuläre Gewebe tritt deutlich hervor. Leber und Leberlymphknoten, sowie Nieren sind ohne Ver- änderungen. Im Darm und den dazugehörigen Lymphknoten lassen sich rotzige Ver- änderungen nicht nachweisen.

Diagnose: Rotz der im Kehlgange und an der Lungenwurzel gelegenen Lymph- knoten.

Am 27. Jan. 1912 wurden folgende sechs dem Schneidemühlenbesitzer Goldberg in Lappienen, Kreis Niederung, Reg.-Bez. Gumbinnen, gehörige Pferde getötet und sofort zerlegt.

Pferd L. 1

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 5 Jahre alt, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,1.

Die Haut sowie die Schleimhäute der Nasengänge des Kehlkopfes und der Luftröhre sind frei von Veränderungen. Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten zeigen keine Vergrößerung, dagegen sind die linkerseits hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknotenpakete derb, von Hühnereigröße, und weisen im Innern einen überhaselnußgroßen, eitrigen Zerfallsherd auf.

Die Oberfläche des Lungenfells ist glatt und glänzend. Durch dasselbe sieht man eine größere Anzahl von etwa zehnpfennigstückgroßen runden Flecken hindurchschimmern. Dieselben entsprechen auf dem Querschnitt bis zu haselnußgroßen, knotenähnlichen Gebilden und bestehen aus einer breiten, luftleeren, dunkelroten, peripheren Zone und einem zentralen, etwa stecknadelkopfgroßen, grauen Kern, der noch keinen Zerfall aufweist. Die an der Teilungsstelle der Luftröhre und im Mittelfellraum gelegenen Lymphknoten sind vergrößert, gerötet, auf der Schnittfläche saftreich und mit vereinzelt hirsekorn- bis erbsengroßen, zentralen, eiterähnlichen Zerfallsherden durchsetzt.

Die Milz ist geschwollen. Auf der Schnittfläche tritt das Pulpagewebe deutlich hervor und verdeckt dadurch das netzförmig gebaute Stützgerüst. In der Milz finden sich erbsengroße, im Innern eiterig eingeschmolzene, graugelbe Herde, die teils dicht unter der Oberfläche, teils im Innern des Parenchyms ihren Sitz haben.

Diagnose: Rotziger Zerfall der retropharyngealen Lymphknoten, ganz frische Rotzherde in den Lungen, frische rotzige Entzündung der bronchialen und mediastinalen Lymphknoten, Schwellung der Milz und metastatische frische Rotzherde in der Milz.

Pferd L. 4

des Verzeichnisses, Rappwallach, 10 Jahre alt, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,1.

Linkerseits am oralen Ende der Schleimhaut der Nasenscheidewand findet sich eine fünfpfennigstückgroße, etwas erhabene, weiße Narbe, welche stralig in die Nachbarschaft ausläuft. Die im Kehlgange auf der linken Seite gelegenen Lymphknoten sind etwa bohnen groß, miteinander verwachsen, auf der Schnittfläche ziemlich derb und enthalten einige Einschmelzungsherde. Die hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten haben um das Zwei- bis Dreifache an ihrer Größe zugenommen und zeigen eine gerötete und saftreiche Schnittfläche. In der Schleimhaut des Kehlkopfes und der Luftröhre befinden sich mehrere flache Geschwüre von elliptischer Gestalt und mit ausgefransten Rändern.

Die Oberfläche des sonst glatten und glänzenden Lungenfells zeigt mehrere hügelartige Erhebungen. Dieselben erweisen sich auf der Schnittfläche als erbsengroße Knötchen, von denen die meisten ein gelbes, eitriges Zerfallszentrum und eine graue, glasige Peripherie besitzen, einige aber eine deutliche, rötliche, periphere Zone zeigen. Der mittlere untere Teil der rechten Lunge ist luftleer, derb, auf der Schnittfläche gerötet und aus derbem, rotem Gewebe bestehend, welches von weißen Zügen durchzogen ist. Ferner sieht man daselbst die teils in der Längs-, teils in der Querrichtung getroffenen Bronchien, deren Schleimhaut verdickt ist und welche mit einer schleimig-eitrigen Masse angefüllt sind. Am stumpfen Rande derselben Lunge ist ein apfelgroßer, sich stark über die Oberfläche hervorwölbender Herd dicht unter dem Lungenfell gelegen. Derselbe setzt sich aus einer 1 cm breiten, weißen, bindegewebigen Zone zusammen, welche eine etwa walnußgroße, glattwandige Höhle mit eitrigem Zerfallsmassen einschließt. Die bronchialen Lymphknoten sind vergrößert, saftreich, fleckweise pigmentiert und mit zahlreichen Zerfallsherden angefüllt.

Die Milz ist klein, ihre Kapsel blauweiß. Die Schnittfläche ist trocken und läßt deutlich das trabekuläre Stützgerüst erkennen. Auf der Zwerchfellsfläche der Leber findet sich eine große Anzahl von 1—2 cm langen, zottenförmigen Anhängseln. Die Leber selbst enthält verkalkte Knoten von verschiedener Größe.

Diagnose: Rotzige Narbe auf der Nasenschleimhaut, frische rotzige Geschwüre in der Kehlkopf- und Luftröhrenschleimhaut, rotzige Entzündung der retropharyngealen Lymphknoten, chronische Rotzherde in den Lungen und rotzige Pneumonie, rotzige Entzündung der bronchialen Lymphknoten, zottige Anhängsel an der Leberoberfläche und verkalkte parasitäre Knoten in der Leber.

Pferd L. 5

des Verzeichnisses, Schimmelwallach, 7 Jahre alt, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,05.

Die im Kehlgange und hinter dem Kehlkopfe gelegenen Lymphknoten sind etwas geschwollen, auf der Schnittfläche leicht gerötet und ziemlich saftreich. Die Schleimhaut der Nasengänge und der Luftröhre ist unverändert.

Die Lungen enthalten in größerer Anzahl erbsen- bis haselnußgroße Knoten, von denen die kleineren eine breite, rote periphere Zone und ein graues Zentrum zeigen, die größeren aber eine graue, glasige Peripherie und im Innern eine käsig Masse ent-

halten. An einigen Stellen ist das Lungenfell verdickt, weiß und undurchsichtig; darunter ist das Lungenparenchym in mehr oder weniger großer Ausdehnung in eine gallertige Masse umgewandelt. Endlich sind die Lungen noch Sitz von bis zu walnußgroßen Knoten, welche sich aus einer Anzahl kleinerer, im Zentrum verkäster Herde zusammensetzen. Die an der Teilungsstelle der Luftröhre gelegenen Lymphknoten sind taubeneigroß und enthalten zahlreiche kleinere sowie größere Einschmelzungsherde.

In der Leber finden sich erbsengroße, mit käseähnlichem Zerfallszentrum ausgestattete, graugelbe Herde.

Diagnose: Frische und ältere rotzige Herde in den Lungen, rotzige Entzündung der bronchialen Lymphknoten, metastatische Rotzknoten in der Leber.

Pferd L. 6

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 10 Jahre alt, Agglutinationswert 600, Bindungswert 0,05.

Die im Kehlgange gelegenen etwa bohnen großen Lymphknoten sind miteinander verwachsen und enthalten mehrere strohgelbe Einschmelzungsherde. Eine ähnliche Beschaffenheit weisen die hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten auf. Die Schleimhaut der Nasenscheidewand ist an ihrem oralen Ende mit geschwürsähnlichen, linsengroßen, zackig umrandeten Vertiefungen behaftet.

Die Oberfläche des Lungenfells ist überall glatt und glänzend. Im Parenchym der Lunge hat eine große Anzahl erbsen- bis haselnußgroßer Knoten ihren Sitz. Dieselben weisen eine graue, glasige, periphere Zone und ein mörtelähnliches Zentrum auf. Daneben finden sich größere rote Knoten, die im Innern grau sind.

Leber und Milz sind unverändert.

Diagnose: Rotzige Geschwüre auf der Nasenscheidewand, rotzige Entzündung der im Kehlgange und hinter dem Kehlkopfe gelegenen Lymphknoten, frische und ältere Rotzherde in den Lungen.

Pferd L. 7

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 8 Jahre alt, rechter Hinterf. weiß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,3 p.

Ein im Kehlgange gelegener etwa haselnußgroßer Lymphknoten ist fast in seiner ganzen Ausdehnung in eine mörtelähnliche, trockene, strohgelbe Masse umgewandelt. Die Schleimhaut der Nasengänge und Nasenscheidewand sowie der Luftröhre ist überall glatt und glänzend.

In den Lungen befinden sich sehr viele erbsengroße glasige Knoten, die im Innern eine gelbe, eiterähnliche Zerfallsmasse enthalten. Die bronchialen Lymphknoten sind geschwollen, teilweise miteinander verwachsen und enthalten mehrere strohgelbe nekrotische Herde.

Diagnose: Rotziger Zerfall der retropharyngealen und bronchialen Lymphknoten, ältere Rotzherde in den Lungen.

Pferd L. 8

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 10 Jahre alt, Stern, Schnibbe, Agglutinationswert 500, Bindungswert 0,1.

Die Schleimhäute der oberen Luftwege und die dazu gehörigen Lymphknoten zeigen keine Veränderungen.

Die Oberfläche des Lungenfells ist mit zottigen Anhängseln bedeckt. An einzelnen Stellen ist das Lungenfell selbst verdickt, weiß und undurchsichtig. Die Lungen enthalten zahllose, verschieden große Knoten. Die etwa erbsengroßen Herde haben eine graue, glasige Peripherie und ein mörtelähnliches Zerfallszentrum. Daneben beobachtet man größere Knoten, die aus einem gallertigen luftleeren Gewebe bestehen und hirse- oder korngroße eiterähnliche Herde enthalten. Endlich finden sich linsengroße Knoten mit roter Peripherie und grauem Zentrum. Die bronchialen Lymphknoten sind geschwollen, auf der Schnittfläche saftreich und mit eitrigem Zerfallsherden durchsetzt.

Diagnose: Chronische Rotzherde in den Lungen und in den bronchialen Lymphknoten.

Am 16. und 17. Febr. 1912 wurden folgende 38 Pferde des Ansiedelungsgutes Chludowo, Kreis Posen Ost, getötet und sofort zerlegt. Hierbei ergaben sich die nachstehenden Befunde.

Pferd C. 3

des Verzeichnisses, braune Stute, Blässe, rechter Vorderfuß und beide Hinterkr. weiß, 15 Jahre, 169 cm, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,2.

Auf der Schleimhaut der Nasenscheidewand rechterseite mehrere ca. knopf große, grauweiße Erhabenheiten und daneben eine größere Anzahl fünf- bis zehnpfennigstückgroßer flacher Geschwüre, welche zum Teil zu größeren Geschwürsflächen zusammenfließen und der Schleimhaut ein ausgenarbttes Ansehen geben. Am unteren Ende der Nasenschleimhaut derselben Seite befindet sich außerdem noch eine längliche, etwa zehnpfennig große Geschwürsfläche.

pfennigstückgroße, strahlenförmig nach außen verlaufende Narbe. Die Schleimhaut der Oberkiefer- und Stirnhöhle ist verdickt, teilweise mit Geschwüren besetzt und mit einer zähflüssigen gelben Masse bedeckt. Die Kehlganglymphknoten sind miteinander verwachsen, von Haselnußgröße und enthalten zahlreiche Eiterherde. Eine ähnliche Beschaffenheit weisen die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten auf.

In den Lungen finden sich zahlreiche durchschnittlich erbsengroße Knötchen, welche eine rote Peripherie und ein graues Zentrum haben. Die Lungenlymphknoten sind geschwollen und von Zerfallsherden durchsetzt.

In der Milz und Leber finden sich erbsengroße strohgelbe Herde mit zentraler Einschmelzung.

Diagnose: Rotzgeschwüre und Rotznarben auf der Nasenschleimhaut, chronische rotzische Entzündung der Kehlgangs- und der hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten, frische Rotzherde in den Lungen und in den Lungenlymphknoten, metastatische Rotzherde in Leber und Milz.

Pferd C. 4

des Verzeichnisses, dunkelbraune Stute, Flocke, 16 Jahre, 162 cm, Agglutinationswert 4000, Bindungswert 0,01.

Die Schleimhaut der oberen Luftwege und die dazu gehörigen Lymphknoten weisen keine Veränderungen auf.

Die Oberfläche des Lungenfelles ist hügelig, das Lungenfell selbst an einzelnen Stellen weiß und undurchsichtig.

In den Lungen sitzen zahllose erbsen- bis haselnußgroße Knoten mit breiter, roter, verdichteter Peripherie und grauem zentralem Herde. Einzelne Knoten sind außen glasig und im Innern mit mörtelartigen Zerfallsmassen angefüllt. Die Lungenlymphknoten sind vergrößert und von zahlreichen Zerfallsherden durchsetzt.

In der Milz und in der Leber finden sich viele gelbe Knoten, die teils im Innern zerfallen sind, teils sich wieder aus einer Anzahl kleinerer gelber Zerfallsherde zusammensetzen.

Diagnose: Frische rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frischer Rotz in den Lungen, metastatische Herde in der Leber und Milz.

Pferd C. 5

des Verzeichnisses, Fuchswallach, Blässe, beide Vorderfüße und rechter Hinterfuß weiß, 12 Jahre, 165 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

In der Schleimhaut der Luftröhre rechterseits liegen viele fünf- bis zehnpfennigstückgroße Geschwüre mit speckigem, gerötetem Grunde und ausgenarbteten Rändern. Dieselben fließen an einzelnen Stellen ineinander zusammen, so daß daselbst die Schleimhaut in eine große Geschwürsfläche umgewandelt ist. In der Schleimhaut der rechten unteren Nasenmuschel befinden sich mehrere ca. erbsengroße, grauweiße Knötchen, die sich deutlich von dem nachbarlichen gesunden Schleimhautgewebe absetzen. Die rechten Kehlganglymphknoten stellen ein zusammenhängendes etwa faustgroßes Paket dar, welches aus haselnußgroßen Lymphknoten besteht, die durch weißes Bindegewebe miteinander verwachsen sind und im Innern Eiterherde enthalten.

Die Lungen sind Sitz zahlloser erbsengroßer Herde mit peripherer geröteter Zone und grauem Zentrum. Bei einzelnen Knoten ist die Randzone glasig, von grauer Farbe und im Innern eitrig eingeschmolzen. In den vergrößerten und auf der Schnittfläche grauweißen feuchten Lungenlymphknoten sitzen einige Eiterherde.

Die Leber enthält zahlreiche hirsekorngroße, gelbe, zentral zerfallene Knoten.

Diagnose: Rotzgeschwüre in der Nase und in der Luftröhre; rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, frische Rotzknoten in den Lungen. Metastasen in der Leber.

Pferd C. 8

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 15 Jahre, 165 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

Mehrere auf der rechten Seite des Kehlgangs gelegene Lymphknoten sind bohnen- groß, miteinander verwachsen und weisen erbsengroße gelbe Zerfallsherde auf.

Die Oberfläche des Lungenfells ist mit fadenförmigen Anhängseln bedeckt, das Lungenfell teilweise verdickt und undurchsichtig. Die Lungen sind Sitz sehr vieler erbsen- bis walnußgroßer Knoten. Dieselben bestehen in der Mehrzahl aus einem roten peripheren Hof und aus einem grauen Zentrum. Einige, besonders die größeren Knoten sind peripher mehr grau und im Innern zerfallen.

Die etwa hühnereigroßen Lungenlymphknoten sind auf der Schnittfläche saftreich und mit Eiterherden durchsetzt.

In der Leber und in der Milz befinden sich mehrere gelbe, im Innern zerfallene Herde.

Diagnose: Rotzige Entzündung der im Kehlgange gelegenen Lymphknoten und der Lungenlymphknoten, frische Rotzherde in Lunge, Leber und Milz.

Pferd C. 12

des Verzeichnisses, schwarzbrauner Wallach, Stern, beide Vorderkronen und linker Hinterfuß weiß, 17 Jahre, 161 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

Die linkerseits im Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind geschwollen und gerötet. Die retropharyngealen Lymphknoten weisen im Innern einzelne eiterähnliche Zerfallsherde auf.

Die Lungen sind Sitz erbsen- bis haselnußgroßer Knoten, die teils unter der Oberfläche, teils im Innern des Lungenparenchyms liegen und zumeist ein gallertiges Aussehen haben. Auf der Schnittfläche ist die periphere Zone luftleer, verdichtet und gerötet, während das Zentrum in Größe eines Stecknadelkopfes eine graue Farbe aufweist. Die Lungenlymphknoten sind von Hühnereigröße und von eiterähnlichen Zerfallsherden durchsetzt.

Die geschwollene Milz und die Leber enthalten mehrere etwa erbsengroße, innen zerfallene Knoten.

Diagnose: Rotzige Entzündung der im Kehlgange und hinter dem Kehlkopfe sowie an den Lungen gelegenen Lymphknoten, frische Rotzknoten in der Lunge, metastatische Rotzherde in der Leber und Milz.

Pferd C. 15

des Verzeichnisses, braune Stute, 5 Jahre, 164 cm, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,2.

In den linken Kehlganglymphknoten finden sich einige verkäste Herde. Von ähnlicher Beschaffenheit sind die Lungenlymphknoten.

Die Lungen weisen drei etwa erbsengroße Knoten auf, welche eine graurote, periphere Zone besitzen und ein eiterähnliches Zerfallszentrum. Das letztere ist zackig gegen die Nachbarschaft abgegrenzt.

In der Milz sitzen mehrere erbsengroße Zerfallsknoten.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, einige Rotzknoten in Lunge und Milz.

Pferd C. 16

des Verzeichnisses, braune Stute, Flocke, 10 Jahre, 165 cm, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,1.

Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind geschwollen, auf der Schnittfläche saftreich und von ganz vereinzelt Eiterherden durchsetzt. Die Schleimhaut der oberen Luftwege ist überall glatt und glänzend.

Die Lungenlymphknoten sind vergrößert, miteinander verwachsen und weisen eiterähnliche Zerfallsherde auf.

In den Lungen befinden sich zahlreiche überwiegend erbsengroße Knoten mit grauer Peripherie und mörtelartigem Zentrum.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, ältere Rotzknoten in den Lungen.

Pferd C. 17

des Verzeichnisses, brauner Wallach, beide Hinterfüße weiß, 13 Jahre, 171 cm, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,2.

Die Lungenlymphknoten sind vergrößert und von eitrigen Zerfallsherden durchsetzt. In den Lungen finden sich sehr viele etwa erbsengroße Knoten. Dieselben zeigen zumeist eine schmale periphere graue Zone und ein mörtelähnliches Zerfallszentrum. Der mittlere untere Teil der linken Lunge ist luftleer und von grauweißer Farbe. Die Bronchien sind mit einer schleimigen, eiterähnlichen Masse angefüllt, die bronchialen Wände verdickt.

In der Milz sitzt ein erbsengroßer gelber Zerfallsknoten mit bindegewebiger Zone. Ähnliche Knoten lassen sich in der Leber nachweisen.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, ältere Rotzknoten in der Lunge und rotzige Lungenentzündung, metastatische Rotzherde in Milz und Leber.

Pferd C. 18

des Verzeichnisses, braune Stute, Blässe, 12 Jahre, 172 cm, Agglutinationswert 1000, Bindungswert 0,4 p.

Die Lungenlymphknoten sind hühnereigröß, mit eiterähnlichem Zerfallsherde durchsetzt. Die Lungen sind Sitz erbsen- bis haselnußgroßer Knoten, die in der Mehrzahl der Fälle eine breite, grauweiße Randzone und ein mörtelähnliches strohgelbes Zerfallszentrum besitzen.

Die Milz ist geschwollen und auf ihrer Schnittfläche mit einigen erbsengroßen Einschmelzungsherden durchsetzt.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Rotzherde in der Milz.

Pferd C 21

des Verzeichnisses, Fliegenschimmelstute, 14 Jahre, 161 cm, Agglutinationswert 1000, Bindungswert 0,1.

Die Lungenlymphknoten sind um das 2—3-fache vergrößert, auf die Schnittfläche grauweiß, saftreich und mit eitrigen Zerfallsherden durchsetzt. Die Lungen enthalten zahllose erbsengroße Knoten, welche zum großen Teil unter der Oberfläche des Lungensells liegen und derselben ein hügeliges Aussehen geben. Die Knoten haben zumeist eine gallertige Konsistenz und rotgraue Farbe. Im Inneren derselben befinden sich graue Zerfallsherde, daneben sieht man vielfach über das Lungenparenchym zerstreut graurote, luftleere, pneumonische Herde, deren verbreitertes Zwischengewebe sich in Form von weißen Zügen deutlich abhebt.

Die Milz ist geschwollen und mit erbsengroßen gelben Zerfallsherden durchsetzt.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frische gallertige Lungenentzündung, frische Rotzknoten in der Lunge, Metastasen in der Milz.

Pferd C 23

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Blässe, 11 Jahre, 163 cm, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,05.

Die Schleimhaut der oberen Luftwege ist glatt und glänzend.

Die Lungenlymphknoten sind vergrößert und stellenweise in eine gelbe, mörtelähnliche Masse umgewandelt. Die Lungen enthalten mehrere Knoten von verschiedener Größe. Die walnußgroßen Knoten setzen sich aus linsengroßen eiterähnlichen Zerfallsherden zusammen, welche in einem grauen, gelben, gallertigen Gewebe liegen. Andere Knoten, welche mit erweiterten und verdickten Bronchien Verbindung haben, bestehen aus luftleeren, gerötetem, verdichtetem Gewebe. In der Milz mehrere Zerfallsknoten.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frische Rotzherde in den Lungen, lobuläre Pneumonie, Rotzherde in der Milz.

Pferd C 24

des Verzeichnisses, brauner Wallach, Flocke beide Hinterfessel weiß, 5 Jahre, 170 cm, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,1.

Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind haselnußgroß, von feuchter Beschaffenheit und grauweißer Farbe.

In der Lungen finden sich zahlreiche, erbsengroße Knoten mit roter Randzone und stecknadelspitzenmäßigem, grauem Zentrum. Der Zwerchfellslappen der rechten Lunge ist in seiner ganzen Ausdehnung verdichtet, von grauweißer Farbe und enthält eine große Anzahl mörtelartiger Einschmelzungsherde. Die Lungenlymphknoten sind vergrößert und mit eitrigen Zerfallsherden durchsetzt.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frische Rotzknoten in der Lunge, rotzige Lungenentzündung.

Pferd C 26

des Verzeichnisses, Schimmelwallach, 13 Jahre, 180 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,2.

Die etwa hühnereigroßen Lungenlymphknoten sind mit käseähnlichen Zerfallsherden durchsetzt. In den Lungen finden sich zahlreiche erbsen- bis haselnußgroße Knoten, die teils an der Oberfläche, teils im Inneren ihren Sitz haben. Die größeren bestehen zumeist aus einem gallertigen Gewebe und enthalten stellenweise graugelbe Einschmelzungsherde. Die kleineren Knoten sind außen teils glasig, teils rot und von einem stecknadekopfartigen eiterähnlichen Zerfallszentrum durchsetzt.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frische und ältere Rotzherde in den Lungen.

Pferd C 28

des Verzeichnisses, Rappwallach, 11 Jahre, 168 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,2.

Die Schleimhaut der Nasenscheidewand enthält linkerseits und ebenso die entsprechende Stelle der oberen Nasenmuschel einen etwa 5 cm langen und 1 cm breiten, weißen, leicht erhabenen Streifen, welcher strahlig in die Umgebung ausläuft. Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind geschwollen.

Die Lungenlymphknoten weisen zahlreiche eitrig zerfallende auf. In den Lungen sitzen erbsen- bis haselnußgroße Knoten von meist gallertiger Beschaffenheit mit gelbem Zerfallszentrum. Daneben finden sich kleinere Knoten mit roter peripherer Zone und grauem Zentrum.

Die Leber ist von erbsengroßen, gelben Zerfallsherden durchsetzt.

Diagnose: Narbe auf der Nasenschleimhaut, frische und ältere Rotzknoten in den Lungen, frische und ältere rotzige Entzündung Lungenlymphknoten. Metastasen in der Leber.

Pferd C 37

des Verzeichnisses, braune Stute, Flocke, 12 Jahre, 158 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

Am vorderen Ende der Schleimhaut der Luftröhre etwa in Höhe des 12. Luftröhrenringes befindet sich ein ca. 1 cm langes Geschwür mit gallertigem Grunde und roten, etwas aufgewulsteten Rändern.

Die Lungenlymphknoten sind geschwollen, pigmentiert und von eitrigem Zerfallsherden durchsetzt. In der Lunge haben zahlreiche erbsengroße Knoten mit grauer, glasiger Peripherie und mörtelähnlichem Zerfallszentrum ihren Sitz. Der rechte Zwerchfellslappen ist luftleer, auf der Schnittfläche grauweiß und mit stecknadelkopfgroßen Eiterherden durchsetzt.

Diagnose: Rotzgeschwür in der Luftröhre, rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, rotzige Lungenentzündung, ältere Rotzknoten in den Lungen.

Pferd C 38

des Verzeichnisses, braune Stute, kleine Flocke, 12 Jahre, 165 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

Die Lungenlymphknoten sind faustgroß, auf der Schnittfläche grauweiß, saftreich und von stecknadelkopfgroßen, mörtelähnlichen Zerfallsherden durchsetzt. In den Lungen befinden sich zahlreiche, erbsen- bis haselnußgroße Knoten, die teilweise dicht unter der Oberfläche, teilweise im Inneren liegen. Die größeren Knoten haben eine gallertige Beschaffenheit und sind von roter Farbe. Die kleineren Knoten zeigen eine teils rote teils graue, durchscheinende, periphere Zone mit im Inneren mehr oder weniger vorgerücktem Zerfall.

In der Milz befinden sich einige erbsengroße, strohgelbe Zerfallsherde.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frische und ältere Rotzherde in den Lungen, Rotzherde in der Milz.

Pferd C 40

des Verzeichnisses, braune Stute, Stern, linke Hinterkrone weiß, 5 Jahre, 160 cm, Agglutinationswert 500, Bindungswert 0,02.

Die bronchialen Lymphknotenpakete sind geschwollen. Einer derselben ist bohnen- groß und fast in seiner ganzen Ausdehnung in eine mörtelartige strohgelbe Masse umgewandelt.

Die Lungen enthalten einen etwa bohnen- großen und dicht unter der Oberfläche liegenden rötlichen Herd, der ein zentrales, stecknadelkopfgroßes, graues Zentrum zeigt. Daneben finden sich drei erbsengroße Knoten mit grauer, durchscheinender Peripherie und eiterähnlichem Zerfallszentrum. Das letztere ist zackig gegen die Umgebung abgegrenzt.

Diagnose: Rotz der Lymphknoten und Lungen.

Pferd C 45

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Stern, linker Vorderfuß, rechte Vorderkrone weiß, 11 Jahre, 163 cm, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,05.

Auf der Schleimhaut der Luftröhre mehrere linsengroße flache Geschwüre mit ausgenarbten Rändern und leicht gerötetem Grunde. Die hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind bohnen- groß und von Eiterherden durchsetzt.

Eine ähnliche Beschaffenheit weisen die Lungenlymphknoten auf. Die Lungen enthalten sehr viele linsengroße Knötchen mit roter, luftleerer peripherer Zone und stecknadelkopfgroßem, grauem Zentrum. Daneben finden sich einige größere Knoten mit grauer Randzone und eitrigem zentralen Zerfall.

In der Leber sieht man eine größere Anzahl erbsengroßer Zerfallsherde von rotgelber Farbe.

Diagnose: Rotzige Geschwüre in der Luftröhre, rotzige Entzündung der hinter dem Kehlgange gelegenen, sowie der Lungenlymphknoten, frische und ältere Rotzknoten in den Lungen, metastatische Rotzherde in der Leber.

Pferd C 55

des Verzeichnisses, Fuchswallach, Stern, 4 Jahre, 151 cm, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,05.

Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten bestehen zumeist aus bohnen- großen Knötchen, die sehr saftreich sind und einige stecknadelkopfgroße Eiterherde in dem grauen Gewebe erkennen lassen.

Die Lungen sind Sitz sehr vieler erbsengroßer Knoten mit grauer, glasiger Peripherie und eiterähnlichem Zerfallszentrum. Die geschwollenen Lungenlymphknoten enthalten mehrere gelbe Zerfallsherde.

Diagnose: Rotz der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, Rotzherde in den Lungen.

Pferd C 61

des Verzeichnisses, Fuchsstute, Blässe, linke Vorderkrone weiß, 9 Jahre, 152 cm, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,2 p.

Die Lungenlymphknoten sind von Hühnereigröße, auf der Schnittfläche pigmentiert, sehr saftreich und stellenweise in eine käseähnliche Masse umgewandelt. Die Lungen enthalten linsen- bis erbsengroße Knötchen, welche teils eine rote Randzone und ein graues Zentrum besitzen, teils in einer grauen peripheren Zone ein eitriges Zerfallszentrum enthalten.

In der Leber finden sich mehrere graue Knoten mit bindegewebiger Umgrenzung, in deren Innern einige Eiterpfropfe sitzen.

Diagnose: Rotz der Lungenlymphknoten, frische und ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Herde in der Leber.

Pferd C 62

des Verzeichnisses, braune Stute, Flocke, 12 Jahre, 170 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,2.

Am oberen Ende der Schleimhaut der Nasenscheidewand rechterseits liegen mehrere etwa fünfpfennigstückgroße Geschwüre mit gerötetem, leicht hügeligem Grunde und unregelmäßiger Umrandung. Die im Kehlgange gelegenen Lymphknoten, sowie die Lungenlymphknoten sind vergrößert, saftreich und von Eiterherden durchsetzt.

Die Lunge ist Sitz zahlreicher erbsengroßer Knoten mit grauer Peripherie und eitrigem zentralen Herde. Daneben findet man hasel- bis walnußgroße Knoten, die eine gallertige Konsistenz haben und deren Zwischengewebe stellenweise in Form von breiten Zügen deutlich sichtbar ist.

Diagnose: Rotzige Geschwüre in der Nasenschleimhaut, rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, ältere Rotzknoten in den Lungen, lobuläre pneumonische Herde.

Pferd C 63

des Verzeichnisses, Fuchswallach, Flocke, beide Vorderkronen und beide Hinterfüße weiß, 12 Jahre, 155 cm, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,1.

In der Schleimhaut der Nasenscheidewand auf der rechten Seite und etwa in der Mitte derselben liegen mehrere fünfpfennigstückgroße Geschwüre, von denen einige zu größeren Geschwüren zusammengefließen sind. Die Ränder dieser Geschwüre sind etwas aufgewulstet und erscheinen wie ausgenarbt. Der Grund ist rötlichweiß. Ferner befindet sich am oberen Ende des rechten Stimmbandes ein zehnpfennigstückgroßes Geschwür mit gallertigem Grunde und unregelmäßiger Umrandung. An der gegenüberliegenden Stelle linkerseits sitzt ein linsengroßes Geschwür von ähnlicher Beschaffenheit. Die Kehlganglymphknoten stellen beiderseits einen doppelfaustgroßen Strang dar, der sich aus haselnußgroßen innig miteinander verwachsenen Lymphknoten zusammensetzt. In diesen Knoten liegen stecknadelkopfgröße eitrig zerfallende Herde.

Die Lungenlymphknoten sind hühnereigröß, auf der Schnittfläche grauweiß, saftreich und von mörtelähnlichen Zerfallsherden durchsetzt. Die in den Lungen in großer Anzahl befindlichen erbsengroßen Knoten haben eine periphere, graue Zone und sind zentral zerfallen. Daneben findet man noch haselnußgroße Knoten, welche aus einem grauweißen Gewebe, in das kleinere Eiterherde eingesprenkelt sind, bestehen.

Diagnose: Geschwüre auf der Schleimhaut der Nasenscheidewand und des Kehlkopfes, frische und ältere Rotzherde in den Lungen.

Pferd C 64

des Verzeichnisses, Rappstute, Stern, rechte Vorderkrone, linke Vorderfessel und beide Hinterfesseln weiß, 8 Jahre, 155 cm, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,05.

Die Lungenlymphknoten sind vergrößert und von Eiterherden durchsetzt. In den Lungen befinden sich zahlreiche hirsekorn- bis haselnußgroße Knoten, welche zum Teil eine dunkelrote, periphere Zone und ein graues Zerfallszentrum, zum Teil eine mehr graue Randzone mit eitrigem Zerfall erkennen lassen.

In der Leber und Milz sind erbsengroße, grauweiße Herde mit eitrigem Zerfall festzustellen.

Diagnose: Rotz der Lungenlymphknoten, frische Rotzknoten in den Lungen, metastatische Herde in Milz und Leber.

Pferd C 66

des Verzeichnisses, dunkelbraune Stute, 14 Jahre, 165 cm, Agglutinationswert 3000, Bindungswert 0,05.

Die rechten Kehlganglymphknoten stellen ein taubeneigrößes Paket dar und setzen sich aus bohnen großen Lymphknoten mit eitrigem Zerfallsherden zusammen.

Eine ähnliche Beschaffenheit weisen die Lungenlymphknoten auf. In den Lungen sind sehr viele hirsekorn- bis erbsengroße Knoten nachzuweisen, welche eine luftleere, rote, periphere Zone und ein graues Zentrum aufweisen.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, frische Rotzknoten in den Lungen.

Pferd C 67

des Verzeichnisses, Fuchstute, Stern, 7 Jahre, 167 cm, Agglutinationswert 1500, Bindungswert 0,05.

Einige Kehlganglymphknoten sind vergrößert und enthalten eitrig zerfallende Herde. Ähnliche Veränderungen sind in den Lungenlymphknoten nachzuweisen. Die Lungen sind Sitz von erbsen- bis haselnußgroßen Knoten mit grauer, glasiger Peripherie und zentralem, gelbem Einschmelzungsherde.

In der geschwollenen Milz befinden sich mehrere erbsengroße, gelbe Herde.

Diagnose: Rotz der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Rotzherde in der Milz.

Pferd C 73

des Verzeichnisses, Fliegenschimmelwallach, rechtes Auge blind, 12 Jahre, 160 cm, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,05.

Die Nasenschleimhaut enthält rechterseits eine etwa 20 cm lange und $\frac{1}{2}$ cm breite, weiße, leicht erhabene Stelle, welche strahlig in die Umgebung ausläuft. Die Kehlganglymphknoten setzen sich aus bohnen großen Knötchen zusammen, die stellenweise einen starken eitrigen Zerfall aufweisen. Ähnlich sind die hinter dem Kehlkopf und an den Lungen gelegenen Lymphknoten verändert.

Die Oberfläche des Lungenfells ist stellenweise mit zottigen Anhängseln bedeckt, das Lungenfell selbst verdickt, undurchsichtig und von weißer Farbe. Die Lungen weisen erbsengroße Herde mit grauer glasiger Peripherie und mörtelähnlichem Zerfallszentrum auf. Am scharfen Rande der rechten Lunge ist das Lungengewebe luftleer, auf der Schnittfläche gerötet; das Zwischengewebe ist verbreitert und von gallertiger Beschaffenheit. Außerdem befindet sich im Innern der linken Lunge ein taubenei großer Herd, welcher eine etwa 1 cm breite, graugelbe, feuchte Randzone aufweist und dessen Inneres in eine mörtelartige, strohgelbe Masse umgewandelt ist.

Leber und Milz enthalten verschiedene graugelbe Herde.

Diagnose: Rotznarbe auf der Nasenschleimhaut, Rotz der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Herde in Milz und Leber.

Pferd C 74

des Verzeichnisses, Apfelschimmelwallach, linkes Auge blind, 13 Jahre, 168 cm, Agglutinationswert 500, Bindungswert 0,2.

Die Schleimhaut der Nasenscheidewand ist auf der linken Seite Sitz von fünf etwa zehnpfennigstück großen Geschwüren mit gerötetem, speckigem Grunde und ausgenarbttem Rande. An der entsprechenden Stelle der Schleimhaut der oberen und unteren Nasenmuschel befinden sich ähnliche Geschwüre. Die rechten Kehlganglymphknoten stellen einen zusammenhängenden, etwa dreifingerdicken Strang dar, welcher sich aus bohnen großen, durch weißes Bindegewebe miteinander verwachsenen Lymphknoten zusammensetzt. Die Lymphknoten enthalten mehrere graugelbe Zerfallsherde.

Die Lungenlymphknoten sind geschwollen, auf der Schnittfläche saftreich und von Eiterherden durchsetzt. In den Lungen lassen sich zahlreiche linsen- bis haselnuß große Knoten nachweisen. Die kleinen Knoten bestehen aus einer roten peripheren Zone mit einem grauen Zentrum, die großen Knoten weisen eine graue, glasige Peripherie auf, die eine mörtelähnliche Zerfallsmasse einschließt.

In der Leber und in der Milz befinden sich erbsengroße, zentral gelbe Herde.

Diagnose: Rotzgeschwüre in der Nasenschleimhaut, rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, frische und ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Herde in Leber und Milz.

Pferd C. 75

des Verzeichnisses, braune Stute, 14 Jahre alt, 165 cm groß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,05.

In den linkerseits hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten finden sich mehrere bis walnuß große eiterähnliche Zerfallsherde.

Die Lungenlymphknoten sind hühnereigroß und mit gelben Herden von mörtelartiger Konsistenz durchsetzt. Die Lungen enthalten zahlreiche erbsengroße Knoten mit breiter, gallertiger, peripherer Zone und eiterähnlichem Zerfallszentrum.

In Leber und Milz sind grauweiße Herde nachzuweisen, in denen sich Eiterpfropfe befinden.

Diagnose: Rotz der hinter dem Kehlgange und an den Lungen gelegenen Lymphknoten, ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Herde in der Leber und der Milz.

Pferd C. 76

des Verzeichnisses, dunkelbraune Stute, Stern, 16 Jahre alt, 175 cm groß, Agglutinationswert 2000, Bindungswert 0,02.

Die Lungenlymphknoten sind zum Teil in eine mörtelähnliche Masse umgewandelt. In den Lungen liegen zahlreiche linsengroße Knötchen mit roter Peripherie und grauem Zentrum, außerdem sind einige bis haselnußgroße Knoten nachzuweisen, welche eine trübe, graue Randzone besitzen und eine eiterähnliche Zerfallsmasse einschließen.

In der Leber befinden sich erbsengroße gelbe Herde.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, frische und ältere Rotzknoten in den Lungen, metastatische Herde in der Leber.

Pferd C. 81

des Verzeichnisses, braune Stute, Flocke, 16 Jahre alt, 160 ccm groß, Agglutinationswert 500, Bindungswert 0,1.

Auf der Schleimhaut der Nasenscheidewand sitzt ein linsengroßes Geschwür mit ausgenarbten Rändern und gerötetem, gekörntem Grunde. Die linken Kehlganglymphknoten sind geschwollen und enthalten einige Eiterherde.

Die Lungenlymphknoten sind taubeneigroß und von gelben Zerfallsherden durchsetzt. In den Lungen befinden sich zahlreiche erbsengroße Knoten mit grauer Randzone und eiterähnlichem Zerfallszentrum.

Milz und Leber enthalten mehrere grauweiße Knoten, die im Innern mit Eiterpföpfen durchsetzt sind.

Diagnose: Rotzgeschwür auf der Nasenschleimhaut, rotzige Entzündung der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, ältere Rotzknoten in den Lungen, metastatische Rotzherde in Leber und Milz.

Pferd C. 82

des Verzeichnisses, dunkelbrauner Wallach, Flocke, 17 Jahre alt, 163 cm groß, Agglutinationswert 600, Bindungswert 0,1.

In der Schleimhaut der Luftröhre am vorderen Rande derselben befindet sich ein fünfpfennigstückgroßes Geschwür mit aufgewulsteten Rändern und speckigem Grunde. Daneben sind noch zwei kleine strahlige Narben nachzuweisen. Die Kehlgangs- und die hinter dem Kehlkopf gelegenen Lymphknoten sind vergrößert, saftreich und von Eiterherden durchsetzt. Eine ähnliche Beschaffenheit weisen die Lungenlymphknoten auf.

Die Lungen enthalten zahllose Knoten von Erbsen- bis Haselnußgröße. Dieselben bestehen zum Teil aus einer roten, luftleeren, peripheren Zone und einem grauen Zentrum. Die Mehrzahl der Knoten dagegen zeigt eine graue Peripherie und im Innern einen eitrigen Einschmelzungsherd. Daneben beobachtet man hühnereigroße Herde mit grauer Peripherie und einer größeren Anzahl hirsekorngroßer eiterähnlicher Zerfallsherde.

In der Leber und in der Milz sind erbsengroße gelbe Knoten mit Zerfallsherden enthalten.

Diagnose: Rotzgeschwür und Rotznarben in der Luftröhre, rotzige Entzündung der Kehlgangs-, hinter dem Kehlkopf gelegenen und Lungenlymphknoten, frische und alte Rotzherde in den Lungen, metastatische Rotzherde in Leber und Milz.

Pferd C. 83

des Verzeichnisses, Rappstute, linke Seite kleine weiße Flecken, 12 Jahre alt, 160 cm groß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,2.

Die Lungenlymphknoten sind saftreich, geschwollen und von Eiterherden durchsetzt. Die Lungen enthalten in geringer Anzahl etwa erbsengroße Herde mit grauer, glasiger Peripherie und strohgelbem Zentrum.

In der Milz sind mehrere hirsekorngroße gelbe Herde, desgleichen in der Leber.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Lungenlymphknoten, ältere Rotzherde in den Lungen, metastatische Rotzherde in Leber und Milz.

Pferd C. 84

des Verzeichnisses, dunkelbrauner Wallach, 8 Jahre alt, 165 cm groß, Agglutinationswert 3000, Bindungswert 0,05.

Das linke Lymphknotenpaket stellt einen derben fingerdicken Strang dar, welcher aus etwa bohnen großen, miteinander verwachsenen Lymphknoten sich zusammensetzt, die im Innern eitrige Zerfallsherde enthalten. Die rechten hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind hühnereigroß und gleichfalls miteinander verwachsen. An der Schleimhaut des Taschenbandes des Kehlkopfes sitzt ein flaches, etwa linsengroßes Geschwür mit ausgenarbten Rändern.

Die Lungenlymphknoten sind geschwollen und mit Eiterherden durchsetzt. In den Lungen finden sich zahlreiche erbsengroße Knoten, welche zumeist eine rötliche periphere Zone und ein graues Zentrum besitzen.

In der Milz und Leber finden sich graugelbe Knoten von Erbsengröße mit eitrigen Zerfallsherden.

Diagnose: Rotziges Geschwür im Kehlkopf, rotzige Entzündung der Kehlgangswand hinter dem Kehlkopf gelegenen und der Lungenlymphknoten, frische Rotzknoten in den Lungen, metastatische Rotzherde in Milz und Leber.

Pferd C. 85

des Verzeichnisses, Schimmelwallach, 17 Jahre alt, 178 cm groß, Agglutinationswert 800, Bindungswert 0,05.

Auf der Schleimhaut der rechten oberen Nasenmuschel hat ein etwa zehnpfennigstückgroßes Geschwür mit grauem rotem Grunde und etwas aufgewulsteten Rändern seinen Sitz. Die rechten Kehlgangswandlymphknoten sind vergrößert, miteinander verwachsen und von einzelnen Eiterherden durchsetzt.

Die etwa taubeneigroßen Lungenlymphknoten weisen eine saftreiche, pigmentierte Schnittfläche auf und enthalten gelbe Zerfallsherde. In den Lungen sind sehr viele, meist erbsengroße Knoten mit grauer Peripherie und eiterähnlichem Zentrum.

Diagnose: Rotzgeschwür auf der Nasenmuschel, rotzige Entzündung der Kehlgangswand- und Lungenlymphknoten, ältere Rotzknoten in den Lungen.

Pferd C. 86

des Verzeichnisses, brauner Wallach, 15 Jahre alt, 172 cm groß, Agglutinationswert 1000, Bindungswert 0,2.

Die rechten hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten stellen ein hühnereigrößes Paket dar, das sich aus miteinander verwachsenen Lymphknoten zusammensetzt. Im Innern dieser Lymphknoten lassen sich stecknadelkopfgroße Einschmelzungsherde nachweisen.

Die Lungenlymphknoten sind vergrößert und mit Eiterherden durchsetzt. In den Lungen sitzen erbsen- bis haselnußgroße Knoten von gallertiger Beschaffenheit, grau-roter Farbe und mit einem zentralen, grauen, zumeist auch strohgelben Zerfallsherd.

Diagnose: Rotz der hinter dem Kehlgange gelegenen Lungenlymphknoten, frischer Rotz in den Lungen.

Pferd C. 87

des Verzeichnisses, Dunkelfuchswallach, 11 Jahre alt, 172 cm groß, Agglutinationswert 1000, Bindungswert 0,1.

Die linken Kehlgangswandlymphknoten sind haselnußgroß, teilweise miteinander verwachsen und mit einer mörtelartigen Masse angefüllt.

Die Lungenlymphknoten weisen auf ihrer Schnittfläche mehrere eitrig zerfallsherde auf. Die Lungen sind Sitz weniger etwa erbsengroßer Knoten mit gallertiger peripherer Zone und eiterähnlichem Zentrum.

Diagnose: Rotzige Entzündung der Kehlgangswand- und Lungenlymphknoten, frische Rotzherde in den Lungen.

Pferd C. 90

des Verzeichnisses, braune Stute, linke Hinterfessel und rechte Hinterkronen weiß, 3 Jahre alt, 158 cm groß, Agglutinationswert 500, Bindungswert 0,2.

Die rechten hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind bohnen groß, zum Teil eitrig zerfallen.

Die Lungenlymphknoten sind hühnereigröß, auf der Schnittfläche sehr feucht und mit stecknadelkopfgroßen Eiterherden versehen. In den Lungen sitzen tauben- bis hühnereigröße Herde, welche auf der Schnittfläche aus einem rotgelben, feuchten, luftleeren Gewebe bestehen. Andere Knoten haben eine etwa 1 cm breite bindegewebige Kapsel und im Innern einen haselnußgroßen Zerfallsherd.

Diagnose: Rotzige Entzündung der hinter dem Kehlgange gelegenen und Lungenlymphknoten, chronischer Rotz der Lungen.

Pferd C. 91

des Verzeichnisses, Rappstute, 3 Jahre alt, 160 cm groß, Agglutinationswert 1000, Bindungswert 0,05.

Die rechten hinter dem Kehlgange gelegenen Lymphknoten sind bohnen groß, miteinander verwachsen und mit Eiterherden durchsetzt.

Die Lungenlymphknoten sind um das Dreifache vergrößert und enthalten gelbe Einschmelzungsherde. In der rechten Lunge befindet sich ein faustgroßer Herd, welcher dicht unter der Oberfläche liegt. Derselbe besteht auf der Schnittfläche aus einem gelben sulzigen Gewebe. Das Zwischengewebe ist verbreitert und weist gleichfalls eine

gallertige Beschaffenheit auf. An einzelnen Stellen finden sich hirsekorngroße Eiterpfröpfe. Daneben sind in den Lungen noch haselnußgroße Knoten enthalten, die eine ziemlich derbe periphere Zone und ein käseähnliches Zentrum besitzen.

Diagnose: Rotz der Kehlgangs- und Lungenlymphknoten, chronischer Rotz der Lungen.

Die Agglutinations- und Bindungswerte sämtlicher Sera sind von meinen ersten Assistenten Dr. Weber mit größter Genauigkeit bestimmt worden.

Nachdruck verboten.

Zum Begriff der „Säurefestigkeit“.

Von Privatdozent Dr. **Hugo Fischer**, Berlin-Friedenau.

Der kleine Artikel „Säurefest“ und „Antiforminfest“ von Dr. W. Knoll (vgl. dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 61. p. 605) veranlaßt auch mich zu ein paar Worten, die vielleicht im Interesse der notwendigen Klarheit nicht ganz überflüssig sein werden:

Die Bezeichnung „säurefest“ bzw. „alkoholfest“ wurde bekanntlich für solche Objekte eingeführt, die, wie Tuberkelbacillen und ihre Verwandte, ferner viele Bakteriensporen und anderes, sich nur schwer mit Anilinfarben etc. färben lassen, aber, wenn einmal in der dafür üblichen Weise mit erwärmtem Karbolfuchsin gefärbt, den aufgenommenen Farbstoff sehr festhalten und bei Auswaschung mit recht starken Säuren, oder mit Alkohol und Wasser abwechselnd behandelt, länger als andere gefärbt bleiben.

Das also bedeutet „säurefest“. Nun liegt allerdings die Versuchung nahe, dieser lediglich der Färbetechnik entnommenen Bezeichnung einen gar nicht hinein gehörigen, kulturell-physiologischen Sinn unterzulegen: Objekte, die durch Säure (bzw. Alkohol) nicht abgetötet oder in der Entwicklung nicht gehemmt werden, vielmehr solche, bis zu einem gewissen Grade dem Kulturboden beigemischt, vertragen. Es gibt ein im übrigen vortreffliches Buch, dessen Autor — ich verschweige den Namen, um den Schein zu vermeiden, als wollte ich ihn wegen dieser Entgleisung denunzieren — tatsächlich diese Dinge verwechselt hat und den „säurefesten“ Bakterien nachsagt, daß sie die Fähigkeit hätten, in angesäuertem Boden zu wachsen.

Um solchen Doppelsinn zu vermeiden, ist es selbstredend unerlässlich, eine scharfe Trennung der Begriffe vorzunehmen und bestimmte Worte dafür festzulegen.

Die Bezeichnung „säurefest“ ist nun seit lange für das färbe-technische Verhalten eingeführt, so daß es nur zu neuer Verwirrung führen würde, wollte man jetzt ein anderes Wort dafür gebrauchen. Also wird es gut sein, in der Bakteriologie alle Zusammensetzungen mit „-fest“ nur für färberische Eigentümlichkeiten, bezogen auf ganz bestimmte Färbeverfahren, anzuwenden.

Für relative Widerstandsfähigkeit der lebenden Substanz gegen Säure, Alkali, Formalin oder andere, sonst mehr oder weniger bakterizid oder doch hemmend wirkende Stoffe ständen uns dann noch zwei Termini zur Verfügung, und das ist gut, weil wir zwei verschiedene Arten des physiologischen Verhaltens auseinanderzuhalten haben werden. Es wird nicht immer gleichgültig sein, ob wir Bakterien oder andere Orga-

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

nismen vorübergehend mit irgendeinem chemischen Stoff behandeln und sie dann in einen indifferenten Nährboden bringen, oder ob wir die betreffende Substanz dem Nährboden beimischen. Es dürfte nun wohl einer ziemlich allgemein üblichen, wenn auch nicht ganz konsequent durchgeführten Gewohnheit entsprechen, wenn wir für den ersteren Fall das Wort „resistent“, für den letzteren das Wort „tolerant“ präzis festlegen. Es würde also „säureresistent“ einen Organismus bezeichnen, welcher vorübergehende Behandlung mit freier Säure besser als andere verträgt, um dann in neutralem Substrat weiter zu wachsen; dagegen würden wir „säuretolerant“ eine Art nennen, die in einem sauer reagierenden Nährboden noch weiter wächst. Das würde dann für alle anderen in Frage kommenden Chemikalien, nebenbei auch für physikalische Einflüsse, wie Wärme etc., die entsprechend präzisierten Zusammensetzungen ergeben.

Nachdruck verboten.

Ein neuer Bakterenschaber.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Instituts für experimentelle Therapie zu Düsseldorf (Vorsteher: Stabsarzt Dr. Fromme).]

Von Dr. Franz Schreiber.

Mit 2 Figuren.

Zum Abnehmen größerer Kulturmengen von festen Nährböden, Agar, Drigalski-Platten etc. bediene ich mich seit längerer Zeit des sogenannten Bakterenschabers (s. nebenstehende Skizze). Derselbe ist von der Firma Hugershoff, Leipzig, Carolinenstraße zu beziehen. Die Firma hat D.R.G.M.-Schutz für das Instrument angemeldet.

Der vordere platte, zum Abschaben des Bakterienrasens bestimmte Teil des aus Neusilber hergestellten, hartgelöteten und in der Bunsenflamme abbrennbaren Instrumentes ist mit dem Griff durch ein Mittelstück verbunden, dessen Biegungen es ermöglichen, einerseits rasch und bequem bei nur leichter Lüftung des Deckels der Schale das Material abzunehmen und andererseits in Kolben oder mittelweiten Reagensgläsern in Kochsalzlösung zu verreiben. Für ganz enge Reagensgläser wird der Schaber mit der Abänderung hergestellt, daß der vordere Teil kürzer gehalten ist. Natürlich kann das Material auch auf Wägegläsern oder sonst wie abgestrichen werden. Das Instrument ist zur Vaccinebereitung, zu Untersuchungen über Toxine und Endotoxine, für Aggressin- und ähnliche Untersuchungen mit Vorteil zu verwenden.

Profil Vorderansicht

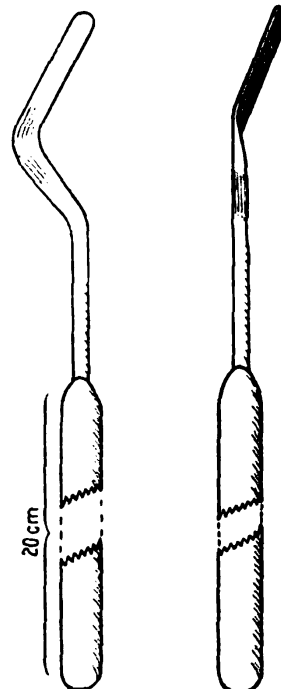


Fig. 1.

Fig. 2.

Inhalt.

- Arima, E.**, Ueber die Typhustoxine und ihre pathogene Wirkung, p. 424.
- v. Betegh, L. u. Dorcich, P.**, Studien über Sarkosporidien, p. 387.
- Doerr, E. u. Weinfurter, F.**, Die primäre Toxizität der Antieiwässera, p. 401.
- Eisenberg, Philipp**, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien, p. 305.
- Emmerich, E. u. Loew, O.**, Ueber das Verhalten von Pyocyanase zu Diphtherietoxin, p. 437.
- Fischer, Hugo**, Zum Begriff der „Säurefestigkeit“, p. 542.
- Haller, E. u. Ungermann, E.**, Ueber die Empfänglichkeit der Ziege für die Infektion mit Typhusbacillen, p. 337.
- Hurler, Konrad**, Vergleichende Untersuchungen über den Bacillus paratyphosus B, den Bacillus enteritidis Gärtner und die Rattenbacillen: Ratinbacillus, Bacillus ratti Danysz, Bacillus ratti Dunbar und Bacillus ratti Isatschenko, p. 341.
- Klein, B.**, Zur Beobachtung der Zersetzung von Kohlehydraten durch Bakterien, p. 321.
- Leon, N.**, Notes de Parasitologie, p. 382.
- Loeb, Leo**, Quantitative Untersuchungen über Immunität gegen Tumoren bei Mäusen, p. 450.
- Miessner, H.**, Die Bedeutung der Agglutinations-, Komplementbindungsmethode und Conjunctivalprobe für die Diagnose des Rotzes, p. 482.
- Reukauf, E.**, Ein Verderber des Wasserbären *Macrobiotus lacustris* Duj., *Macrobiotophthora vimariensis* (Reukauf), p. 390.
- Roth, Gottfried**, Das Schicksal der Milzbrandkeime in der Stalljauche, p. 372.
- Schilling, V.**, Ueber die mögliche Umwandlung von Strukturen zu Pseudoparasiten, Chlamydozoenkörpern etc. in Erythrocyten und anderen Zellen, p. 393.
- Schreiber, Franz**, Ein neuer Bakterien-schaber, p. 543.
- Schurapoff, J. S.**, Ueber die Empfänglichkeit der Kamele für den Mikroorganismus der Bubonenpest, p. 333.
- Semibratoff**, Zur Frage über die bakteriziden und antiparasitären Eigenschaften des Phosgens (COCl_2), p. 479.
- So, F.**, Ueber den Einfluß von Organerkrankungen auf die Extraktwerte bei der Wassermann-Reaktion, p. 438.
- —, Ueber die Verwertbarkeit der modifizierten Präzipitationsmethode nach Porges, p. 442.

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

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 63. Heft 7.

Ausgegeben am 1. Juni 1912.

Nachdruck verboten.

Ueber die Kreatininbildung der Bakterien (als differentialdiagnostisches Merkmal mancher Bakterien).

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Budapest
(Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).]

Von Dr. Tibor Germán.

Es gehört zu den biologischen Eigenschaften einiger Bakterien, daß sie in peptonhaltigen Nährböden Kreatinin erzeugen. Diese Eigenschaft jener Bakterien ist so konstant, daß der Nachweis des Kreatinins für die Differentialdiagnose gut verwendbar ist.

In der Literatur sind bisher bloß zwei Mitteilungen über Kreatininbildung der Bakterien erschienen [Zinno¹⁾, Antonoff²⁾], während in neuerer Zeit Kruse in seiner Allgemeinen Mikrobiologie auf die Bedeutung der Kreatininbildung aufmerksam macht.

Ich untersuchte 35 verschiedene Bakterienarten, die sämtlich in Peptonwasser gezüchtet waren; Bouillon ist zu diesem Zwecke nicht verwertbar, denn sie enthält selbst Kreatinin.

Die Zusammensetzung des Peptonwassers war folgende: 2 Proz. Wittesches Pepton + $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz.

Der Nachweis des Kreatinins geschah mittels der Weylschen Reaktion (zu 5 ccm des zu untersuchenden Materials wird 1 ccm 15-proz. Natronlauge hinzugefügt, sowie einige Tropfen einer frisch angefertigten 1-proz. Nitroprussidnatriumlösung), deren Empfindlichkeit 1:3200 ist. In zweifelhaften Fällen kann die noch empfindlichere Salkowskysche Reaktion verwendet werden. Nach der Weylschen Reaktion wird 1 ccm konzentrierte Essigsäure hinzugefügt).

Ich nannte die erfolgte Reaktion nach ihrer Intensität stark positiv, wenn ich eine dunkelrote, positiv, wenn ich eine lichtere, d. h. weinrote Färbung bekam, und schwach positiv, wenn die eingetretene Farbänderung so gering war, daß nur die Salkowskysche Reaktion eine sichere Entscheidung brachte.

Meine Versuchsergebnisse waren folgende:

Aus der Gruppe des *Bac. typhi* und *coli* erwies sich bloß der *Bac. coli* kreatininbildend, während die übrigen [*Bac. typhi*, *paratyphi a* und *b*, *Bac. dysenteriae* (Shiga-Kruse und Flexner) und *enteritidis* (Gärtner)] bis zum Schlusse meiner Beobachtung (30 Tage) ein negatives Resultat ergaben.

Unter den Vibrionen bilden der *Vibrio Deneke*, *V. serpens* (Müller), *V. Bonhoff* kein Kreatinin, während in den Kulturen des *V. danubicus* (Heider), *V. cholerae asiaticae* und des *V. Metschnikoffi* das Kreatinin schon sehr bald nachweisbar gewesen ist.

Unter den Kokken gab ein negatives Resultat der *Staphylococcus albus* und in sehr schwachem Maße der *Pneumococcus lanceolatus* (Fraenkel). In dieser Beziehung war zwischen bekap-

1) *Riform. med.* 1893. p. 218.

2) *Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.* Bd. 43. p. 209.

| Bakterien | Die Kultur | |
|------------------------------------|-----------------|------------|
| | schwach positiv | positiv |
| 1. Typhus-Coli-Gruppe. | | |
| Bac. typhi abdominalis | 12—30 Stunden | 3 Tage |
| " paratyphi | — | — |
| " coli | — | — |
| " dysenteriae | — | — |
| " enteritidis | — | — |
| 2. Spirillengruppe. | | |
| Vibrio cholerae asiaticae | 24—48 Stunden | 3 Tage |
| " Metschnikoff | 20 Stunden | 2 " |
| " Deneke | — | — |
| " Bonhoff | — | — |
| " serpens (Müller) | 10 Stunden | 2 Tage |
| " danubicus (Heider) | — | — |
| 3. Kokkengruppe. | | |
| Staphylococcus aureus | 5 Tage | 14 Tage |
| " albus | — | — |
| " citreus | — | — |
| Streptococcus pyogenes | 10—14 Tage | — |
| Pneumococcus | — | — |
| Streptococcus acidi lactici | — | — |
| 4. Corynebakterien. | | |
| Bac. diphtheriae | 5—7 Tage | 14—20 Tage |
| " pseudodiphtheriae | — | — |
| 5. Fäulnisbakterien. | | |
| Bac. proteus vulgaris | 24 Stunden | 3 Tage |
| Lactobac. bulgaricus | 5 " | 24 Stunden |
| 6. Tierpathogene Bakterien. | | |
| Bac. cholerae gallinarum | 4 Tage | 10 Tage |
| " suisepiticus | 6 " | 10—12 Tage |
| " cuniculicida | 7 " | 12 Tage |
| " erysipelatis suum | — | — |
| " pestis | — | — |
| " anthracis | — | — |
| 7. Kapselbacillen. | | |
| Pneumobacillus (Friedländer) | — | — |
| Bac. rhinoscleromatis | — | — |
| " lactis aërogenes (Jenssen) | 3 Tage | — |
| " " (Escherich) | 3 " | — |
| " capsulatus glyricida | — | — |
| " " mucosus | — | — |
| " " Pfeiffer | — | — |
| Kälberdysenterie (Jenssen) | — | — |

selten und kapsellosen kein Unterschied vorhanden. Die Kulturen des Staphylococcus aureus, citreus, des Streptococcus und des saprophytenartigen Streptococcus acidi lactici blieben bis zum Schluß kreatininfrei.

Es zeigte sich auch ein Unterschied zwischen den Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen in der Bildung des Kreatinins. Während nämlich in den Diphtheriekulturen kein Kreatinin nachweisbar ist, gab ein Pseudodiphtheriebacillus schon am Ende der ersten Woche eine schwach positive Reaktion; es ist somit dieser Unterschied praktisch nur dann verwertbar, wenn uns genügende Zeit zur Verfügung steht.

Der *Proteus vulgaris* und der *Lactobacillus bulgaricus* geben schon sehr bald (in den ersten 24 Stunden) die Kreatininreaktion.

Von tierpathogenen Bakterien untersuchte ich den *Bac. cholerae gallinarum*, *suisepiticus*, *cuniculicida* und *erysipelatis suum*. Kreatininbildung ist eine gemeinsame Eigenschaft der ersten drei Bakterien, nur bezüglich des zeitlichen Verlaufes bestehen Unterschiede. Der *Bac. erysipelatos suum* verhält sich negativ, sowie auch der virulente und avirulente *Anthraxbacillus*.

Der *Pestbacillus* entwickelte sich in peptonhaltigen Nährböden, trotz der Alkalisierung, so schwach, daß er auf Kreatinin nicht untersucht werden konnte.

Einige Kapselbacillen sind auf morphologischem Wege nicht zu trennen; es wären deshalb die in der Kreatininbildung sich eventuell zeigenden Unterschiede gut verwertbar. Ich fand, daß in den Kulturen folgender tierpathogener Kapselbacillen: *Bac. capsulatus* (Pfeiffer), *caps. glyricida* (Aujesky), *caps. mucosus* und des *Bacillus* der Kälberdysenterie (Jenssen) Kreatinin nicht nachweisbar war, während unter den menschenpathogenen zwei Laboratoriumsstämme des *Bac. lactis aërogenes* (Jenssen und Escherich), sowie ein später gezüchteter Stamm desselben schon sehr früh die Weylsche Reaktion gaben. Der in diese Gruppe gehörige *Bac. rhinoscleromatis* und der Friedländersche *Pneumobacillus* verhielten sich bezüglich der Kreatininbildung negativ.

In der vorstehenden Tabelle ist jener Zeitpunkt verzeichnet, wo in den Kulturen schon so viel Kreatinin vorhanden war, daß es mit unserer Reaktion nachweisbar war. Ich muß hervorheben, daß der Zeitpunkt der Erscheinung des Kreatinins ziemlich beeinflußt wird durch:

- 1) das Entwicklungsvermögen der Bakterien in Peptonwasser, d. h. je besser sie sich entwickeln, desto eher wird die Reaktion positiv;
- 2) durch die Virulenz der Bakterien, insofern, daß bei virulenteren — vielleicht durch den gesteigerten Stoffwechsel — das Kreatinin früher erscheint.

Ich hatte Gelegenheit 7 Stämme verschiedener Virulenz des *Coli-Bacillus* zu untersuchen, und bei diesen war der maximale Unterschied im Zeitpunkt des Erscheinens des Kreatinins — zwischen dem virulentesten und dem am wenigsten virulenten — 18 Stunden.

Nachdruck verboten.

Studies on Indol.

The amino acids for the detection of this substance in *B. coli* cultures, after six hours incubation.

[From the Laboratory of Comparative Pathology and of Tropical Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia.]

By D. Rivas, Ph. D., M. D.

Since Salkowsky's classic work on the indol reaction a number of procedures have been proposed for the detection of this substance in cultures of *Bacillus coli*. In all the culture media employed in the routine laboratory work are essentially either a bouillon, prepared from

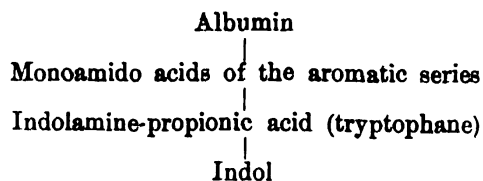
meat extract or meat juice, with one percent. peptone added, or plain peptone water (that is, water containing from one to four percent. peptone) in each case the medium being one with peptone as a basis. With such a medium for growth of the bacteria, the period of time at the end of which the test is best applied varies, some authors recommending the performance of the test at the close of the first forty-eight hours of incubation at 37° C, while others advocate that the incubation be prolonged a number of days for the surest results. Of the reagents used in the procedure, probably most bacteriologists regard sulphuric acid and potassium nitrite as quite reliable; but common laboratory experience shows that any of the mineral acids, as sulphuric, nitric or hydrochloric, and also such organic acids as oxalic, acetic and lactic acids, serve well to bring out the reaction in the presence of potassium nitrite.

It is common knowledge, too, that, with any of the media and reagents just mentioned, the reaction may at times fail in suspected cultures of *Bacillus coli*, recently isolated from water or other natural source. Such cultures aside from the negative indol reaction may in other respects correspond throughout with the known characteristics of the colon bacillus; and moreover such irregularity may sometimes be met in the study of laboratory cultures previously proven and perhaps maintained to serve as controls.

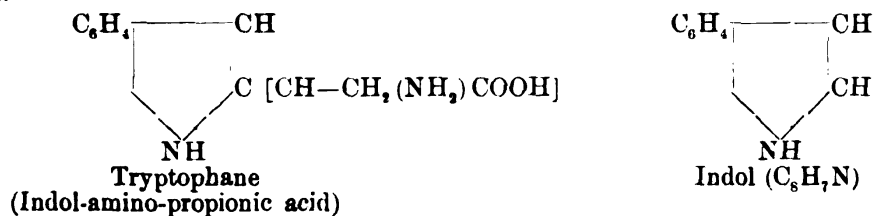
Because of such undesirable and sometimes confusing irregularities, the author has sought for some means of avoiding the difficulties indicated; and has found it possible with a modified medium of culture, and with slight changes in the reagents employed, to obtain an indol reaction in *Bacillus coli* cultures with more distinctness and constancy than heretofore, and that, too, with reduction of the period of incubation at body temperature to no more than five or six hours. Aside from its general scientific value, the author has also in mind the possibility by the simple and efficient procedure which follows, in the study of suspected water supplies of reducing the time required to determine the presence or absence of the colon bacillus, this reaction being of decided importance in our methods of recognition of this microorganism.

A brief consideration of the processes concerned in the derivation of indol from proteid substances, the agencies involved in this change and the test for the detection of indol brings forward the following points:

1) Derivation of indol from the disintegration of albumin: In the disintegration of proteids, as albumin, under the action of strong alkalies, acids, ferments or bacteria, among other substances (as peptones, polypeptones, ammonia, diamido acids etc.) the monoamido acids of the aromatic series are of particular interest since from this group indol is derived. Tyrosin, phenylamine and tryptophane arise from this group, any one of which substances is capable of giving rise to phenol, paracresol, and indol. The scale of derivation may be briefly represented:



Indol is derived from tryptophane through the substitution of one atom of hydrogen for the amino-propionic acid radical $[\text{CH}-\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{COOH}]$ of the tryptophane.



2) The colon bacillus, while on the one hand secreting a ferment which readily splits glucose (producing gas and acids), on the other hand manifests more restricted activity upon proteids in our culture media. It does not liquefy gelatine. While from the very fact that it is capable of producing indol from peptones used in our media it undoubtedly has the power of proteid disintegration, but it should be recalled that indol production in a peptone water culture fails if the slightest amount of glucose be present. In other words, *Bacillus coli* has a distinctly less selective tendency to live upon and split such substances as peptone than it manifests for glucose; and in order to produce indol from peptone must, as it were, be forced to depend on the peptone for its existence. With this feature in mind the author determined to provide in the culture medium employed proteids nearer in the scale to indol than are the peptones as for example, the mono-amino acids above referred to.

3) Preparation of a trypsinized medium: With such considerations indicating that peptone is not the most favorable medium for the production of indol by *Bacillus coli* but that probably one containing the more advanced products of albumin disintegration would prove more suitable for the purpose in hand, the writer, having noted the readiness of growth of bacteria upon media containing amino-acids, as employed by Duval in his direct culture of the lepra bacillus, prepared a medium as follows:

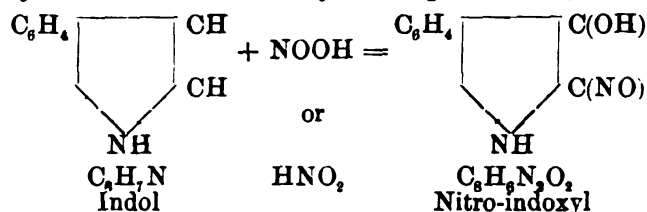
- a) Dissolve 10 g of Witte's dried peptone with gentle heating in 200–300 c.c. of water.
- b) Dissolve 0,5 g trypsin in 10–20 c.c. of water by shaking and gentle heat (not to exceed 40° C).
- c) Add the solution of trypsin to the peptone water and digest the latter for 2–3 hours at 38–40° C, stirring gently every 15–20 minutes.
- d) Test reaction after 2–3 hours: neutralize if needed; add water to 1000 c.c.; boil; filter; distribute in tubes.
- e) Sterilize by fractional method or in autoclav as desired.

This medium, it is of course to be understood, is no longer a peptone water, but a solution in which the peptone has been digested by the trypsin and containing various aminoacids. For convenience we may speak of it as a trypsinized peptone water to distinguish it from media made up from other proteids which may be digested by trypsin and used with advantage for culture purposes.

Growth of the colon bacillus in this and other trypsinized media is decidedly more rapid and luxuriant than in those which contain a proteid basic substance like the albumoses and peptone of "dried peptone" usual to laboratory supplies; and the indol reaction appears distinctly after a considerably shorter time.

4) The indol reaction: All methods employed for the indol reaction are based on the action of a nitrite in an acid medium, the

colorless indol combining with the NO radical to become apparent as red nitro-indoxyl. The reaction may be represented;



The reaction being essentially of substitution of hydroxyl and nitrous oxide radicals for atoms of hydrogen in the indol side-chains, a reagent was prepared as follows:

The nitrous oxide gas, NO, is liberated by the action of a 25—50 per cent. nitric acid on copper $3 \text{Cu} + 8 \text{HNO}_3 = 3 \text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + 4 \text{H}_2\text{O} + 2 (\text{NO})$. A current of this gas is passed through about 100 c.c. of a cold 50 per cent. solution of sulphuric acid, care being taken to avoid any undesirable yellowish discoloration of the liquid from access to air. The nitrous oxide-sulphuric acid solution thus prepared is added directly to the tube containing the culture, few drops to 0,5 c.c., according to the age of the culture, being used for the ordinary five or more cubic centimeters of the culture material. The reagent may also be prepared by mixing 0,5 g potassium nitrite to 100 c.c. of a 25 per cent. solution of sulphuric acid in water. Care should be had to add the potassium nitrite after the sulphuric acid solution has cooled. Two separate solutions of the nitrite and of the acid may also be employed if desired, to be mixed as required; and any of the mineral acids or such organic acids as oxalic, lactic or acetic acids may be substituted for the sulphuric acid. The success of the reaction sought is attained not so much in the precise reagents employed as in the actual production in the culture of a suitable proportion of indol, a matter which is especially favored by the selection of the medium above mentioned. The nitrous-oxide-sulphuric-acid solution has, however, in the hands of the writer, proved of distinct convenience and is thought worthy of recommendation. Any such combined reagents are however, apt to deteriorate, and should be prepared frequently to be of potency; or may be tested before actual use by trying the solutions upon known *Bac. coli* cultures kept for the purpose.

Following the above methods the writer has been able to obtain a very distinct and characteristic indol reaction in cultures of *Bac. coli* incubated at 87°C no more than five or six hours, as well of course in older cultures; and he does not hesitate to advise the substitution of a trypsinized proteid solution such as that above described, or other analogous solutions, for the ordinary peptone solutions for the purpose in hand. This is urged both because the aminoacids in the solution proposed represent nearer stages in the scale of disintegration of proteids to the production of indol, and because such aminoacid media distinctly favor the best growth of the colon bacillus. The modifications in the reagents employed are not, of course, essential, but are highly efficient when undeteriorated, and in active laboratories are of no difficulty in preparation and maintenance for use.

I desire to express my heartiest appreciation to my pupil Alejandro Garcia for his valuable assistance during the progress of this work.

*Nachdruck verboten.***Ueber rotlaufähnliche Stäbchen beim Rinde.**

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Institutes für Landwirtschaft in Bromberg (Vorsteher: Prof. Dr. Miessner).]

Von Dr. **Fritz Ruppert**,
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter an der Abteilung für Tierhygiene.

Ueber das Vorkommen rotlaufähnlicher Stäbchen beim Rinde sind in letzter Zeit in der Literatur öfter Aufzeichnungen gemacht worden. Zuerst beschrieb Schipp 1910 in einer Arbeit aus dem Veterinär-pathologischen Institut der Universität Gießen ein grampositives Stäbchen, das er aus einer unter milzbrandähnlichen Erscheinungen zugrunde gegangenen Kuh gezüchtet hatte. Da er ein ähnliches Stäbchen auch aus einem Huhn gewinnen konnte, stellte er vergleichende Versuche zwischen diesen beiden Stäbchen und dem Rotlaufbacillus an. Er kam dabei zu dem Resultat, daß die aus dem Huhn und dem Rinde gezüchteten rotlaufähnlichen Stäbchen morphologisch, tinktoriell und in der Kultur sich nicht von dem Schweinerotlaufbacillus trennen lassen, daß das aus dem Huhn gezüchtete Stäbchen auch biologisch mit jenem Bacillus übereinstimmt, das aus dem Rinde gezüchtete (dagegen in keinerlei Beziehungen zum Schweinerotlaufbacillus steht).

Booll bestätigte 1 Jahr später in einer Arbeit aus dem Hygienischen Institute der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin die Versuche von Schipp.

Auch ich habe mehrfach rotlaufähnliche Stäbchen beim Rinde nachweisen können, konnte jedoch in zwei genauer untersuchten Fällen meine grampositiven Stäbchen biologisch nicht von dem Schweinerotlaufbacillus trennen.

Im August vergangenen Jahres wurde dem hiesigen Institute ein Fläschchen mit Milzstücken zur Untersuchung auf Milzbrand zugeschickt. Durch die bakterioskopische Untersuchung konnte Milzbrand ausgeschlossen werden. Die zum Tierversuch benutzten Mäuse, die mit Milzstückchen geimpft waren, starben nach 3 Tagen. Als Todesursache wurden grampositive, rotlaufähnliche Stäbchen ermittelt, die aus dem Herzblute in Reinkultur gezüchtet werden konnten.

Auf Agar, Glycerinagar, Kartoffeln und Serum wuchsen die Stäbchen leidlich. Es bildeten sich auf der Oberfläche dieser Nährmedien fein verteilte, punktförmige Kolonien, die durchaus denen von Rotlaufstäbchen gleich zu achten waren. Auf Traubenzucker- und Serumagar wuchsen sie in einem ganz die Oberfläche bedeckenden, dichten Belag, wie wir ihn bei der Züchtung von Rotlaufbacillen zu sehen gewohnt sind. In Stichkultur in gewöhnlichem Agar zeigten sie schon nach 24 Stunden auffallend starkes Wachstum, so daß ich glaubte, hier ein Unterscheidungsmerkmal von den Rotlaufbacillen zu haben. Bei weiteren Versuchen ließ sich jedoch dieser Unterschied nicht aufrecht erhalten, es war vielmehr anzunehmen, daß der verwendete Agar den aus dem Rinde gezüchteten Stäbchen als Nährmedium ausnahmsweise gut zusagte, denn auch Rotlaufbacillen wuchsen in ihm ausnahmsweise stark.

Um festzustellen, ob schon im Ausgangsmaterial die rotlaufähnlichen Stäbchen vorhanden waren, wurden zwei mit wässrigem Fuchsin gefärbte Präparate mit Essigsäure entfärbt und nach Gram wieder gefärbt.

In der Tat ließen sich nun grampositive Stäbchen nachweisen, die in Größe und Gestalt ganz mit Rotlaufstäbchen übereinstimmten.

Da ich noch im Besitze der eingesandten Milzstücke war, impfte ich 4 Tage nach der Einsendung abermals 2 Mäuse. Die Impftiere starben nach 7 und 8 Tagen. Aus dem Herzblute wurden die Stäbchen in Reinkultur gezüchtet. Zwei nach weiteren 2 Tagen mit Einsendungsmaterial geimpfte Mäuse verendeten gar erst am 10. und 11. Tage. Die Virulenz scheint also bei zunehmender Fäulnis abzunehmen.

Was die Pathogenität meiner aus den Mäusen gewonnenen Stäbchen angeht, so töteten sie Tauben nach 4 Tagen. Schipp konnte mit seinen Stäbchen Tauben nicht infizieren. Ein Kaninchen starb nach 8 Tagen. Meerschweinchen, Hühner, Enten, Gänse überstanden die Infektion ohne Reaktion, ein Schwein vertrug 5 ccm einer 48-stündigen Bouillonkultur subkutan ohne die geringsten Nebenerscheinungen. Auch ein Rind konnte durch Injektion von 3 ccm einer 48-stündigen Bouillonkultur in die Vena jugularis nicht krank gemacht werden.

Eine Differenzierung der Rinderstäbchen vom Rotlaufbacillus versuchte ich mittels der Agglutination. Ich benutzte als Immunserum sowohl Prenzlauer Serum als auch Serum von Schreiber, Landsberg. Als Antigen wurden 24-stündige Bouillonkulturen von Rinderstäbchen und Rotlaufbacillen verwendet. Je 0,5 ccm der Kulturen wurden mit gleichen Mengen von Verdünnungen der Immunsera zusammengebracht. Ich mußte jedoch die Bemerkung machen, daß eine als Kontrolle verwendete Rotlaufbouillonkultur mit Rotlaufimmunserum Prenzlau nicht agglutiniert wurde, während die Rinderstäbchenbouillonkultur agglutiniert wurde. Da ich auf diese Weise nicht zu einem einwandfreien Resultat zu kommen glaubte, ließ ich die Agglutination weiterhin unberücksichtigt.

Nun versuchte ich, Mäuse mit Rotlaufimmunserum Prenzlau und Schreiber gegen die beim Rinde gefundenen Stäbchen zu immunisieren. Ich ging dabei ähnlich der von Marx im Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung von R. Kraus und C. Levaditi zur Austitration des Immunserums angegebenen Methode vor. 6 Mäuse wurden mit je 0,05 ccm Immunserum Prenzlau, 6 andere mit je 0,05 ccm Immunserum Schreiber subkutan geimpft. Als Kontrolle wurden 3 Mäuse mit 0,05 ccm Normalserum subkutan gespritzt. Nach 24 Stunden bekamen 5 der ersten 6 Mäuse je 0,01 ccm einer 48-stündigen Rinderstäbchenbouillonkultur, die sechste bekam 0,01 ccm einer 48-stündigen Rotlaufbacillenbouillonkultur intraperitoneal verabfolgt. Die zweiten 6 Mäuse wurden genau ebenso behandelt. Von den 3 Kontrollmäusen wurden zweien $\frac{1}{100}$ ccm der 48-stündigen Rinderstäbchenbouillonkultur, der dritten $\frac{1}{100}$ ccm der 48-stündigen Rotlaufbacillenbouillonkultur in die Bauchhöhle injiziert. Die 3 Kontrollmäuse starben prompt am 3. Tage, die anderen Mäuse blieben am Leben (s. Tabelle p. 553).

Aus diesem Versuche geht hervor, daß im vorliegenden Falle das beim Rinde gefundene Stäbchen dem Rotlaufbacillus mindestens sehr nahe verwandt war.

Am Anfang Oktober gelangten Herz und Lunge eines Kalbes zur Einsendung mit der Bitte um Feststellung der Todesursache. Im Vorbericht war erwähnt, daß mehrere Tiere erkrankt seien, schlechte Freßlust und ein trauriges, benommenes Wesen zeigten. Da die Krankheitsursache nicht ermittelt werden konnte, sollte die bakterioskopische Untersuchung eines gefallenen Tieres Aufklärung geben.

| Mäuse mit $\frac{1}{100}$ ccm Rotlauf-immunserum Prenzlau subkutan vorbehandelt, nach 24 Stunden intraperitoneal | Mäuse mit $\frac{1}{100}$ ccm Rotlauf-immunserum Schreiber subkutan vorbehandelt, nach 24 Stunden intraperitoneal | Mäuse mit $\frac{1}{100}$ ccm Normalserum subkutan vorbehandelt, nach 24 Stunden intraperitoneal |
|--|---|--|
| Maus 1 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rdstbk. lebt | Maus 1 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rdstbk. lebt | Maus 1 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rdstbk. † nach 3 Tagen |
| Maus 2 dgl. | Maus 2 dgl. | Maus 2 dgl. |
| " 3 " | " 3 " | Maus 3 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rtlfbk. † nach 3 Tagen |
| " 4 " | " 4 " | |
| " 5 " | " 5 " | |
| Maus 6 $\frac{1}{100}$ ccm 24-stündiger Rtlfbk. lebt | Maus 6 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rtlfbk. lebt | |

Pathologisch-anatomisch zeigte das eingesandte Herz keine Veränderungen. Das Lungenfell war glatt und glänzend. Die Lunge bot das Bild einer akuten Lungenentzündung. Sie war geschwollen und stark hyperämisch. Einzelne bis etwa faustgroße Stellen waren derb, sonst war die Lunge lufthaltig und elastisch. Beim Durchschneiden entleerte sich aus den Bronchien ein seröses Sekret, das über die Schnittfläche abfloß. Die Lymphknoten waren geschwollen, aber nicht blutreich.

Im mikroskopischen Präparat waren sowohl in der Lunge als auch in den Lymphknoten grampositive rotlaufähnliche Stäbchen in großer Zahl nachweisbar. Die Stäbchen waren oft zu zweien oder zu mehreren hintereinander gelagert und bildeten feine Fädchen.

Mit Lungenmaterial geimpfte Mäuse starben nach 3—4 Tagen. Aus ihnen konnten Reinkulturen grampositiver Stäbchen gewonnen werden, die sich kulturell und tinktoriell nicht von Rotlaufstäbchen unterscheiden ließen.

Die Uebertragungsversuche auf andere Tiere hatten dasselbe Ergebnis wie in dem oben geschilderten Fall. Tauben starben nach 4 Tagen, Kaninchen nach ca. 10 Tagen, Hühner, Enten und Gänse konnten nicht krank gemacht werden, ebenso waren Meerschweinchen immun. Ein Schwein vertrug 3 ccm einer 24-stündigen Rinderstäbchenbouillonkultur, konnte allerdings auch später nicht mit Rotlaufbacillen infiziert werden, ein Resultat, was bei der schwankenden Virulenz der Rotlaufstäbchen und also wohl auch der den Rotlaufbacillen verwandten Rinderstäbchen, sowie der schwankenden Empfänglichkeit der Versuchstiere keineswegs überrascht.

Zu Uebertragungsversuchen der Stäbchen auf Rinder stellte ich mir aus dem eingesandten Material durch Zerreiben mit physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion her, und zwar benutzte ich speziell Lungenlymphknoten und Teile der derben Lungenstücke, da hier die Stäbchen besonders zahlreich vorhanden waren.

Je 5 ccm einer solchen Emulsion spritzte ich 2 Rindern unter die Haut. Die infizierten Tiere zeigten 2 Tage lang eine geringe Temperaturerhöhung, waren aber stets bei gutem Appetit und zeigten auch sonst keine Krankheitserscheinungen. Ich möchte die Temperaturerhöhung nicht den rotlaufähnlichen Stäbchen zuschreiben, sondern vielmehr darauf zurückführen, daß das injizierte Material nicht frei von allen möglichen anderen Keimen hergestellt war. Ich legte auch gar keinen Wert darauf, das zu injizierende Material möglichst rein zu bekommen, ich glaubte vielmehr durch die Mischinfektion mit anderen Bakterien die natürliche Resistenz der Rinder zu schwächen und sie für eine Infektion empfänglicher zu machen.

Im Blute der infizierten Tiere ließen sich jedoch nie grampositive Stäbchen nachweisen. Auch in der Milz, die jeden dritten Tag nach der von Theiler angegebenen Methode punktiert wurde, waren keine rotlaufähnlichen Stäbchen zu finden.

Eines der infizierten Rinder wurde am 12. Tage geschlachtet. Am ganzen Kadaver war pathologisch-anatomisch nichts verändert, ebenso wenig konnten aus irgendeinem Organ grampositive Stäbchen gezüchtet werden. Der Befund bei dem zweiten Rinde, das einige Tage später zur Schlachtbank geführt wurde, war genau derselbe.

Zur biologischen Differenzierung der in diesem zweiten Falle isolierten Stäbchen von Rotlaufbacillen wurde derselbe Immunisierungsversuch wie im ersten Falle durchgeführt. Auf die Agglutination wurde aus schon oben angegebenen Gründen verzichtet. Das Resultat des Immunisierungsversuches geht aus folgender Tabelle hervor.

| Mäuse mit $\frac{1}{100}$ ccm Rotlauf-immunserum Prenzlau subkutan vorbehandelt, nach 24 Stunden intraperitoneal | Mäuse mit $\frac{1}{100}$ ccm Rotlauf-immunserum Schreiber subkutan vorbehandelt, nach 24 Stunden intraperitoneal | Mäuse mit $\frac{1}{100}$ ccm Normalserum subkutan vorbehandelt, nach 24 Stunden intraperitoneal |
|--|---|--|
| Maus 1 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rdstbk. lebt | Maus 1 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rdstbk. lebt | Maus 1 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rdstbk. † nach 3 Tagen |
| Maus 2 dgl. | Maus 2 dgl. | Maus 2 dgl. |
| " 3 " | " 3 " | Maus 3 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rtlfbk. † nach 3 Tagen |
| " 4 " | " 4 " | |
| " 5 " | " 5 " | |
| Maus 6 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rtlfbk. lebt | Maus 6 $\frac{1}{100}$ ccm 48-stündiger Rtlfbk. lebt | |

Also sind auch in diesem Falle die beim Rinde gefundenen Stäbchen nicht von dem Rotlaufbacillus zu trennen.

Was nun die Infektion von Rindern mit solchen rotlaufähnlichen, grampositiven Stäbchen, ich will sie kurzweg Rinderstäbchen nennen, angeht, so kann ich meine Versuche folgendermaßen zusammenfassen: Die Rinderstäbchen sind normalerweise für Rinder nicht pathogen, sie verschwinden vielmehr, einem Tiere einverleibt, bald aus dessen Organismus.

Zum Schlusse sei noch darauf hingewiesen, daß, wie Schipp schon hervorgehoben hat, eine Infektion von Rindern mit solchen Stäbchen häufiger vorkommt, als man im allgemeinen annimmt, und daß es bei einiger Aufmerksamkeit für diesen Fall nicht schwer ist, öfter eine derartige Infektion zu beobachten.

Literatur.

- Schipp, Zur Biologie des Schweinerotlaufbacillus und zweier morphologisch gleicher Septikämieerreger. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1910.)
 Booll, Ueber das Vorkommen von rotlaufähnlichen Bakterien beim Rind und Huhn. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1911.)
 Olt, Die entozoischen Follikulärerkrankungen im Darne des Schweines. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 8.)
 — —, Ueber das regelmäßige Vorkommen der Rotlaufbacillen im Darne des Schweines. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1901. No. 5.)
 Prettner, Ueber die Identität des Bac. murisepticus und des Bac. erysipelatis porci. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1901. No. 45.)
 Joest, Schweinerotlaufserum. (Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. Bd. 2.)
 Prettner, Das Rotlauf-Schutz- und Heilserum. (Tierärztl. Centralbl. 1906.)
 — —, Untersuchungen über Rotlaufimmunität bei Serumimpfung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.)
 Rosenbach, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63.
 Theiler, Report of the Governm. Veterinary Bacteriologist f. 1909.

*Nachdruck verboten.***Etudes sur les actinomycètes.**

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 7 figures.

Le groupe des actinomycètes, qui comprend des espèces si importantes pour la pathologie de l'homme et des animaux, a attiré, et attire toujours plus l'attention des parasitologues. Considérés par les uns comme des bactéries, les actinomycètes sont par d'autres placés parmi les hyphomycètes. Cette discussion, qui a surtout de l'importance pour ceux qui voudraient considérer les bactéries comme formant un groupe tout à fait à part, n'ayant rien à faire avec les autres agents parasitaires, et qui séparent d'une façon tout à fait arbitraire la bactériologie de la parasitologie, en a beaucoup moins pour ceux qui considèrent la parasitologie comme constituant un tout unique, comprenant des parasites végétaux et animaux supérieurs et inférieurs¹⁾.

Pour ces derniers, les actinomycètes soit qu'on les considère comme la famille la plus développée des bactériacées, soit, comme l'a proposé Lubarsch²⁾ qu'on les considère comme un groupement intermédiaire entre bactériacées et hyphomycètes, constituent l'anneau de jonction entre les unes et les autres, et contribuent à maintenir l'intégrité de la chaîne des parasites végétaux, parasites végétaux qui, à leur tour, se relient aux parasites animaux par l'intermédiaire des virus filtrables³⁾. Toute contribution à l'étude des actinomycètes servira de plus en plus à établir leurs caractères typiques, les rapprochements entre les différents genres, espèces ou variétés qui constituent le groupe, et leur distribution dans l'organisme et dans le milieu extérieur.

1. Sur la morphologie du genre *Corynebacterium* Lehm. et Neum.

Depuis la publication de mes travaux sur la morphologie de *C. mallei*⁴⁾ j'ai eu maintes fois l'occasion d'isoler et d'étudier cet actinomycète et tout en ayant rencontré de nouveau les formes en massue, en filaments, et en filaments et massues ramifiés, j'ai constaté que la tendance à donner ces formes s'observe surtout dans certaines souches de *C. mallei*. Ainsi, tandis que certaines souches donnent plutôt des formes en massues courtes, des filaments très peu développés et des ramifications extrêmement rares, mais plutôt des pseudo-ramifications, d'autres au contraire ont la tendance à donner d'emblée, surtout sur carotte, les formes que j'ai décrites en 1899 et 1900. J'ai constaté un fait analogue pour *C. diphtheriae*. Bien que chez cette espèce, la forme en massue soit un fait constant, la tendance à donner des formes

1) Pour démontrer l'absurdité de la séparation des bactéries d'avec les autres parasites, il me suffira de citer que des traités récents, portant le titre de traités de bactériologie, sont dédiés pour plus d'un tiers aux protozoaires et même à certains vers, tels que l'ankylostome, qui n'ont rien à voir avec les bactéries.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. 1899. p. 157.

3) Galli-Valerio, B., Manuale di patologia generale comparata e sperimentale. 2a ed. Milano 1911.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 26. 1899. p. 176 et Bd. 28. 1900. p. 353.

filamenteuses en massue et surtout à donner des formes ramifiées est moins fréquente que chez *C. mallei*. Parfois on observe des cultures dans lesquelles cette tendance se manifeste dès le début, tandis que pour d'autres cultures, les repiquages même continués n'aboutissent qu'à la formation de filaments très courts, très rarement ramifiés et surtout à pseudoramifications. En admettant que les formes parasites sont des formes en origine saprophytiques, adaptées peu à peu à une vie parasitaire, on peut se demander si les cultures de *C. mallei* et de *C. diphtheriae* ayant une tendance marquée à donner les formes filamenteuses, et surtout ramifiées, ne représenteraient peut-être pas des formes adaptées au parasitisme depuis un temps moins long que les formes ayant peu de tendance à donner filaments et ramifications. Cette hypothèse trouverait un appui dans le fait que dans le groupement des actinomycètes, le genre *Actinomyces* qui est celui dont plusieurs espèces se rencontrent en même temps à l'état parasitaire et à l'état saprophytique dans le milieu extérieur, est justement le genre où les formes filamenteuses et ramifiées ne manquent jamais sur les milieux de culture.

2. Sur la morphologie de *M. tuberculosis*. (Avec la collaboration de M^r Vourloud et de M^{me} Popoff-Tcherkasky).

M. tuberculosis peut-être aujourd'hui considéré comme constitué par une espèce unique formant une série de variétés, sous-variétés et types, et nous pouvons d'après Lehmann et Neumann¹⁾ et d'après quelques modifications apportées par moi²⁾ réunir dans le tableau suivant les variétés, sous-variétés et types plus importants:

| | | | | | | |
|--|---|---|-----------------|---|-----------|----------------------------|
| <i>M. tuberculosis</i> (R. Koch) L. et N. | } | var. homoeothermorum (Galli-Valerio) | } sous- var. | } | mammalium | { types hominis " bovis |
| | | | | | avium | |
| | | var. poikilothermorum (L. et N.) | | | piscicola | |
| | | | | | ranicola | |
| | | | | | anguicola | |

Depuis plusieurs années je suis dans mon Institut des repiquages, sans passage sur animal, de cultures de *M. tuberculosis* de l'homme, des oiseaux et des poissons, et avec la collaboration de M^r Vourloud et de M^{me} Popoff-Tcherkasky, je me suis occupé d'étudier la morphologie de cet important parasite, surtout dans les vieilles cultures. Je ne ferai que rappeler comme Petrone en 1884³⁾ a été le premier à attirer l'attention sur les formes filamenteuses de *M. tuberculosis* dans un cas de leptoméningite, n'hésitant pas à le considérer une forme intermédiaire entre schizomycètes et hyphomycètes et proposant de créer le genre *Tuberculomyces* avec les espèces hominis, avium etc. Depuis cette importante observation les travaux de Metchnikoff⁴⁾, de Coppen-Jones⁵⁾, de Fischel⁶⁾, de Babes et

1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie, 5. Aufl. p. 582. München 1912.

2) Manuale di patologia comparata e sperimentale. 2a ed. p. 135. Milano 1911.

3) Atti della R. Acc. med. chir. di Napoli. 1884.

4) Virchows Archiv. Bd. 113. 1888. p. 63.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. 17. p. 1.

6) Fortschritte der Medizin. 1892.

Levaditi¹⁾, de Friederich²⁾, de Schulze³⁾, de Lubarsch⁴⁾, de Lehmann et Neumann⁵⁾, pour ne citer que les plus importants, sont venus confirmer de plus en plus que *M. tuberculosis* doit être placé parmi les actinomycètes.

Exposer en détail les observations faites par moi et mes collaborateurs sur les vieilles cultures examinées, serait un travail trop long et peu intéressant. Je résumerai ces observations dans une exposition d'ensemble. Les cultures examinées, dont quelques-unes étaient âgées de 11 ans, avaient été toutes, après développement, gardées à la température de la chambre. Il y en avait sur sérum de cheval, sur agar, sur pomme de terre et sur carotte, tous glycerinés et glycosés. Les préparations ont été colorées au Ziehl-Neelsen et plusieurs comparativement par le Much, en suivant la technique indiquée dans sa thèse par M^m^e Popoff-Tcherkasky⁶⁾.

Dans toutes les cultures (Fig. 1), on constate la tendance de *M. tuberculosis* à donner des formes en massue. Rares en général

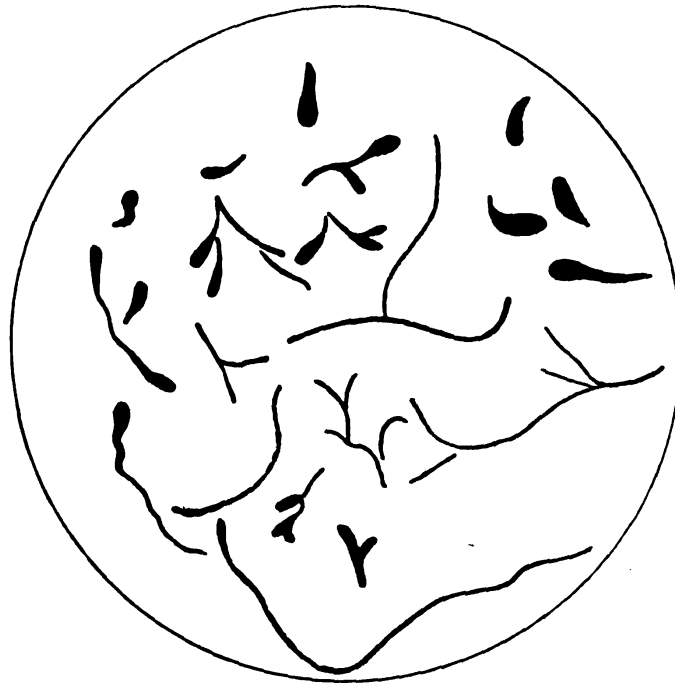


Fig. 1. Gross. 1:2250.

dans les jeunes cultures, elles deviennent de plus en plus fréquentes dans les vieilles cultures, où elles finissent par représenter la plus grande partie des formes bacillaires.

Parfois dans de vieilles cultures, ces massues deviennent énormes, ressemblant tout à fait à des massues d'*Actinomyces*. La plus grande partie des massues, présente une forme légèrement courbée, parfois tout

- 1) Arch. de méd. exp. 1897. No. 6.
- 2) Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 4.
- 3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. 1899. p. 157.
- 4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 31. 1899. p. 187.
- 5) Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 5. Aufl. München 1912.
- 6) Comparaison de quelques nouvelles méthodes de coloration etc. Thèse de Lausanne 1911.

à fait en virgule. En grande partie isolées, elles se groupent souvent en forme de V, de L, de S, de broussailles, de palissade. A mesure que les massues s'allongent, on voit apparaître des formes très intéressantes: ce sont d'abord des formes en doubles massues, avec la partie centrale effilée; des formes pseudoramifiées par juxtaposition de deux ou plusieurs massues; des formes plus rares à véritables ramifications. Ces dernières formes, s'observent parfois déjà dans les massues du type court, qui semblent présenter un bourgeon, plus souvent dans les massues allongées et plus encore dans les formes à type filamenteux. Ces formes ramifiées se présentent disposées en fourche, en Y, en formes presque dichotomiques. Dans les formes qui ne se colorent plus que par places, montrant des granulations rouges réunies entr'elles par une gaine rose, on voit des granulations latérales qu'au premier abord, on pourrait considérer comme juxtaposées, réunies à la branche principale par cette sorte de gaine. On peut constater cet aspect particulier surtout dans des cultures d'Antiphymatol. Toutes ces formes ne sont pas des formes involutives, mais des formes de développement, car le repiquage de ces cultures, donne des formes normales. Dans un cas, l'inoculation d'une de ces cultures au cobaye, a déterminé la formation d'un gros abcès caséeux dans lequel, à côté des formes bactériennes, il y avait les formes filamenteuses et en massues, et les cultures faites de cet abcès ont donné des formes analogues.

À côté de ces formes, on trouve dans les vieilles cultures des formes très courtes, presque en microcoque, souvent disposées en série simulant un streptocoque: Mais le plus souvent, si on examine, surtout avec un fort grossissement, ces chainettes, on constate que les différentes granulations sont réunies entr'elles par une gaine faiblement colorée. Parfois des granulations fortement colorées se trouvent placées à l'extrémité d'un filament pâle, de sorte à lui donner l'aspect d'une épingle, ou, s'il y a deux granulations, l'une à chaque extrémité, celle d'une haltère. Le procédé de Ziehl-Neelsen, donne presque toujours des colorations uniformes pour la plus grande partie des cultures, sauf dans les cultures très anciennes où les microorganismes apparaissent granuleux; le procédé de Much, donne surtout des colorations fortement granuleuses.

Dans les cultures examinés, les formes filamenteuses et ramifiées étaient plus fréquentes dans la forme de l'homme et surtout dans celle des poissons que dans celle des oiseaux, tandis que la tendance à donner de grosses massues, nous l'avons notée surtout dans les cultures des oiseaux.

Pour résumer, on peut dire que dans les cultures examinées, prédominant surtout des formes en massues courtes ou longues, les formes pseudoramifiées, puis plus rares, les formes filamenteuses et réellement ramifiées. Cette tendance peu accentuée à donner des formes en longs filaments ramifiées, est, même en faisant abstraction de l'acido-résistance, un caractère différentiel important du genre *Mycobacterium* d'avec le genre *Actinomyces*, où la formation de filaments longs et ramifiées est absolument la règle. Des observations analogues à celles faites sur *M. tuberculosis* je les ai faites aussi sur *M. phlei*, confirmant les observations de Moëller¹⁾, et dans un cas d'infection péritonéale chez le cobaye, j'ai constaté que les formes en massue isolées ou en broussailles se rencontraient dans la cavité péritonéale, libres ou englobées par les leucocytes.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. p. 369.

3. Sur la présence de *Mycobacterium* dans les robinets d'eau potable. (Avec la collaboration de M^{me} Popoff-Tscherkasky.)

A la suite du procédé de recherche de *M. tuberculosis* par l'antiformine, Brem¹⁾ a attiré l'attention sur le fait que dans l'eau distillée on pouvait trouver des bacilles acido-résistants. Plus tard Beitzke²⁾ en a trouvé deux formes à Berlin dans 2 robinets d'eau potable et dans un cas, il a pu obtenir une culture. Nous avons recherché la présence de ces bactéries dans les robinets du laboratoire et dans un robinet d'eau potable de la ville d'Orbe. La technique est très simple: il suffit de racler avec un scalpel la surface intérieure du robinet, de faire une mince couche sur un porte-objet, fixer à la flamme et colorer au Ziehl-Neelsen. Dans presque tous les robinets, nous avons constaté la présence de *Mycobacterium*. Ils sont isolés, en petites amas, et parfois en amas énormes. Ils simulent tout à fait *M. tuberculosis*: quelquesuns sont très fins, droits ou légèrement courbés, d'autres, plus épais, à forme nettement en massue. Fort probablement il y a des formes ou espèces différentes dans les différentes eaux potables, car la forme trouvée à Lausanne présentait le type fin, la forme d'Orbe le type épais, en massue. Jusqu'à maintenant, nous n'avons pu arriver à les cultiver. Il n'y a pas de doutes que l'utilisation de l'eau potable pour les dilutions d'antiformine destinées à la recherche de *M. tuberculosis*, pourrait prêter à des erreurs de diagnostic, bien qu'en examinant l'eau, s'écoulant du robinet sans le racler, nous n'ayons pas trouvé des acido-résistants.

Nous croyons aussi devoir attirer l'attention sur le danger qu'il peut y avoir, à mettre de l'eau dans les crachoirs destinés à recevoir les crachats pour la recherche des bacilles de Koch, eau qui pourrait amener avec elle ces bacilles acido-résistants.

4. Sur la morphologie de *M. leprae*.

Deux cas de lèpre, mis obligeamment à ma disposition, l'un par M^r le Prof. Dind, l'autre par M^r le Dr. Lassueur, m'ont permis de faire quelques observations sur la morphologie de ce *Mycobacterium*. Dans un cas, je l'ai isolé du nez, de la gorge, des nodules lépreux et des fecès³⁾; dans l'autre cas, du nez et de la gorge. Je me suis aussi servi de la coloration de Ziehl-Neelsen, colorant le fond par le bleu au



Fig. 2. Gross. 1:2250.



Fig. 3. Gross. 1:2250.

1) Journal of Amer. med. assoc. 1909. p. 909.

2) Berlin. klin. Wochenschr. 1910. No. 31.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. p. 363.

thymol, ou par le vert de Von Wahl, qui donne de très jolies préparations, et du Much. Les frottis ont été faits avec des mucosités du nez et de la gorge, et avec des nodules lépreux traités pendant 18 heures avec une solution d'antiformine à 15 %. Dans toutes les préparations (fig. 2 et 3), *M. leprae* se présentait sous forme de massues très nettes, en grande partie légèrement courbées sur elles-mêmes. Quelques-unes des massues se prolongeaient avec une partie rétrécie presque en filament. La plus grande partie des massues ne présentait pas de ramifications, mais il y en avait par-ci par-là présentant un bourgeon latéral. Plus rares encore étaient les formes en fuseau. Tandis que *M. tuberculosis* a la tendance soit dans l'organisme soit dans les cultures, à se grouper en broussailles, *M. leprae* tend à se grouper suivant trois types: 1° la disposition en palissades; 2° la disposition en faisceaux concentrique; 3° plus rarement la disposition rayonnante analogue aux rosettes d'actinomyces.

Dans les 2 cas que j'ai étudiés, *M. leprae* se colorait uniformément par le Ziehl-Neelsen, ne présentant que par-ci par-là quelques espaces clairs, même 17 jours après traitement par l'antiformine. Mais dans l'antiformine au delà de 17 jours, les bacilles deviennent fortement granuleux, et dans un cas j'ai constaté ce même phénomène après traitement du patient par la nastine. On voyait alors des gaines pâles, contenant des granulations fortement colorées et des granulations libres. J'ai eu des résultats analogues en appliquant la méthode de Much. Je n'ai jamais constaté la présence de formes très petites analogues à *B. influenzae*, décrites par Barannikow¹⁾. Des cultures faites en utilisant du matériel traité ou non par l'antiformine, sur sérum de cheval gelatinisé simple ou glyceriné et glycosé, avec ou sans adjonction de tryptophane, ne m'ont donné aucun résultat. Je n'y ai constaté que la bactériolyse des formes portées sur le sérum. Des essais d'inoculations aux rats, n'ont jusqu'à maintenant donné aucun résultat.

5. Observations sur *Actinomyces caprae*.

Ce parasite a été décrit pour la première fois par Silberschmidt²⁾ en 1899. Depuis lors, à ma connaissance, personnes n'a eu l'occasion de signaler de nouveau cet intéressant parasite, sauf moi qui l'ai retrouvé à Lausanne en 1910³⁾. J'estime utile de donner ici le résumé des observations que j'ai faites sur cet actinomycète. Le 30 avril 1910, j'ai reçu de M^r. Borgeaud, directeur des abattoirs de Lausanne, un fragment de poumon de chevreau qui lui avait été transmis par un collègue comme suspect de tuberculose. Ce fragment de poumon (fig. 4) était parsemé de nodules blanchâtres, d'aspect fibreux, de la dimension d'un grain de chanvre à un petit pois. Examinés à l'œil nu, sur une coupe, ces nodules présentaient une coque d'aspect fibreux, épaisse, et une partie centrale ramollie, contenant un pus filant,



Fig. 4. Gr. naturelle.

- 1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901. p. 781.
- 2) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 341.
- 3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1910. p. 43.

épais. Ce pus examiné à frais sous le microscope présentait un grand nombre de filaments très fins, courts, granuleux, ramifiés. Pour les avoir entiers, il fallait étendre le pus sans l'écraser, en cas contraire ils se fragmentaient facilement. Des frottis de ce pus ont été soumis à différentes colorations: Le bleu au thymol ne les colorait pas, la fuchsine les colorait d'une façon peu intense, le Gram les colorait mieux, mais d'une façon plus faible de ce qu'on remarque dans les bactéries se colorant par le Gram. Colorés par la fuchsine de Ziehl, ils ne résistaient pas à la décoloration par l'acide nitrique au tiers, mais on voyait pourtant par-ci par-là, quelques fragments fortement colorés en rose. Les coupes de ces nodules, colorées au carmin aluné et au Gram éosine, les montraient formé à la périphérie d'un tissu fibreux infiltré de petites cellules rondes, au centre par une masse puriforme dégénérée, dans laquelle on remarquait des filaments analogues à ceux observés sur les nodules frais.

Des cultures faites avec le contenu de ces nodules, ont donné d'emblée une culture pure d'un actinomyces présentant les caractères suivants:

Développement rapide, surtout à 37°, lent à la température de 18 et 20°.

Sur plaques d'agar apparaissent de petites colonies sèches jaunâtres qui se couvrent d'une poussière blanchâtre. A leur développement complet, ces colonies présentent un diamètre de 5 mill., ont un contour ondulé, une coloration jaunâtre avec partie centrale surélevée, couverte d'une fine poussière blanchâtre. Du centre partent des rayons en

forme de plis sail-lants, au nombre de 7 environ par colonie (fig. 5). Ces colonies dégagent une odeur de terre analogue à celle dégagée par *A. chromogenes*.

Sur agar par piqûre, mêmes caractères, sans développement en profondeur.

Sur agar incliné, carotte (fig. 6) et pomme de terre, développement de colo-

nies analogues qui se fondent entr'elles en une couche plissée jaunâtre, couverte d'efflorescences blanches.

En gélatine, mêmes caractères que sur agar sans liquéfaction.

En bouillon, trouble du bouillon, sans pellicule mais formation au fond d'une série de granulations jaunâtres à efflorescences blanchâtres.

Bon développement dans le lait sans le coaguler.

Peu à peu, toutes ces cultures présentent une coloration rose vif sur toute leur étendue ou par places. Le lait présente une coloration rose, surtout à la surface.

Examinées au microscope, ces colonies qui sont fort adhérentes au milieu sur lequel elles se sont dé-

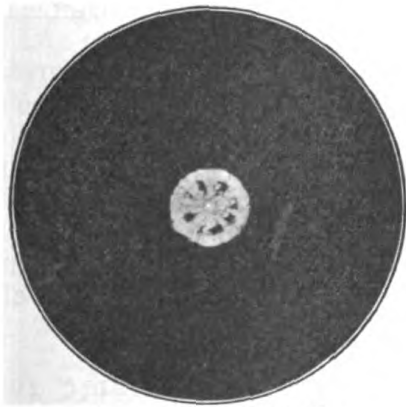


Fig. 5. Gr. naturelle.

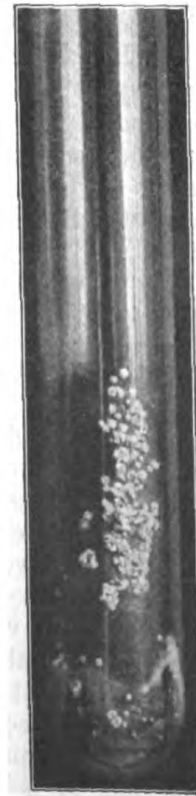


Fig. 6.
Gr. naturelle.

36

Erste Abt. Orig. Bd. 63.

Heft 7.

veloppées, présentent les caractères typiques du genre *Actinomyces*. Elles sont formées par des filaments enchevêtrés, ramifiés, dont plusieurs se segmentent en petits bouts et entre les filaments on remarque des granulations réfringentes. Même colorées par la fuchsine de Ziehl à chaud, par le violet de gentiane phéniqué et par le Gram, les filaments se colorent plutôt faiblement, tandis que les granulations prennent mieux la couleur.

Les inoculations aux animaux m'ont donné les résultats suivants :

Un cobaye inoculé sous la peau de la cuisse avec du raclage d'un nodule, délayé dans de l'eau stérilisée, a présenté une tuméfaction comme une noisette au point inoculé, tuméfaction qu'a disparu. Il est mort fortement amaigri après 2 mois et 18 jours, ne présentant d'autre lésion que 2 nodules dans le foie. Ces nodules étaient formés par des cellules rondes, avec des filaments d'*Actinomyces*.

Un lapin inoculé sous la peau de la cuisse droite avec 1 $\frac{1}{2}$ c. c. d'une culture en bouillon est mort 5 mois $\frac{1}{2}$ après, présentant comme lésion, en dehors d'une infection du foie à *E. Stiedae*, une rate 3 fois plus grosse qu'une rate normale, avec de petits tubercules et une forte tuméfaction des capsules surrénales, surtout de la droite. Je n'ai trouvé l'*Actinomyces* que dans les nodules de la rate.

Un *Mus decumanus* inoculé avec la même culture ($\frac{1}{2}$ c. c. sous la peau de la cuisse droite) est mort 2 mois après sans lésions et sans que j'aie pu déceler la présence de l'*Actinomyces*.

Une souris grise inoculée avec la même culture ($\frac{3}{10}$ de centimètre cube sous la peau de la cuisse droite) est morte 4 $\frac{1}{2}$ mois après, avec des tubercules blanchâtres dans le foie et le poumon, contenant l'*Actinomyces*.

L'*Actinomyces* que j'ai isolé des nodules du poumon du chevreau, correspond tout à fait à celui isolé par Silberschmidt et qu'il a appelé : *St. caprae*. Mon observation montre comme il est possible de porter le diagnostic de cette affection par le simple examen microscopique, même à frais, du contenu des nodules pulmonaires. Il serait intéressant de connaître mieux la dissémination de cette affection qui, dans le cas de Silberschmidt comme dans le mien, avait été diagnostiquée comme tuberculose, et en même temps d'étudier les troubles morbides qu'elle peut provoquer chez le chevreau.

6. Sur la fréquence d'*Actinomyces* dans l'organisme de l'homme.

Laissant de côté les formes bien connues d'infections provoquées par des actinomycètes du genre *Actinomyces* chez l'homme, il me semble intéressant d'attirer l'attention sur la fréquence assez grande de parasites de ce genre qu'on peut constater soit dans des lésions, soit dans des excréments provenant de l'homme. En 1897 mon collègue, le Dr. Giacomoni, me pria de vouloir bien examiner avec lui un malade dans un village de la Valteline, malade chez lequel il soupçonnait une forme analogue à la lèpre. Il s'agissait d'un homme âgé de 59 ans, de taille plutôt grande, bien bâti, de profession menuisier. En automne 1890 il s'aperçut de l'apparition à l'une des jambes, d'une petite excroissance. Peu à peu, des nodules analogues se présentèrent non seulement sur la même jambe, mais aussi sur l'autre, puis sur les avant-bras. Ces nodules étaient accompagnés, d'une infiltration œdémateuse, ulcération de la peau et suintement de liquide. Quand je le vis (fig. 7), les lésions

étaient très avancées, de type symétrique: soit les avant-bras, soit les jambes et les pieds étaient complètement couverts par une quantité énorme d'excroissances rougeâtres entre lesquelles il y avait des gerçures d'ou suintait un liquide jaunâtre. Ce malade ne présentait pas de lésions cardiaques, son appétit était bien conservé, mais il se sentait affaibli. Il succomba quelques mois après avec une forte diarrhée et un affaiblissement rapide des forces. Malheureusement on ne put pas faire l'autopsie.

La recherche des bacilles de la lèpre dans le liquide récolté à la surface de la peau et dans des nodules excisés fut absolument négative; mais dans les préparations, à côté de nombreux bacilles il y avait des filaments simples ou ramifiés, se colorant fortement par la fuchsine de Ziehl, mais ne résistant pas à la décoloration par l'acide nitrique au tiers. Seulement par-ci par-la on en trouvait qui ne se décoloraient pas d'une façon complète, mais présentant des granulations rouges sur un fond légèrement rosé. Ces filaments se trouvaient non-seulement dans le liquide qui coulait des lésions cutanées, mais aussi dans les nodules, nodules formés par du tissu conjonctif embryonnaire avec de nombreux vaisseaux et des dilatations vasculaires simulant dans certains endroits, des angiomes. A l'époque où j'ai fait cette observation, je n'ai pas insisté sur l'étude de ces formes actinomycosiques que je considérais comme des saprophytes.

Les études nouvelles sur le genre *Actinomyces*, m'engagent à publier cette observation, sans me prononcer sur la possibilité que ces filaments actinomycosiques aient joué un rôle quelconque dans le développement de la lésion observée.

Il y a une année, j'ai vu à l'hôpital de Brigue, un ouvrier sicilien présentant sur le front, le nez, les joues, de petits nodules confluent, plutôt aplatis, qui lui donnaient un peu l'aspect d'un lépreux. Ayant pu obtenir de Mr. le Dr. Pometta un petit nodule provenant de cet ouvrier, j'y ai trouvé des filaments plutôt courts, ramifiés, formant comme des touffes, mais ne résistant pas du tout à la décoloration par l'acide nitrique au $\frac{1}{8}$. Les cultures sont restées absolument négatives.

Karwacki¹⁾ a signalé la présence fréquente de filaments d'*actinomyces* dans les crachats des tuberculeux et dit que ces parasites occupent une place très importante dans la flore microbienne des crachats des tuberculeux.

Dans une série de recherches faites par moi et par mon ancien élève, Mr. le Dr. Bornand, sur les crachats des tuberculeux, surtout au point de vue des cultures directes de *M. tuberculosis* par le procédé de l'antiformine, nous avons plusieurs fois obtenu des cultures d'*Actinomyces* se rapprochant d'*A. chromogenes*, et une fois j'ai isolé une de ces formes du liquide cérébrospinal dans un cas de méningite.



Fig. 7.

1) Sem. méd. 1911. p. 82.

Mais ces Actinomyces proviennent-ils réellement du malade, ou ne proviennent-ils pas plutôt de l'air, auquel les crachats et probablement le liquide cérébrospinal ont été exposés avant d'être envoyés au laboratoire?

Vu la fréquence des Actinomyces dans l'air, il est probable que dans plusieurs cas dans lesquels ces parasites sont signalés, surtout dans les crachats, ils proviennent de l'air, ou bien de l'eau qui a été placée dans les crachoirs.

Quoi qu'il en soit, il sera de plus en plus important d'attirer l'attention sur les Actinomyces dans les lésions de l'homme, Actinomyces qui occupent peut-être dans sa pathologie, une place encore plus importante de celle qu'ils y ont occupé jusqu'à présent.

Lausanne, 20. Février 1912.

Nachdruck verboten.

Asthma bronchiale als anaphylaktische Erscheinung.

[Aus dem Hygienischen Laboratorium des Kaiserl. klinischen Instituts der Großfürstin Helena Pawlovna (Vorstand: Prof. Dr. G. W. Chlopin. Leiter der bakteriologischen Abteilung: Assistent Privatdozent Dr. G. D. Belanowsky).]

Von Dr. E. Manolloff.

Unter Asthma versteht man im allgemeinen Anfälle und eine bestimmte Atemnot. Das Asthma bronchiale ist eine Krankheit, die sich durch anfallsweise auftretende Zustände von expiratorischer Dyspnoe, Lungenblähung sowie durch eine besondere Art von Bronchialkatarrh kennzeichnet.

Ueber das Wesen des Asthma bronchiale herrschen zurzeit noch keineswegs einheitliche Vorstellungen. Ebenso existieren über den mechanischen Vorgang während eines asthmatischen Anfalls verschiedene Ansichten. Die verbreitetste ist die Biermerische Deutung, nach welcher es sich um einen Krampf oder spastische Verengung der Bronchiolen handelt. A. Fränkel meint, daß die plötzlich eintretende Hyperämie der Bronchien, die damit verbundene Schwellung der Mucosa und die Produktion eines zähen, die Bronchiallumina obstruierenden Sekretes als die unmittelbare Ursache der Anfallssymptome aufzufassen sind.

Den Prozeß der Schleimhaut selbst als Katarrh der Bronchien schlechtweg zu bezeichnen, hält A. Fränkel nicht für passend, da die Beschaffenheit des Sputums darauf hinweist, daß hier ein ganz eigenartiger Exsudationsprozeß vorliegt¹⁾.

Eichhorst²⁾ schreibt in seinem bekannten Lehrbuche über das Asthma: „Sehr häufig entsteht das Bronchialasthma auf reflektorischem Wege und Erkrankungen der allerverschiedensten Organe können das Leiden anfachen“. Durch die Erkrankung der Schleimhaut der Nasenmuscheln, Nasenpolypen, chronische Nasenentzündung, Polypen der Stimmbänder, chronischen Katarrh des Kehlkopfs sowie die Erkrankung der Sexualsphäre — namentlich die Spermatorrhöe — kann das Asthma herbeigeführt werden. Beachtenswert ist, daß manche Menschen nach bestimmten Gerüchen Bronchialasthma bekommen, so z. B. nach Einatmung von Rosen-, Veilchen-, Heliotropduft, frischem Heuduft, sowie nach Ipecacuanhawurzel und Chlordämpfen — und nach dem Genusse gewisser Speisen und Getränke — sind Asthmaanfalle beschrieben worden.

Es gibt auch ein Intoxikationsasthma, nach Dr. Brügelmann³⁾: „Dasselbe besteht in einer temporären Ueberfüllung der Gehirnzentren mit CO₂ und kommt dadurch zustande, daß durch irgendeine beliebige Atmungshindernis das normale Inspirations-

1) Fränkel, A., Das Asthma. (Realenzyklop. der gesamten Heilkunde. Bd. 11.)

2) Eichhorst, Lehrb. d. prakt. Medizin.

3) Brügelmann, Das Asthma, sein Wesen und seine Behandlung. 5. Aufl. p. 240.

quantum an Sauerstoff dem Kranken verkümmert wird, wodurch konsequenterweise eine Ueberfüllung des Gehirns mit CO₂ eintreten muß, oder in einer Dyskrasie des Blutes und dadurch einer anomalen Ernährungsintoxikation des Respirationszentrums.⁴ Aber nach den gegenwärtig herrschenden Ansichten über das Wesen des Asthmas ist eine Alteration des Respirationszentrums unbedingt notwendig, wobei es nebensächlich ist, ob dasselbe auf reflektorischem, chemischem oder traumatischem Wege zustande kommt.

Das Bronchialasthma findet sich sehr häufig bei Mitgliedern solcher Familien, in denen eine neuropathische Veranlagung vorliegt, wie z. B. Migräne, Epilepsie, Psychosen und andere Nervenkrankheiten. Aber auch sehr oft wird Asthma gefunden bei solchen Personen, die an verschiedenen Dermatosen leiden (Prurigo, Urticaria, Ekzem usw.), namentlich bei Individuen, die in der Kindheit an verschiedenen Hautaffektionen gelitten haben. Bei Kindern hat man sehr häufig im Gefolge von Masern und Keuchhusten das Asthma entstehen gesehen.

Endlich hat man vielfach eine gegenseitige Beziehung zwischen Gicht und Chlorosen einerseits, sowie Asthma andererseits beobachtet. Prof. N. Golubeff¹⁾ teilt in seiner bekannten Arbeit über das Asthma mit, daß er zwei Gichtkranke beobachtet hat, die weder nervös, noch erblich belastet waren und bei denen sich gleichzeitig mit dem Auftreten von Podagra und einiger Adipositas eine ziemlich hartnäckige chronische Tracheobronchitis mit spärlichem Auswurf einstellte; die Bronchitis wich jedesmal der gegen die Adipositas und das Podagra gerichteten Therapie. Beide Patienten wurden später zu Asthmatikern mit dem charakteristischen Asthmaauswurf.²

Daß der Symptomenkomplex des Asthmas bronchiale nicht auf ausschließlich nervöser Basis beruht, dafür ist bereits im Jahre 1875 von dem berühmten Kliniker Leyden³⁾ eine Entdeckung von großer Wichtigkeit gemacht worden. Er fand im Sputum der Asthmakranken Kristalle, die unter dem Namen Charcot-Leydensche Kristalle bekannt sind. Diese Kristalle sind für asthmatische Bronchitiden spezifisch und werden bei den nicht-asthmatischen Bronchitiden nicht gefunden, obwohl einige Forscher beobachteten, daß dieselben Kristalle bei fibrinöser Bronchitis zu finden waren. Der bekannte Moskauer Kliniker N. Golubeff⁴⁾ versichert, auf Grund ihm zur Verfügung stehender Daten bestätigen zu können, daß von 10 Asthmatikern sie bei 8—9 sich vorfinden. Nach Norden⁵⁾ fahren die Kristalle einige Zeit nach dem Auswurf fort, sich auszukristallisieren, wenn der Auswurf an der freien Luft gestanden hat, infolgedessen sich auch die Zahl der Kristalle vergrößert. Lewy⁶⁾ behauptet, daß sie nach dem Aufhören des Anfalls in den freien Zwischenphasen gewöhnlich im Auswurf fehlen und aufs neue erst mit dem neuen Anfall oder einige Zeit vor demselben erscheinen.

Was die chemische Natur der Kristalle anbelangt, so bestehen sie nach Salkowsky⁷⁾ aus einer kristallisierten, mucinähnlichen Substanz, Huber⁸⁾ und Friedrich nehmen an, daß die Kristalle hauptsächlich aus Tyrosin bestehen. Nach Schreiners⁹⁾ Untersuchungen stellen aber die Kristalle vielmehr das phosphorsaure Salz einer neuen organischen Basis dar. Jedenfalls scheint aus diesen Untersuchungen hervorzugehen, daß die Kristalle Zersetzungsprodukte der Eiweißkörper sind, und daß sie den Ptomainen nahe stehen. Im Jahre 1885 veröffentlichte Curschmann¹⁰⁾ seine Untersuchungen über das Sputum der Asthmatischer. Er fand in demselben Spiralen und brachte dieselben in ätiologischen Zusammenhang mit den asthmatischen Anfällen. Obwohl man später dieselben Spiralen bei der einfachen und fibrinösen Bronchiolitis angetroffen hat, hat doch ihr fast konstantes Vorkommen im Sputum der Asthmakranken eine wichtige diagnostische und theoretische Bedeutung, da es auf das Spezifische der asthmatischen Bronchitis hinweist¹⁰⁾. Im Jahre 1889—1890 entdeckten Fr. Müller-Breslau und seine Schüler Gollasch und Fink, sowie der bekannte russische Bakteriologe Gabritschewsky im Blute und Sputum der Asthmatischer das konstante Vorkommen einer ungeheuren Menge eosinophiler Zellen. Nach Fink machen die Eosinophilen im Sputum 60 Proz. aller Leukocyten aus und im

1) Golubeff, Das Bronchialasthma und seine Behandlung. (Sammlung klinischer Vorträge. No. 256/57. Leipzig.)

2) Mitteilungen über Asthma bronchiale. Stuttgart 1875.

3) Golubeff, N., Das Bronchialasthma. (Sammlung klin. Vorträge. No. 256/57.)

4) Zitat nach N. Golubeff.

5) Ebenda.

6) Virchows Archiv. Bd. 32. p. 525.

7) Arch. d. Heilk. Jahrg. 18. 1877. p. 485.

8) Schreiner, Ueber eine neue organische Basis in tierischen Organismen. (Annal. de Chem. 1879. p. 194.)

9) Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 26.

10) Zitat nach N. Golubeff.

Blute 14 Proz., an Stelle von 2—4 Proz. des normalen Verhältnisses. Ueber die starke Vergrößerung der Zahl der Eosinophilen im Blute der Asthmakranken äußert sich Prof. Golubeff¹⁾ folgendermaßen: „Diese Erscheinung steht a priori im Zusammenhang nicht mit der spasmodischen Kontraktion der Bronchialmuskeln, sondern mit der vasomotorischen sekretorischen Störung, die eine ungeheure Menge von Eosinophilen im Sputum ergibt.“ Neisser²⁾ nimmt an, daß das Auftreten von Eosinophilen im Blute eng mit der Funktionsstörung des Sympathicus verbunden ist. Er meint, daß die Reizung des Sympathicus auf reflektorischem Wege eine verstärkte Emigration der Eosinophilen aus dem Knochenmark hervorruft. Außerdem glaubt Neisser, daß bei Asthma die Eosinophilen auch in der Lunge und bei chronischen Hautkrankheiten in der Haut entstehen³⁾. Nach Zappart⁴⁾ kommen bei Pemphigus bis 32 Proz. eosinophile Zellen vor.

Was die Dauer des Asthmaanfalles anbelangt, so gibt es solche von 24 Stunden bis zu 1—3 Wochen, ja Sigmund Goldschmidt hat sogar einen Kranken mit 9-monatlichem Anfall beobachtet. Nach dem Ablaufe des Asthmaanfalles wird weder an der Lunge, noch an sonst einem der Atmung dienenden Organe, noch an einem Zirkulationsorgane ein anatomischer Grund entdeckt, und da das Bronchialasthma auf dem Höhepunkt seiner Entwicklung nicht zum Tode führt, so sind unsere pathologisch-anatomischen Kenntnisse über dasselbe sehr mangelhaft.

Zuverlässige Sektionsprotokolle verdanken wir in erster Linie Leyden, dann Berkart. Dieser teilt in seiner Monographie⁵⁾, das Sektionsprotokoll einer 37 Jahre alten Patientin, mit, die im Laufe von 14 Jahren an Bronchialasthma litt und infolge Vitium cordis starb. Man fand das Herz bedeutend hypertrophiert, Emphysem, Bronchien stellenweise erweitert, stellenweise mit Pfropfen verschlossen, der Inhalt aus degenerierten Epithelzellen und Detritus, in dem man Spiralen und Fragmente Leydenscher Kristalle vorfand. „Natürlich gehört auch dieser Fall — sagt Prof. Golubeff — zum Spätstadium des Asthma und kann daher ebensowenig eine genaue Vorstellung von den anatomischen Veränderungen in frischen Fällen geben.“ Fränkel⁶⁾ beschrieb die Sektionsresultate und die mikroskopischen Untersuchungen eines Falles von Asthma, wo die Hauptveränderungen in einem Desquamationskatarrh der feineren und mittleren Bronchien bestanden, bei welchen eine so massenhafte Abstoßung zylindrischer Epithelien in das Innere der kleinen Luftröhrenäste stattfand, daß deren Lumen dadurch vollkommen verschlossen wurde. Andere Sektionsprotokolle über Asthma bronchiale sind mir nicht bekannt.

Trotz der außerordentlich großen Zahl von Arbeiten über Asthma bronchiale sind unsere Anschauungen dennoch über das Wesen dieser Krankheit keineswegs geklärt. Die Ursache davon ist die, daß man keine passende Untersuchungsmethode besaß, durch welche man in der Lage wäre, dem Geheimnis des Naturrätsels näherzutreten. Erst durch Studien auf dem Gebiete der Immunitätsforschung und Serologie sind in allerletzter Zeit einige Beobachtungen bekannt geworden, die geeignet sind, teilweise das Zustandekommen mancher Krankheiten zu erklären. So treffen wir z. B. in dem bekannten Buche A. Wassermanns⁷⁾ über „Hämolyse, Cytotoxine und Präzipitine“ auf S. 95 folgendes: „Mehr Aussicht auf Bereicherung unseres Wissens vom Zustandekommen der Krankheiten bieten die Bemühungen um Erforschung etwaiger Antikörperbildung nach Einverleibung von Zellen der gleichen Art (Isocytotoxine) oder derselben Individuen (Autocytotoxine). Metschnikoff konnte, wenn er Spermatozoen der Species a einem Tier des Species a einspritzte, nachweisen, daß das Serum des letzteren imstande war, die

1) Ebenda.

2) Neisser, Klinisch hämatologische Mitteilungen. (Wiener klin. Wochenschr. 1893. No. 34.)

3) Golubeff, N., ebenda.

4) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 23.

5) Das Bronchial-Asthmatis. His Pathology and Treatment. London 1899. p. 73—80; Zitat nach N. Golubeff.

6) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 35. 1898.

7) Neu bearbeitet und ergänzt von I. Leuchs u. M. Wassermann. Leipzig 1910.

eigenen Spermatozoen aufzulösen. Daß sich Römer bei seiner Vorstellung der Entstehung der Katarakta von gleichen Anschauungen leiten ließ, ist schon bemerkt worden. Aehnliche Befunde sind allerdings selten; Ränzi gelang es z. B. nicht, bei Carcinom- und Sarkomkranken ein Serumsreaktionsprodukt gegen ein Extrakt von Tumoren zu finden. Immerhin — sagt Wassermann — dürfte für die Zukunft für diesen Zweig der Forschung noch manches für die Praxis verwertbare Material zu erwarten sein“. Spiro Livierio¹⁾ konnte mittels Magensaftes von Carcinomkranken die passive Anaphylaxie auf Tiere übertragen.

Bevor ich zu eigenen Untersuchungen übergehe, erlaube ich mir noch zu erwähnen, daß es Obermeyer und Pick²⁾ gelang, Eiweißstoffe, die von derselben Tierspecies stammen, durch Nitrierung, Jodierung und Diazotierung aus körpereigenem Eiweiß zu körperfremdem Eiweiß umzuwandeln. Dieses auf diese Weise denaturierte Eiweiß löst im Tierkörper die gleichen Reaktionen aus, wie wenn von Anfang an körperfremdes Eiweiß injiziert worden wäre, siehe z. B. Präzipitinbildung.

Eigene Untersuchungen.

In den letzten Jahren hatte ich Gelegenheit, einige Asthmatiker näher zu beobachten. Ich habe die auffallende Aehnlichkeit zwischen den Symptomen der asthmatischen Anfälle und Ueberempfindlichkeitserscheinungen gefunden. Auf Grund dieser Beobachtung hatte ich mir die Aufgabe gestellt, mich mit dieser Frage näher zu beschäftigen, ob es möglich wäre, mit Hilfe anaphylaktischer Prinzipien das Phänomen des Asthma bronchiale auf diesem Wege zu erklären.

Meine ersten Versuche habe ich bereits anfangs 1910 ausgeführt, und die bis jetzt gewonnenen Resultate können, wie ich glaube, einiges Interesse bieten.

Material und Untersuchungstechnik.

Meine Versuche wurden folgenderweise ausgeführt: Ich nahm Blut von akut schwer erkrankten Asthmatikern. Das Blut wurde sofort zentrifugiert und das gewonnene aktive Serum subkutan, intraperitoneal oder intravenös injiziert. Nach 48 Stunden wurde eine Lösung aus Charcot-Leydenschen Kristallen des Sputums desselben Kranken intravenös eingespritzt.

Aus dem Sputum wurde die Kristalllösung auf folgende Weise bereitet: Die Kristalle werden im Sputum nach Fränkels³⁾ Angaben aufgesucht, indem man es auf einer Glasscheibe mit schwarzem Untergrund ausbreitet. Man konstatiert, daß der glasige, zähe, dabei grauweißlich gefärbte Auswurf aus einer schleimigen, farblosen Grundsubstanz und einer gewissen Anzahl weißlicher, opaker Ballen besteht. Untersucht man die letzteren mit Hilfe der Lupe, so lösen sie sich zum Teil in eine mehr oder weniger große Menge ringelartiger Fäden auf, welche Pfropfen den Eindruck machen, als seien sie Ausgüsse der feinsten Bronchiolen; gewöhnlich ist im Zentrum des Geringels ein gelbliches Körnchengebilde, letzteres pflegt in reichlicher Menge die bekannten Charcot-Leydenschen Kristalle zu enthalten. Bei der mikroskopischen

1) Weiteres über die Magensaftanaphylaxie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. p. 442.)

2) Wiener klin. Wochenschr. 1906.

3) Fränkel, A., Asthma. (Realenzyklop. Bd. 1. 1896.)

schen Untersuchung zeigt sich, daß das elastische, zähe Gebilde aus einer streifigen, entweder parallel oder spiralfaserigen Substanz besteht, in welcher eine mehr oder weniger reichliche Zahl von Rund- resp. Spindelzellen enthalten ist, die zum Teil zu körnigem Detritus zerfallen sind. Zwischen diesen zelligen Elementen und deren Zerfallsprodukten liegen die Kristalle, die sich in Form spitzer Oktaeder präsentieren. Hat man nach langem Mikroskopieren eine Partie mit vielen Kristallen aufgefunden, so nimmt man etwa 0,5—1,0 des Sputums auf 10,0 physiologische Kochsalzlösung und schüttelt es einigemal durch, bis sich eine Emulsion gebildet hat. Davon nimmt man 0,5—1,0 der Lösung behufs intravenöser, anaphylaxierender Injektion. Meine Versuche erstrecken sich auf vier Kranke, die an typischem Asthma bronchiale erkrankt waren.

Versuchsordnung.

Fall I. A. K., 34 Jahre alt, Mechaniker; leidet seit 10 Jahren an periodischen asthmatischen Anfällen, die 48 Stunden bis 3 Wochen dauern.

2. Febr. 1910. Seit 2 Tagen schwerer asthmatischer Anfall. Der Patient klagt über schwere Atembeschwerden, namentlich aber über starke, unerträgliche Brustschmerzen, die sich in der Diaphragmagegend lokalisieren.

Status praesens: Weit verbreiteter Bronchialkatarrh mit Giemen, Pfeifen. Nase, Rachen und Larynx normal. Auf der linken Hand, in der Gegend der Handwurzel, chronisches Ekzem. Der Patient gibt an, daß bei jedem Anfall sich das Ekzem verschlimmert. Nach dem Ablauf des Anfalls heilt das Ekzem fast ohne besondere Behandlung. Puls klein, etwas beschleunigt, 84 in der Minute. Urin 480 ccm in 24 Stunden. Nach dem 3. Tage der Krankheit Urinmenge 520 ccm. Die Urinmenge vergrößert sich allmählich, so daß am 9. Tage der Krankheit die Normalmenge erreicht wurde.

Tierversuche.

Am 22. Febr. wurde Blut vom Patienten genommen, zentrifugiert und etwa 2 ccm frisch aktiviertes Serum intraperitoneal dem Meerschweinchen No. 1 (460 g Gewicht, Temperatur 38,1°) eingespritzt. Etwa 3 ccm des Serums wurden dem Kaninchen No. 1 (2010 g Gewicht, Temperatur 38,3°) subkutan eingespritzt.

Am 24. Febr. wurde etwa 1 ccm Kristalllösung aus Sputum desselben Kranken (es wurde bereits erwähnt, wie die Lösung vorbereitet wird) intravenös eingespritzt. Das Tier erkrankte an Dyspnöe, starke Urin-Kotentleerung, Hinterbeine gelähmt. Nach 15 Minuten betrug die Temperatur 37°. Die Erkrankung dauerte fort, das Tier konnte sich nicht erholen, gegen Abend Exitus.

Sektion: Starke Lungenblähung, Lungenanämie, das Herz stark vergrößert.

Am 24. Febr. wurden dem vorbehandelten Kaninchen No. 1 in eine Ohrvene etwa 2 ccm Kristalllösung aus Sputum des Kranken eingespritzt. Das Tier starb in wenigen Sekunden unter starker Dyspnöe.

Die Kontrolltiere, die mit normalem, menschlichen Serum vorbehandelt wurden, und denen nach 48 Stunden dieselbe Kristalllösung des Sputums intravenös eingespritzt wurde, blieben vollkommen gesund.

Fall II. Frau Z. I-in aus Turkestan, 37 Jahre alt, mit 4 Kindern, letzte Geburt vor 9 Jahren. Sie wurde während der ersten Schwangerschaft im 3. Schwangerschaftsmonat asthmatisch. Bei der zweiten Schwangerschaft bekam sie wieder Anfälle, die nun häufiger waren als bei der ersten. In der Periode von der zweiten Schwangerschaft bis zur dritten war sie vollständig gesund. Nach der dritten Geburt wiederholten sich die Asthmaanfalle periodisch bis jetzt.

Am 23. März 1910 bekam die Patientin einen so schweren Anfall, daß sie dachte, bald sterben zu müssen. Sie hatte die ganze Nacht in sitzender Stellung verbracht.

Status praesens: Durch Perkussion wurde nur eine Erweiterung der Lungen konstatiert. Auskultation ergab asthmatische, pfeifende und giemende Geräusche. Die Nase normal, keine Cyanose. Urin 310 ccm, spezifisches Gewicht 1012.

Tierversuche.

Am 24. März Blut entnommen, zentrifugiert und etwa 2 ccm frisch aktiviertes Serum subkutan Meerschweinchen No. 2, Gewicht 460 g, Temperatur 38,3°, eingespritzt. Ebenso wurden etwa 3 ccm Kaninchen No. 2, Gewicht 2152 g, subkutan eingespritzt.

Am 26. März wurde Meerschweinchen No. 2 1 ccm einer Kristalllösung des Sputum des Kranken intravenös eingespritzt. Kaninchen No. 2 erhielt in eine Ohrvene etwa 2 ccm derselben Lösung eingespritzt. Das Meerschweinchen bekam sofort nach der

Reinjektion deutliche, schwere Anzeichen der Anaphylaxie und nach wenigen Sekunden Exitus.

Sektion ergab: Lungenblähung, Herzerweiterung, die Abdominalorgane stark injiziert.

Am 26. März wurden dem vorbehandelten Kaninchen No. 2 etwa 2 ccm derselben Kristalllösung in die Ohrvene eingespritzt. Nach etwa 1—2 Minuten trat schwere Atemnot und Lähmung beider Hinterbeine ein. Das Tier konnte sich nicht erholen; nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden Exitus. Sektion ergab ähnliche Resultate wie bei dem Kaninchen No. 1.

Fall III. A. von G., Künstler, 42 Jahre alt. Seit 8 Monaten asthmatisch. Den ersten Anfall bekam er am 2. April 1910 nach einer Jagdpartie.

Am 7. Nov. bekam er den stärksten Anfall, den er bis jetzt gehabt hatte. Patient klagte über unerträgliche Kopfschmerzen.

Status praesens: Lungenerweiterung, typische Lungengeräusche, Pfeifen und Giemen, Puls 80 in der Minute, klein, jedoch normal. Urin 540 ccm in 24 Stunden, spezifisches Gewicht 1015.

Tierversuche.

Am 9. Nov. wurde Blut entnommen, zentrifugiert, etwa 2 ccm frisches aktiviertes Serum Meerschweinchen No. 3, Gewicht 420 g, Temperatur 38,1°, intraperitoneal eingespritzt. Kaninchen No. 3, Gewicht 2100 g, Temperatur 38,9°, wurden etwa 2 ccm desselben Serums subkutan eingespritzt. Am 11. Nov. wurde Meerschweinchen No. 3 etwa 1 ccm Kristalllösung des Krankensputums intravenös eingespritzt. Das Tier bekam sofort deutliche anaphylaktische Erscheinungen, jedoch erholte es sich langsam, so daß es am 12. Nov. vollständig munter war.

Am 11. Nov. wurden dem vorbehandelten Kaninchen No. 3 etwa 2 ccm derselben Kristalllösung in eine Ohrvene eingespritzt. Das Tier starb in wenigen Sekunden.

Sektion ergab: Lungenanämie, Lungenblähung, Herzerweiterung, alle Organe stark injiziert.

Kontrolltiere bleiben vollständig gesund.

Fall IV. Frau G. L., 26 Jahre alt. Die Patientin ist hysterisch belastet. Als Kind litt sie an Atembeschwerden, jedoch trat ein echter Asthmaanfall erst während der ersten Schwangerschaft auf. Seit dieser Zeit bekommt sie periodisch schwere Asthmaanfalle. Am 6. Okt. 1910 bekam sie einen schweren Anfall mit Kopfschmerzen. Besonders klagte sie über Brustschmerzen und starke Atemnot.

Status praesens: Die gewöhnlichen Lungengeräusche, die bei Asthma vorkommen. Puls klein, jedoch normal, 78 in der Minute.

Tierversuche.

Am 7. Okt. wurde Blut entnommen, zentrifugiert und etwa 3 ccm aktiviertes Serum in die Ohrvene dem Kaninchen No. 4, Gewicht 2120 g, Temperatur 39°, eingespritzt. Etwa 2 ccm wurden Meerschweinchen No. 4, Gewicht 495 g, Temperatur 38,3°, subkutan eingespritzt.

Am 9. Nov. wurden dem Kaninchen No. 4 etwa 2 ccm Kristalllösung des Krankensputums in eine Ohrvene eingespritzt. Das Tier starb in wenigen Sekunden.

Sektion ergab: Lungenblähung, Lungenanämie, Herzerweiterung, Abdominalorgane stark injiziert.

Am 9. Nov. wurde dem vorbehandelten Meerschweinchen No. 4 1,0 ccm Kristalllösung intravenös eingespritzt. Nach wenigen Sekunden unter den üblichen anaphylaktischen Erscheinungen Exitus.

Sektion ergab denselben Befund wie bei Kaninchen No. 3; Kontrolltiere blieben vollständig gesund.

Die Resultate meiner Beobachtungen will ich in folgendem kurz zusammenfassen:

Wenn man einem Meerschweinchen, resp. Kaninchen frisch aktiviertes Serum eines Asthmakranken subkutan, intraperitoneal oder intravenös einspritzt und nach längerer Zeit Kristalllösung aus Sputum desselben Kranken bereitet und es als anaphylaxierend einspritzt, so tritt eine Reihe mehr oder weniger gefährlicher Erscheinungen ein, welche zusammen das Bild geben, wie man es bei der Anaphylaxie zu beobachten gewöhnt ist.

Die Kontrolltiere, die mit Normalserum vorbehandelt wurden, zeigten nach der Einspritzung von Normal Sputumlösung, sowie Kristalllösung der Asthmakranken keine anaphylaktischen Erscheinungen; die Tiere bleiben vollständig gesund.

Aus meinen Versuchen geht hervor, daß man die Anwesenheit der Charcot-Leydenschen Kristalle im Sputum der Asthmakranken als die unmittelbare Ursache der Asthmaanfalle betrachten kann.

Die Asthmasymptome haben eine gewisse Aehnlichkeit mit den anaphylaktischen Erscheinungen.

Die Bildung der Charcot-Leydenschen Kristalle rührt von den Zerfallsprodukten des Eiweißes her. Dieser Eiweißzerfall (Kristalle) kann im Organismus unter gewissen, noch nicht näher zu fixierenden Bedingungen als artfremdes Eiweiß auftreten.

Ganz jüngsten Datums machte Bruno Boussin¹⁾-Grats eine Mitteilung von ungemeiner Wichtigkeit. Es gelang diesem Forscher, mit Rinderserum Meerschweinchen von dem Luftwege aus zu sensibilisieren, resp. überempfindlich zu machen. Diese Entdeckung gibt mehr Berechtigung, zu glauben, daß das Asthma bronchiale ein anaphylaktisches Phänomen sein kann.

An einer anderen Stelle dieser Arbeit hob ich hervor, daß wir gegenwärtig noch nicht in der Lage sind, ein abschließendes Urteil über das Wesen des Asthma bronchiale zu geben. Deshalb erscheint ein Beitrag zu dieser Frage, welcher mit Hilfe dieser modernen Untersuchungsmethoden gewonnen worden ist, berechtigt.

Schlußfolgerung.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Asthma bronchiale höchstwahrscheinlich eine temporäre anaphylaktische Erscheinung ist.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur bakteriologischen Choleradiagnostik²⁾.

[Aus dem Japanischen Kaiserl. Institut für Infektionskrankheiten, Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Von Dr. Y. Teruchi und Dr. O. Hida.

Eine schnelle und sichere Choleradiagnose ist von großer Wichtigkeit, damit der Arzt möglichst schnell die nötigen prophylaktischen Maßnahmen treffen kann. Am sichersten gelangt man zum Ziele, wenn man auf bakteriologischem Wege die Choleravibrien aus dem Stuhl isolieren und eine serodiagnostische Probe anstellen kann. Zur Isolierung der Choleravibrien werden verschiedene elektive Nährböden angegeben,

1) Wiener klin. Wochenschr. 1911. No. 43.

2) In The second biennial meeting of the Far Eastern Association of Tropical Medicine. Hongkong, Jan. 1912, vorgetragen.

z. B. Dieudonnésche Platten, das Verfahren von Ottolenghi, von Neufeld und Woithe, von Bandi u. a. J. Bocchia (1) hat vergleichende Versuche der genannten Nährböden angestellt. Er kam zu dem Schluß, daß die Dieudonnéschen Platten als der beste Nährboden zu empfehlen sind, während die anderen mehr oder minder mangelhafte Punkte bieten. In allerneuester Zeit wurde von P. Pilon (2) Blutsoda-Agar als der beste Elektivnährboden für den Choleravibrio gefunden, indem nach seiner Angabe der Nährboden 24 Stunden eher gebrauchsfähig ist als die Dieudonnéschen Platten, und daß das Wachstum aller Nichtvibrionen auf Sodaplatten ebenso stark gehemmt wird, wie auf den Dieudonnéschen Platten, sowie daß der Choleravibrio sich gut entwickelt.

Wir möchten im folgenden unsere Versuche, welche unternommen wurden, um für die schnelle und bequeme bakteriologische Diagnose der Cholera einen weiteren Fortschritt zu erzielen, etwas näher beschreiben.

Die Choleravibrionen gedeihen bekanntlich in einem erheblich stärkeren alkalischen Nährboden als die anderen Darmbakterien. Das Prinzip der Herstellung der meisten bekannten Elektivnährböden beruht hauptsächlich auf dieser Eigenschaft des Choleravibrio; man hat aber unserer Ansicht nach auf die Auswahl der angewandten Peptonarten bisher zu wenig geachtet. Die meisten käuflichen Peptone, z. B. Pepton Witte, Pepton Gehe, Peptonum siccum et albumose, Peptonum siccum et fibrinosanguinis (Kahlbaum) u. a., welche man im bakteriologischen Laboratorium vorrätig hat, sind bekanntlich meistens durch kurzes Verdauen mit Pepsinsalzsäure aus Fibrin, Eiweiß u. a. dargestellt. Der Abbau der Eiweißstoffe ist nicht sehr weit fortgeschritten. Die genannten Peptone sind für die Züchtung der meisten pathogenen Bakterien gut geeignet. Vorversuche haben aber gezeigt, daß der Choleravibrio in den genannten Peptonen, welche unter Zusatz von Pankreatin einige Tage tryptisch weiter verdaut wurden, eine viel günstigere Entwicklung zeigt.

Daß das genuine Eiweiß oder das nicht tief abgebaute Eiweiß kein günstiges Nährmaterial des Choleravibrio ist, zeigt der folgende Versuch. Wenn eine alkalisierte Kaseinlösung mit dem Choleravibrio geimpft wird, so entwickelt sich der Vibrio so langsam, daß die Nährlösung erst nach 48 Stunden sich zu trüben anfängt und dann erst Indol deutlich darin nachweisbar wird. Es liegt also die Vermutung nahe, daß in diesem Falle der Vibrio durch von ihm produziertes Trypsinferment Kasein in leicht assimilierbarer Form abbaut und dann erst anfängt, sich darin zu entwickeln.

Wenn der Choleravibrio aber die tryptisch abgebauten Produkte des Caseins in der Nährlösung vorrätig hätte, so würde die Entwicklung weit schneller und günstiger erfolgen. Wir konnten diese Tatsache durch Versuche beweisen, worauf wir später noch zurückkommen.

Die Muttersubstanz von Indol ist Tryptophan oder Indolamino-propionsäure, welche im Eiweißmolekül gebunden vorhanden ist. Wird Eiweiß tryptisch verdaut, so wird Tryptophan aus dem Eiweißmolekül gespalten und durch Bromwasser nachweisbar, während Tryptophan bei der Pepsinsalzsäure nicht gebildet wird. Wir haben die gewöhnlichen Peptone, Pepton Witte, Pepton Gehe u. a. auf Tryptophan geprüft, und gefunden, daß keines von ihnen eine deutliche Reaktion zeigte.

Eiweiß, z. B. Kasein, wird wahrscheinlich bei der Entwicklung des Choleravibrio erst gespalten, Tryptophan wird frei und dann wird weiter

bis zum Indol gespalten. Indolbildung scheint aber keine wesentliche Bedeutung für die Entwicklung des *Vibrio* zu haben, sondern ist eine seiner biologischen Eigenschaften. Gelatine enthält bekanntlich kein Tryptophanmolekül. Aber „Gelatine-trypsinpepton“ hat sich als ein sehr günstiges Nährmaterial für den Cholera-vibrio erwiesen; in der Kulturflüssigkeit ist kein Indol nachweisbar. Ist andererseits Tryptophan in der Nährlösung frei vorhanden, so greift es den *Vibrio* sofort an, und dabei wird in kurzer Zeit Indol gebildet. Wir konnten also bei der Züchtung des Cholera-vibrio in 2-proz. „Kasein-trypsinpeptonlösung“, welche starke Tryptophanreaktion zeigte, sogar bei 1-proz. Na_2CO_3 -Zusatz schon innerhalb 2 Stunden deutlich Indolreaktion beobachten.

Vermittels dieser Versuche und ihrer Resultate gelang es uns endlich, einen hochelektiven Nährboden für den Cholera-vibrio zu schaffen.

Wir haben mit Kasein angefangen.

100 g reines Kasein wurden in 1 l 0,8-proz. Na_2CO_3 -Lösung (Natrium carbonicum anhydricum) gelöst, 5–10 g Pankreatin Gehe & Co. zugesetzt, das Gemisch mit Chloroform gut geschüttelt und unter öfterem Schütteln 3–5 Tage in den Brutofen gestellt. Jeden Tag prüfte man eine Probe dieser Flüssigkeit auf Tryptophan, indem man ihr ein paar Tropfen Essigsäure zusetzte und vorsichtig Bromwasser zutropfte. Sobald die Tryptophanreaktion ihr Maximum erreicht hatte und reichliches Tyrosin als weiße Klümpchen ausgeschieden war, kochte man die Flüssigkeit kurze Zeit auf 80°C , filtrierte sie dann und neutralisierte sie mit ein paar Kubikzentimeter verdünnter Salzsäure (die verdaute Flüssigkeit war schon nur ganz schwach alkalisch). Das Filtrat wurde in mäßiger Wärme, womöglich im Vakuum, bis zur Syrupdicke eingedampft (eventuell nach nochmaligem Filtrieren) und dann die Masse in einer Reibschale unter Zusatz von Alkohol geknetet und schließlich im Vakuumexsikkator getrocknet. Das auf diese Weise dargestellte „Kasein-trypsinpepton“ ist ein schwach gelblich gefärbtes Pulver, welches sehr leicht klar im Wasser löslich ist, und liefert ein ausgezeichnetes Nährmaterial für den Cholera-vibrio. Die Ausbeute ist fast quantitativ.

Kulturversuche im „Kasein-trypsinpeptonwasser“ haben gezeigt, daß die Entwicklung des Cholera-vibrio mit dem Prozentgehalt des Peptons günstiger wird und bei 4–5-proz. Gehalt ihr Maximum erreicht, und

Tabelle I.

5-proz. Peptonwasser, welches 0,5 Proz. NaCl enthält, mit dem Cholera-vibrio geimpft. 20-stündige Kultur bei 37°C .

| Na_2CO_3 Proz. | Pepton Witte | | | „Kasein-trypsinpepton“ | | |
|-----------------------------------|--------------|-------------|----------|------------------------|-------------|----------|
| | Wachstum | Hautbildung | Indol R. | Wachstum | Hautbildung | Indol R. |
| 0,1 | Opaleszenz | — | + | Trübung | — | + |
| 0,2 | Trübung | + | + | „ | + | + |
| 0,3 | „ | + | + | „ | + | + |
| 0,4 | „ | — | + | „ | + | + |
| 0,5 | klar | — | — | „ | + | + |
| 0,6 | „ | — | — | „ | + | + |
| 0,7 | „ | — | — | „ | + | + |
| 0,8 | „ | — | — | „ | + | + |
| 0,9 | „ | — | — | „ | + | + |
| 1,0 | „ | — | — | „ | + | + |
| 1,2 | „ | — | — | „ | + | + |
| 1,5 | „ | — | — | Opaleszenz | — | Spur |
| 2,0 | „ | — | — | klar | — | — |

daß das Wachstum bei 0,3-proz. Na_2CO_3 -Gehalt in der Nährlösung am besten ist, aber auch bei 1,2-proz. Na_2CO_3 -Gehalt in derselben noch ziemlich üppig ist. Aber bei den mit „Pepsinsalzsäurepeptonen“, z. B. Witte-Pepton, angestellten Versuchen konnte man bemerken, daß das Wachstum durch zunehmenden Alkaligehalt plötzlich gehemmt wurde und schon bei 0,5-proz. Na_2CO_3 -Gehalt in der Nährlösung sich kaum ein Gedeihen zeigte. Die Tabelle (p. 572) zeigt das Resultat.

Wie man aus vorstehender Tabelle ersieht, ist die Nährflüssigkeit „Kaseintrypsinpeptonwasser“ für den Choleravibrio elektiv so günstig, daß er sich in stark alkalischer Lösung (1,2-proz. Na_2CO_3 -Gehalt) ungehindert schnell und voll entwickeln kann, während der Vibrio bei den sonstigen Peptonen einem starken Alkalizitätsgrade nicht widerstehen kann. Es scheint, daß die anderen Bakterien, *Bacterium coli*, *Bac. alcaligenes*, *Bac. pyocyaneus*, *Staphylococcus aureus*, ausgenommen die choleraähnlichen Vibrionen, *V. Deneke*, *V. Finkler*, *V. Metschnikoffi*, *V. Dunbar*, solch einen Alkalizitätsgrad der Nährlösung ebensowenig vertragen können, wie die folgende Tabelle zeigt:

Tabelle II.

5-proz. „Kaseintrypsinpeptonwasser“, welches 0,5 Proz. NaCl enthält. Na_2CO_3 -Zusatz 1 Proz. 18-stündige Kultur bei 37°.

| Geimpft mit | Entwicklung | Indol-R. |
|---|--|----------|
| 1) <i>Vibrio cholerae</i> | Starke Trübung, dünne Hautbildung | + |
| 2) 1 Oese Faeces | Klar, keine Entwicklung | — |
| 3) 1 Oese Faeces mit dem Cholera-vibrio infiziert | Starke Trübung, dünne Hautbildung (man konnte den <i>Vibrio cholerae</i> rein auf Nähragar umzüchten) | + |
| 4) <i>B. coli</i> | Klar, keine Entwicklung | — |
| 5) <i>B. alcaligenes</i> | " " " | — |
| 6) <i>B. pyocyaneus</i> | " " " | — |
| 7) <i>Staphylococcus aureus</i> | " " " | — |
| 8) <i>V. Deneke</i> | Trübung, keine Hautbildung | + |
| 9) <i>V. Finkler</i> | " " " | + |
| 10) <i>V. Metschnikoffi</i> | " " " | + |
| 11) <i>V. Dunbar</i> | Geringe Trübung | — |

Das Resultat war sehr auffallend, und es ist sicher, daß man dieses Peptonwasser für die Anreicherung des Choleravibrio aus dem Stuhl, aus infiziertem Wasser etc. benutzen kann, was von großer Bedeutung ist. Es wurde experimentell bestätigt, daß sogar nur drei Cholerakeime in der genannten Nährlösung so üppig gediehen, daß die Lösung innerhalb 20 Stunden stark trüb wurde. Um auf der Platte den Cholera-vibrio zu isolieren, verfahren wir folgendermaßen:

90 ccm im Dampftopf geschmolzenes 2-proz. Agar (in 0,5-proz. NaCl-Lösung) wurden mit ca. 4–5 g „Kaseintrypsinpepton“ und genau 10 ccm 10-proz. Na_2CO_3 -Lösung versetzt, sorgfältig gemischt, eventuell einige Minuten weiter gekocht, und das Gemisch sofort in die Petri-Schalen gegossen. Gutes Mischen der Agarlösung mit der Sodalösung ist sorgfältig zu beachten! Die Petri-Schalen bleiben ganz offen, bis das Agar erstarrt ist, und die Platten sind dann sofort brauchbar, aber ein 1–2-stündiges Trocknen der Platten im Brutofen ist zu empfehlen. Auf diese Platten wurden die Choleravibrionen, die Faeces, die mit dem Choleravibrio infizierten Faeces, *Bac. coli*, *Bac. alcaligenes*, *Bac. pyocyaneus*, *Staphylococcus* geimpft und 18 Stunden bei 37° C gehalten. Wir haben mit den vorigen ganz übereinstimmende Resultate

erzielt; es zeigte sich nämlich, daß nur auf den Platten, welche mit dem Cholera vibrio und mit dem infizierten Faeces bestrichen waren, innerhalb 18 Stunden der Cholera vibrio rein zur Entwicklung kam, und zwar in einer Kolonieengröße von 1,8—2,0 mm, während bei den anderen Platten kein einziger Keim zur Entwicklung gelangte. Diese Kolonien des Cholera vibrio konnten wir gleich für serodiagnostische Untersuchungen benutzen. In der Praxis empfiehlt es sich, beide Verfahren, Peptonwasseranreicherung und Isolierungsverfahren, auf den Platten gleichzeitig anzuwenden, damit man schnell und sicher die bakteriologische Cholera diagnose einstellen kann.

Ob Kaseintrypsinpepton den anderen Peptonen, z. B. Fibrin-, Eier-eiweiß-, Serumeiweiß-Trypsinpepton als Nährmaterial des Cholera vibrio vorzuziehen ist, müssen die weiteren Untersuchungen erweisen.

Um eine Uebersicht des Grades der Verdauung der beiden Peptone, Pepton Witte und „Kaseintrypsinpepton“ zu bekommen, analysierten wir 1) den durch Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoff, 2) den formol-titrierbaren Stickstoff der beiden Peptone nach der von Sørensen angegebenen Methode (3).

Das Resultat war, wie folgt:

Tabelle III.

| Der Stickstoffgehalt in 100 ccm Peptonlösung | Witte-Pepton | „Kaseintrypsinpepton“ (96-stündige Verdauung) |
|---|--------------------|---|
| Der gesamte Stickstoff | 0,722 | 1,436 |
| Der durch Gerbsäure nicht fällbare Stickstoff | 0,128 (17,7 Proz.) | 1,030 (71,7 Proz.) |
| Der formol-titrierbare Stickstoff | 0,087 (12,1 „) | 0,805 (56,0 „) |

Die Prozentzahlen in Klammern beziehen sich auf den gesamten Stickstoff.

Das Resultat zeigte, daß das Kasein durch Trypsinverdauung so tief abgebaut wurde, daß ca. Zweidrittel des gesamten Stickstoffs durch Gerbsäure nicht fällbar wurden und über die Hälfte des gesamten Stickstoffs formol-titrierbar wurde. Es zeigte sich aber ferner, daß der Abbau des Eiweißmoleküls bei Pepton Witte gar nicht fortgeschritten war.

Schlußfolgerungen.

1) Die Peptone, welche gewöhnlich im bakteriologischen Laboratorium vorrätig sind, sind meistens „Pepsinsalzsäurepeptone“.

2) Das Pepton, welches sich als Nährmaterial für den Cholera vibrio als besonders günstig erwiesen hat, wird aus Kasein (oder wahrscheinlich auch aus den anderen Eiweißstoffen) durch 3—5-tägige Trypsinverdauung dargestellt („Kaseintrypsinpepton“).

3) Im 4—5-proz. „Kaseintrypsinpeptonwasser“ gedeihen die Cholera vibrien äußerst schnell und üppig, so daß Indol schon innerhalb 2 Stunden deutlich nachweisbar ist.

4) Im 4—5-proz. „Kaseintrypsinpeptonwasser“, welchem sogar 1,5 Proz. Na_2CO_3 zugesetzt wird, kann man das Gedeihen des Cholera vibrio innerhalb 18 Stunden noch deutlich nachweisen, während bei Pepton (Witte)-Wasser bei einem Alkalizitätsgrad von nur 0,5-proz. Sodagehalt die Entwicklung des Cholera vibrio schon gehemmt ist.

5) Das 4—5-proz. „Kaseintrypsinpeptonwasser“ bei 1-proz. Soda-zusatz erweist sich noch fähig für eine rasche Entwicklung des Cholera-vibrio, sowohl als Peptonwasser als auch als Agarplatten, so daß es für die schnelle Isolierung des Vibrio aus choleraverdächtigen Stühlen oder zur Cholera-vibrioanreicherung großen Wert besitzt, indem die hohe Alkalizität die Entwicklung der anderen Darmbakterien vollständig hemmt.

6) Das Peptonwasser ist für den Nachweis des Cholera-vibrio im infizierten Trinkwasser sehr empfehlenswert.

7) Wegen des günstigen Wachstums des Cholera-vibrio in Peptonwasser wird es wahrscheinlich für die Bereitung von Immunisationsmaterial von großem Nutzen werden.

Literatur.

- 1) Bocchia, S., Ueber den Wert der neueren Methoden zur bakteriologischen Diagnose der Cholera. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. p. 434.)
- 2) Pilon, P., Blutsodaagar als Elektivnährboden für Cholera-vibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. p. 330.)
- 3) Sörensen, S. P. L., Die Enzymstudien. (Biochem. Zeitschr. Bd. 7. 1908.)

Nachdruck verboten.

Verwendung kolloidaler Metalle an Stelle der Tusche bei Burri-Präparaten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Techn. Hochschule zu Dresden (Direktor: Geh.-Rat Prof. Dr. med. Renk; Bakteriologisches Laboratorium: Vorstand Privatdozent Dr. med. L. Lange).]

Von Paul Nitsche.

Die Tusche stellt eine kolloidale Lösung dar. Ihre durch Burri eingeführte Anwendung zu mikroskopischen Präparaten hat die schönsten Erfolge gezeitigt. Wer sich einmal mit der einfachen Methodik vertraut gemacht hat, wird sie nicht mehr missen wollen.

Es lag der Gedanke nahe, noch feiner verteilte Kolloide, als es selbst länger abgesetzte Tusche ist, zu gleichem Zwecke zu verwenden. Verschiedene kolloidale Metalle, welche mir die chemische Fabrik von Heyden, Radebeul bei Dresden, zur Verfügung stellte, wurden von mir untersucht und dabei das kolloidale Silber „Collargol“ als entschieden am besten geeignet befunden.

Das Collargol wird einfach in destilliertem Wasser gelöst, die Konzentration stellt man nach Belieben ein. Es genügt sehr wenig Silber, um eine geeignete Lösung zu erhalten, und damit Präparate anfertigen zu können. Das Material wird am besten mit etwas Wasser auf dem Objektträger angerührt, ausgestrichen und antrocknen gelassen; danach breitet man die Silberlösung über den Ausstrich aus und läßt wieder antrocknen. Gegenüber Tuschepräparaten sind im Silberpräparat einige Unterschiede zu bemerken. Der Untergrund erscheint beim Collargol homogener, die Konturen der Bakterien sind außerordentlich scharf, wie herausgeschnitten. Bei feinsten Gebilden, wie der *Spirochaeta pal-*

lida, fällt auf, daß sie weit dicker und deutlicher erscheinen als in Tuschepräparaten. Man muß sich an dieses Bild der Pallida geradezu gewöhnen. Als Erklärung müßte daran gedacht werden, daß die spezifisch schwereren kolloidalen Metallteilchen vom Mikroorganismus abgleiten. Es hat den Anschein, als ob die Strukturbilder der Bakterien, Hefezellen usw. im Collargolpräparat feiner differenziert seien als in Tuscheausstrichen.

Zu bemerken ist, daß beim Vorhandensein freier Säuren, wie z. B. in geronnener Milch, vorher durch Behandeln mit NH_3 an noch feuchtem Material neutralisiert werden muß. Der Vorgang wäre in diesem Falle der folgende: „Eine Oese Milch wird auf dem Objektträger mit mehreren Oesen einer wässrigen Ammoniaklösung verrührt, ausgestrichen und antrocknen gelassen; darüber kommt die entsprechende Collargollösung, wie oben angegeben.“

Für schleimiges Material, wie z. B. *Azotobacter*-Reinkultur, eignet sich Collargol ebensowenig wie Tusche.

Die Haltbarkeit der Präparate ist allerdings in manchen Fällen durch noch nicht erforschte Einflüsse eine begrenzte.

Für spezielle Zwecke, wie z. B. Mikrophotogramme, dürfte aber das kolloidale Silber wegen der größeren Schärfe und Deutlichkeit der Bilder mit Vorteil angewandt werden können.

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.

Inhalt.

Galli-Valerio, B., Etudes sur les actinomycètes, p. 555.

Germán, Tibor, Ueber die Kreatininbildung der Bakterien (als differentialdiagnostisches Merkmal mancher Bakterien), p. 545.

Manoiloff, E., Asthma bronchiale als anaphylaktische Erscheinung, p. 564.

Nitsche, Paul, Verwendung kolloidaler Metalle an Stelle der Tusche bei Burri-Präparaten, p. 575.

Rivas, D., Studies on Indol. The amino acids for the detection of this substance in *B. coli* cultures, after six hours incubation, p. 547.

Ruppert, Fritz, Ueber rotlaufähnliche Stäbchen beim Rinde, p. 551.

Terunchi, Y. u. Hida, O., Beitrag zur bakteriologischen Choleradiagnostik, p. 570.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 63 enthaltenen Arbeiten.

- v. Alten, Hans, Ueber die Entwicklung und systematische Stellung des Erregers der Vogel malaria, Plasmodium (Proteosoma) praecox. 228
- Arima, R., Ueber die Typhustoxine und ihre pathogene Wirkung. 424
- Amann, Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit bakterieller und chemischer Rattenvertilgungsmittel. 212
- Baehr, George and Kantor, John, A comparative study of methods for staining the capsules of bacteria. 120
- Bessau, Georg und Paetsch, Bernhard, Ueber die negative Phase. 67
- v. Betegh, L. und Doreich, P., Studien über Sarkosporidien. 387
- Butjagin, P., Zur Bakteriologie der bacillären Dysenterie. 257
- Corson s. White.
- Distaso, A. s. Douglas, S. R.
- Doerr, R. und Russ, V. K., Darstellung von Anaphylaxiegiften in vitro ohne Komplement. 243
- und Weinfurter, F., Die primäre Toxizität der Antieiweißera. 401
- Doreich, P. s. v. Betegh, L.
- Douglas, S. R. et Distaso, A., Etudes sur le noyau des bactéries. 1^{re} Mémoire. Sur un nouveau bacille dont le noyau est très évident. 1
- Eisenberg, Philipp, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. I. Mitteilung. Ueber sporogene und asporogene Rassen des Milzbrandbacillus. 305
- v. Eisler, M. und Löwenstein, E., Ueber den Einfluß des Formaldehyds auf Blutserum. 261
- Emmerich, R. und Loew, O., Ueber das Verhalten von Pyocyanase zu Diphtherietoxin. 437
- Fischer, Hugo, Zum Begriff der „Säurefestigkeit“. 542
- Fleisher, Moyer S., White, Corson, E. P. und Loeb, Leo, Ueber die gegenseitige Beeinflussung des Wachstums zweier Tumoren mit variabler Wachstumsenergie. 450
- Galli-Valerio, B., und Rochaz de Jongh, J., Beobachtungen über Culiciden und Mitteilung über das Vorkommen von Phlebotomus papatasi Scop. im Kanton Waadt (Schweiz). 222
- Galli-Valerio, B., Etudes sur les actinomycètes. 555
- Observations sur les corpuscules de la vaccine. 53. 303
- Gminder, Adolf, Untersuchungen über Mastitisstreptokokken und ihre Differenzierung von saprophytischen Streptokokken. 152
- Haller, E. und Ungermann, E., Ueber die Empfänglichkeit der Ziege für die Infektion mit Typhusbacillen. 337
- Hida, O. s. Ternuchi, Y.
- Hurler, Konrad, Vergleichende Untersuchungen über den Bacillus paratyphosus B, den Bacillus enteritidis Gärtner und die Rattenbacillen: Ratinbacillus, Bacillus ratti Danysz, Bacillus ratti Dunbar und Bacillus ratti Issatschenko. 341
- Kantor, John s. Baehr, George.
- Kaspar, F. und Kern, W., Micrococcus tetragenus als Erreger einer Meerschweinchenseuche. 7
- Kern, W. s. Kaspar, F.
- Klein, B., Zur Beobachtung der Zersetzung von Kohlehydraten durch Bakterien. 321
- Kodama, H., Berichtigung zu der Arbeit: Ueber Kapselbildung der Milzbrandbacillen bei der Züchtung auf Schrägagar. 134
- Kuhn, Franz, Einfluß von Zucker auf Hämolyse und Virulenz. 97
- Leon, N., Notes de Parasitologie. 382
- Loeb, Leo, s. a. Fleisher, Moyer S. — Quantitative Untersuchungen über Immunität gegen Tumoren bei Mäusen. 450
- Loew, O. s. Emmerich, R.
- Löwenstein, E. s. v. Eisler, M.
- Mandelbaum, M., Ueber das Bacterium metatyphi. 46. 304
- Manoloff, E., Asthma bronchiale als anaphylaktische Erscheinung. 564
- Marino, F., Culture aérobie des microbes dits anaérobies. 1.—3. Mém. 298. 299. 302
- Miessner, H., Die Bedeutung der Agglutinations-, Komplementbindungsmethode und Conjunctivalprobe für die Diagnose des Rotzes. 482
- Moyer s. Fleisher.
- Nitsche, Paul, Verwendung kolloidaler Metalle an Stelle der Tusche bei Burri-Präparaten. 575
- Paetsch, Bernhard s. Bessau, Georg.
- Pergola, M., Weiteres über einen aus Würstwaren isolierten tierpathogenen Keim. 193
- Pittaluga, Gustavo, Ein neuer Blutparasit der afrikanischen Schildkröte, Clemmys africana, „Haemoproteus Cajali“ n. sp. 241

- Porrini, G.**, Weiteres über die Biologie des Fränkelschen Pneumococcus (ödematogene Varietät von Foà). 129
- Regenstein, Hans**, Studien über die Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel. Ein Beitrag zu den Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und physiologischer Wirkung. 281
- Reukauf, E.**, Ein eigenartiger Schmarotzer an *Canthocamptus staphylinus* (*Canthocamptophilus Ludwigii* Reukauf). 210
— Ein Verderber des Wasserbären *Macrobrotus lacustris* Duj., *Macrobrotophthora vimariensis* (Reukauf). 390
- Rivas, D.**, Studies on Indol. The aminoacids for the detection of this substance in *B. coli* cultures, after six hours incubation. 547
- Rochaz de Jongh, J. s. Galli-Valerio, B.**
- Both, Gottfried**, Das Schicksal der Milzbrandkeime in der Stalljauche. 372
- Ruppert, Fritz**, Ueber rotlaufähnliche Stäbchen beim Rinde. 551
- Russ, V. K. s. Doerr, R.**
- Sangiorgi, Giuseppe**, Beitrag zur Kenntnis der pathogenen Blastomyceten. Experimentelle Untersuchungen. 58
- Schilling, V.**, Ueber die mögliche Umwandlung von Strukturen zu Pseudoparasiten, Chlamydozoenkörpern etc. in Erythrocyten und anderen Zellen. 393
- Schreiber, Franz**, Ein neuer Bakterien-schaber. 543
- Schurupoff, J. S.**, Ueber die Empfänglichkeit der Kamele für den Mikroorganismus der Bubonepest. 333
- Scordo, Francesco**, Die Vitalität der *Leishmania Donovanii* in Berührung mit den Bakterien des Verdauungstraktus der Flöhe und Wanzen. 62
- Semibratoff**, Zur Frage über die bakteriziden und antiparasitären Eigenschaften des Phosgens (COCl_2). 479
- So, F.**, Ueber den Einfluß von Organerkrankungen auf die Extraktwerte bei der Wassermann-Reaktion. 438
— Ueber die Verwertbarkeit der modifizierten Präzipitationsmethode nach Porges 442
- Teruuchi, Y. und Hida, O.**, Beitrag zur bakteriologischen Choleradiagnostik. 570
- Tibor, Germán**, Ueber die Kreatininbildung der Bakterien (als differentialdiagnostisches Merkmal mancher Bakterien). 545
- Toyoda, Hideo**, Bakteriologische Untersuchungen bei der Lungenpestepidemie in der Mandchurei 1910/11. 134
— und **Yasuda, Tokuro**, Ueber die Verbreitung der pestbacillenhaltigen Tröpfchen beim Husten der Pestpneumoniker und einige Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Pestbacillen in dem Sputum. 149
- Ungermann, E. s. Haller, E.**
- Weinfurter, F. s. Doerr, R.**
- White, Corson E. P. s. Fleisher, Moyer S.**
- Yasuda, Tokuro s. Toyoda, Hideo.**
- Zachokke, F.**, *Gordius* als Parasit des Menschen. 64

II. Sachverzeichnis.

- Actinomyces s. a. Aktinomykose, Aktinomyzeten.**
- *caprae*, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 560
- Agglutination des *Bac. coli*.** 364
- des *Bac. enteritidis*. 364
- des *Bac. Lugo*. 194
- des *Bac. mallei* zur Rotzdiagnose. 482
- des *Bac. paratyphi*. 364
- des *Bac. pestis*. 143
- des *Bac. ratti*. 364
- des *Bac. suipestifer*. 364
- des *Bac. typhi*. 364
- des *Ratinbacillus*. 364
- Agglutinine, Wirkung von Formaldehyd.** 268
- Aktinomykose s. a. Actinomyces.**
- des Menschen. 562
- der Ziege. 560
- Aktinomyzeten, Studien.** 555
- Alkali, hämolytische Wirkung.** 111
- Alkohol, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*.** 294
- Ameisensäure, Zersetzung durch Bakterien.** 362
- Amylomyces rouxii, Symbiose mit Anaeroben.** 300
- Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.**
- Anaphylaxiegift s. Anaphylatoxin.**
- Anaphylatoxin, Darstellung in vitro ohne Komplement.** 243
- Anopheles bifurcatus, Häufigkeit (1911, Schweiz).** 223
- —-Larve, Ueberwinterung. 222
- *maculipennis*, Häufigkeit (1911, Schweiz). 223
- —-Larven, Ueberwinterung. 222
- , Malariaübertragung. 363
- Anteiweißsera, Toxizität, primäre.** 401
- Antikörper, Wirkung von Formaldehyd.** 265
- Antitoxine, Wirkung von Formaldehyd.** 265
- Arctomys bobac, Pestinfektion.** 138
- Ascaris mystax im Darne des Menschen.** 386

- Aspergillus flavus*, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *fumigatus*, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *glaucus*, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *nidulus*, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *niger*, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *oryzae*, Symbiose mit Anaëroben. 301. 302
Asthma bronchiale als anaphylaktische Erscheinung. 564
 Auge, Hornhaut, Vaccineinfektion. 57
 Ausflockung (Porges) zur Syphilisdiagnose, Modifikation. 442
 Auswurf Pestkranker, Resistenz der Pestbacillen in demselben. 142. 149
Bacillus anthracis, Erblichkeit. 308
 — —, Kapselbildung. 134
 — —, Schicksal in der Stalljauche. 372
 — —, Sporenbildung. 307. 379
 — —, Variation. 307
 — —, Wirkung von Phosgen. 480
 — *bipolaris plurisepticus*, Septikämie der Kamele, Ursache derselben. 337
 — *bulgaricus*, Kreatininbildung. 546
 — *cholerae gallinarum*, Kreatininbildung. 546
 — *coli*, Agglutination. 364
 — —, Anpassung an Phenol. 286
 — —, — an Sublimat. 287
 — —, Differentialdiagnose von *Bac. typhi*, *Bac. paratyphi* und *Bac. dysenteriae*. 321
 — —, Indolbildung, Nachweis. 547
 — —, Glykosevergärung. 323
 — —, Kohlehydratzersetzung. 323. 358
 — —, Kreatininbildung. 546
 — —, Kristallbildung. 49
 — —, Kulturelles. 345
 — —, Mannitvergärung. 324
 — —, Milchezuckervergärung. 324
 — —, Wirkung von Phenol. 286
 — —, — von Sublimat. 287
 — —, — der Temperatur. 330
 — *cuniculicida*, Kreatininbildung. 546
 — *diphtheriae* s. a. Diphtherie. 555
 — —, Morphologie. 555
 — —, Toxin, Wirkung von Formaldehyd. 262
 — —, —, — von Pyocyanae. 437
 — —, —, — von Zucker auf dessen Bildung. 102
 — *dysenteriae* s. a. Ruhr. 321
 — —, Differentialdiagnose von *B. coli*. 321
 — —, Glukosevergärung. 327
 — —, Mannitvergärung. 327
 — —, Ruhr, Ursache derselben. 257
 — *enteritidis* Gärtner, Agglutination. 364
 — — —, Identität mit *Ratinbacillen*. 214
 — — —, Kohlehydratzersetzung. 358
 — — —, Kulturelles. 345
 — — —, Vergleich mit *Bac. paratyphi*, *Ratinbacillus* und *Bac. ratti*. 341
 — *lactis aërogenes*, Kreatininbildung. 546
 — *leprae*, Morphologie. 559
 — *Lugo*, Identität mit *Proteus vulgaris*. 197
Bacillus Lugo, Pathogenität. 197
 — —, Toxinbildung. 203
 — —, Wirkung der Temperatur. 206
 — —, Wurstvergiftung, Ursache derselben. 193
 — *mallei* s. a. Rotz. 482
 — —, Agglutination. 555
 — —, Morphologie. 555
 — *mesentericus vulgatus*, Vorkommen im Fleische. 207
 — *metatyphi* s. *Bacterium metatyphi*. 364
 — *paratyphi*, Agglutination. 321
 — —, Differentialdiagnose von *Bac. coli*. 327
 — —, Glukosevergärung. 327. 358
 — —, Kohlehydratzersetzung. 345
 — —, Kulturelles. 327
 — —, Mannitvergärung. 341
 — —, Vergleich mit *Bac. enteritidis*, *Ratinbacillus* und *Bac. ratti*. 303
 — *peripneumoniae*, Symbiose mit *Bac. tetani*. 143
 — *pestis*, s. a. Pest. 142. 149
 — —, Agglutination. 135
 — — im Auswurfe, Resistenz. 143
 — —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 143
 — —, Wirkung von Desinfizientien. 143
 — —, — der Kälte. 143
 — —, — von Licht. 142. 151
 — —, — der Temperatur. 143
 — *proteus* s. *Proteus*. 364
 —, *Ratin-*, Agglutination. 214
 — —, Identität mit *Bac. enteritidis*. 358
 — —, Kohlehydratzersetzung. 345
 — —, Kulturelles. 341
 — —, Vergleich mit *Bac. paratyphi*, *Bac. enteritidis* und *Bac. ratti*. 364
 — *ratti* Danysz, Agglutination. 358
 — — —, Kohlehydratzersetzung. 345
 — — —, Kulturelles. 364
 — — — Dunbar, Agglutination. 358
 — — —, Kohlehydratzersetzung. 345
 — — —, Kulturelles. 364
 — — — Ischtschenko, Agglutination. 358
 — — —, Kohlehydratzersetzung. 345
 — — —, Kulturelles. 341
 — — Neumann s. *Bacillus*, *Ratin-*. 341
 — —, Vergleich mit *Bac. paratyphi*, *Bac. enteritidis* und *Ratinbacillus*. 103
 —, Rauschbrand-, Toxin, Wirkung von Zucker. 551
 —, Rotlauf-ähnliche Stäbchen beim Rinde. 364
 — *suipestifer*, Agglutination. 358
 — —, Kohlehydratzersetzung. 345
 — —, Kulturelles. 546
 — *suisepcticus*, Kreatininbildung. 299
 — *tetani* s. a. Tetanus. 303
 — —, Kultur. 303
 — —, Symbiose mit *Bac. peripneumoniae*. 303
 — —, — mit *Discomyces bovis*. 303
 — —, — mit *Sporotrichum bombycinum*. 303

| | | | |
|---|---------------|---|--------------------|
| Bacillus tetani, Toxin, Wirkung von Formaldehyd. | 262 | Bakterien, Kreatininbildung. | 545 |
| — —, —, Wirkung von Zucker. | 103 | —, Kristallbildung. | 48 |
| — tuberculosis, Morphologie. | 556 | —, Kultur. | 298. 299. 302 |
| — typhi s. a. Typhus abdominalis. | | — und Leishmania donovani, Wirkung. | 62 |
| — —, Agglutination. | 364 | —, Malonsäurezersetzung. | 362 |
| — —, Anpassung an Phenol. | 286 | —, Milchsäurezersetzung. | 362 |
| — —, — an Sublimat. | 287 | —, Mutation. | 50. 305 |
| — —, Differentialdiagnose von Bac. coli. | 321 | —, Oxalsäurezersetzung. | 362 |
| — —, — von Bact. metatyphi. | 47 | —, Propionsäurezersetzung. | 362 |
| — —, Endotoxin, Eigenschaften, Wirkung. | 427. 430 | — zur Rattenbekämpfung. | 214. 341 |
| — —, Exotoxin, Eigenschaften, Wirkung. | 427. 428 | — säurefeste, Vorkommen in Wasserhähnen. | 559 |
| — —, Glukosevergärung. | 327 | —, Säurefestigkeit. | 542 |
| — —, Kohlehydratzersetzung. | 327. 358 | —, Säuren, organische, Zersetzung derselben. | 361 |
| — —, Kristallbildung. | 49 | — -Schaber. | 543 |
| — —, Kulturelles. | 345 | —, Schleimsäurezersetzung. | 362 |
| — —, Mannitvergärung. | 327 | —, Symbiose. | 300. 302 |
| — —, Mutation in Bac. metatyphi. | 50 | —, Toxinbildung, Wirkung von Zucker. | 102 |
| — —, Symbiose mit Anaëroben. | 303 | —, Traubensäurezersetzung. | 362 |
| — —, Toxine, Darstellung. | 426. 434 | —, Valeriansäurezersetzung. | 362 |
| — —, — Pathogenität. | 427 | —, Variation. | 47. 305 |
| — —, Wirkung von Phenol. | 286 | —, Virulenz und Hämolyse. | 116 |
| — —, — von Phosgen. | 480 | —, Vorkommen im Fleische. | 193 |
| — —, — von Sublimat. | 287 | —, — in Milch. | 160 |
| Bacterium coli s. Bacillus coli. | | —, — in Wurst. | 193 |
| — matatyphi, Differentialdiagnose von Bac. typhi. | 47 | —, Wirkung von Alkohol. | 294 |
| — —, Kristallbildung. | 48 | —, — von Desinfizientien. | 143. 281 |
| — —, Kulturelles. | 47 | —, — von Formaldehyd. | 294 |
| Bakterien, Ameisensäurezersetzung. | 362 | —, — von Hydrochinon. | 293 |
| —, anaërobe, Kultur aërobe. | 298. 299. 302 | —, — von Kresolseife. | 293 |
| —, —, Symbiose mit Amylomyces rouxii. | 300 | —, — von Licht. | 142. 151 |
| —, —, — mit Aspergillus-Arten. | 301. 302 | —, — von Methylalkohol. | 294 |
| —, —, — mit Bac. peripneumoniae. | 303 | —, — von Natrium salicylicum. | 294 |
| —, —, — mit Bac. typhi. | 303 | —, — von Phenol. | 286 |
| —, —, — mit Discomyces bovis. | 303 | —, — von Phosgen. | 479 |
| —, —, — mit Hefen. | 301 | —, — von Quecksilberbromid. | 296 |
| —, —, — mit Mucor-Arten. | 302 | —, — von Quecksilbercyanid. | 296 |
| —, —, — mit Sporotrichum bombycinum. | 303 | —, — von Resorcin. | 293 |
| —, —, — mit Vibrio cholerae. | 303 | —, — von Sublimat. | 287 |
| —, Anpassung an Desinfizientien. | 281 | —, — der Temperatur. | 143. 206. 330. 368 |
| —, Bau. | 1 | —, — von Zincum sulfocarbolicum. | 293 |
| —, Bernsteinsäurezersetzung. | 362 | —, — von Zucker. | 99 |
| —, Buttersäurezersetzung. | 362 | —, Zitronensäurezersetzung. | 362 |
| —, Erblichkeit. | 305 | —, Zuckersäurezersetzung. | 71 |
| —, Essigsäurezersetzung. | 362 | Bakteriolyse. | 273 |
| —, Färbung. | 120. 168 | Bakteriolyse, Wirkung von Formaldehyd. | 273 |
| —, Gärung. | 321. 358 | Bernsteinsäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 |
| —, Gasbildung. | 325 | Blastomykose des Hundes. | 59 |
| —, Glykonsäurezersetzung. | 362 | Blastomyzeten s. a. Cryptococcus. | |
| —, Hämolyse. | 156 | —, kulturelle und morphologische Charaktere. | 59 |
| —, — und Virulenz. | 116 | —, pathogene. | 58 |
| —, —, Wirkung von Zucker. | 101 | Blut, Haemoproteus cajali in demselben bei der Schildkröte. | 241 |
| —, Harnsäurezersetzung. | 362 | — -Körperchen, rote, Struktur. | 393 |
| —, Indolbildung. | 547. 572 | — -Parasit der Schildkröte. | 241 |
| —, —, Nachweis. | 547 | — — der Vögel. | 228 |
| —, Kapselbildung. | 120. 134 | — -Serum, Wirkung von Formaldehyd. | 261 |
| —, Kapseln, Färbung. | 120 | Bothriocephalus latus im Darne von Hunden. | 385 |
| —, Kern. | 1 | — — -Eier, Uebertragung durch Fliegen. | 385 |
| —, Kernteilung. | 5 | | |
| —, Kohlehydratzersetzung. | 321. 358 | | |

- Bothriocephalus latus*, Symptome. 385
 Brutplätze von Culiciden. 223
 Buttersäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
Canthocamptophilus ludwigii n. sp., Beschreibung, Vorkommen. 210
Canthocamptus staphylinus, Wirt von *Canthocamptophilus ludwigii*. 210
 Cercarien in *Limnaeus truncatulus*. 385
 Chlamydozoenkörper, Kritik. 393
 Cholera, Diagnose, bakteriologische. 570
Clemmys africana, *Haemoproteus cajali* im Blute derselben. 241
Corynebacterium diphtheriae, Morphologie. 555
 — *mallei*, Morphologie. 555
Cryptococcus, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 59
Culex nemorosus, Häufigkeit (1911, Schweiz). 223
 — *pipiens*, Häufigkeit (1911, Schweiz). 223
 — —, Ueberwinterung. 222
 Culiciden, Brutplätze. 223
 —, Häufigkeit (1911, Schweiz). 223
 —, Stiche. 225
 —, Ueberwinterung. 222
 —, Vernichtung. 226
Cytorrhycles vaccinia. 53
 — *variola*. 53
 Darm, *Ascaris mystax* in demselben beim Menschen. 386
 —, *Bothriocephalus latus* in demselben bei Hunden. 385
 —, *Geophilus longicornis* in demselben. 382
 —, *Gordius aquatilis* in demselben. 64
 —, *Trichocephalus depressiusculus* in demselben beim Hunde. 386
 Diphtherie s. a. *Bacillus diphtheriae*.
 — Toxin, Wirkung von Formaldehyd. 262
 — —, — von Pyozyanase. 437
Discomyces bovis, Symbiose mit *Bac. tetani*. 303
 Dysenterie s. Ruhr.
Echinococcus s. *Taenia echinococcus*.
 Eier von *Bothriocephalus latus*, Uebertragung durch Fliegen. 385
 — von *Taenia echinococcus*, Uebertragung durch Fliegen. 385
 — von *Taenia solium*, Uebertragung durch Fliegen. 385
 Eiweiß, Wirkung von Formaldehyd. 276
 Endotoxin des *Bac. typhi*, Eigenschaften, Wirkung. 427. 430
 Enten, Sarkosporidieninfektion. 388
 Erbllichkeit bei *Bac. anthracis*. 308
 Essigsäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
 Euter-Entzündung s. Mastitis.
 Exotoxin des *Bac. typhi*, Eigenschaften, Wirkung. 427. 428
 Färbung der Bakterien-Kapseln. 120
 — der Streptokokken, Mastitis-. 168
 Fieber, Pappataci- s. Pappataciefieber.
 Fleisch, *Bacillus Lugo* in demselben. 193
 —, *Bac. mesentericus vulgatus* in demselben. 207
 Fleisch, *Proteus vulgaris* in demselben. 197. 207
 Fliegen, Uebertragung von *Taenia*-Eiern. 385
 Flöhe, Kala-azar, Uebertragung derselben. 62
 Formaldehyd, Wirkung auf Agglutinine. 268
 —, — auf Antikörper. 265
 —, — auf Antitoxine. 265
 —, — auf Bakteriolytine. 273
 —, — auf Diphtherietoxin. 262
 —, — auf Eiweiß. 276
 —, — auf die Hämolyse. 274
 —, — auf Präzipitine. 271
 —, — auf Serum. 261
 —, — auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 294
 —, — auf Tetanustoxin. 262
 —, — auf die Ueberempfindlichkeit. 272
 Gärung durch *Bac. coli*. 323. 358
 — durch Bakterien. 321. 358
 Galt, gelber s. Mastitis, durch Streptokokken verursacht.
 Gas, Bildung durch *Bac. coli*. 325
Geophilus longicornis, Vorkommen im Darne. 382
 Geschwülste, Immunität bei Mäusen, quantitative Untersuchungen. 450
 Gift, Anaphylaxie- s. Anaphylatoxin.
 Glukose, Vergärung durch *Bac. coli*. 323
 —, — durch *Bac. dysenteriae*. 327
 —, — durch *Bac. paratyphi*. 327
 —, — durch *Bac. typhi*. 327
 Glykonsäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
Gordius aquatilis im Darne des Menschen. 64
 Guarnieri-Körper. 53
 —, Kritik. 396
 Hämolyse durch Alkali. 111
 — durch Bakterien. 156
 — durch Bakterien, Wirkung von Zucker. 101
 — durch Säuren. 110
 — durch Staphylokokken, Wirkung von Zucker. 105. 108
 — durch Streptokokken. 156
 — durch Streptokokken, Wirkung von Zucker. 101. 109
 — und Virulenz. 116
 —, Wesen (Theorie). 110
 —, Wirkung von Formaldehyd. 274
Haemoproteus cajali n. sp., Beschreibung, Vorkommen. 242
 Hahn, Wasser-, *Mycobacterium* in demselben. 559
 —, —, säurefeste Bakterien in demselben. 559
 Harnsäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
 Hefen, Symbiose mit Anaëroben. 301
 Hitze, Wirkung auf *Bac. pestis*. 143
 Hühner, Sarkosporidieninfektion. 388
 Hunde, Blastomykose. 59
 —, *Bothriocephalus latus* im Darne derselben. 385

| | | | |
|---|----------|--|----------|
| Hunde, Pestinfektion. | 138 | Kreatinin, Bildung durch <i>Bac. lactis aëro-</i> | 546 |
| —, <i>Trichocephalus depressiusculus</i> | im | genes. | 546 |
| Darme derselben. | 386 | —, — durch <i>Bac. suisepiticus</i> . | 546 |
| Hydrochinon, Wirkung auf <i>Staphylococcus</i> | | —, — durch <i>Lactobacillus bulgaricus</i> . | 546 |
| <i>pyogenes aureus</i> . | 293 | —, — durch <i>Proteus vulgaris</i> . | 546 |
| Jauche, Stall-, Schicksal des <i>Bac. anthracis</i> | | —, — durch <i>Vibrio cholerae</i> . | 546 |
| in derselben. | 372 | —, — durch <i>Vibrio danubicus</i> . | 546 |
| Idiozome der Samenzellen. | 398 | —, — durch <i>Vibrio Metschnikoff</i> . | 546 |
| Immunisierung gegen Pest. | 144 | Krebs-Forschung, experimentelle. | 450 |
| —, negative Phase. | 67 | Krebs, Immunität bei Mäusen, quantitative | |
| — gegen Ruhr. | 257 | Untersuchungen. | 450 |
| Immunität gegen Geschwülste bei Mäusen, | | —, Ruderfuß- s. <i>Canthocamptus staphy-</i> | |
| quantitative Untersuchungen. | 450 | linus. | |
| — der Kamele gegen Pest. | 333 | Kresolseife, Wirkung auf <i>Staphylococcus</i> | |
| —, negative Phase. | 67 | <i>pyogenes aureus</i> . | 293 |
| — der Tauben gegen Pest. | 139 | Kristalle, Bildung durch <i>Bac. coli</i> . | 49 |
| — der Ziegen gegen Typhus. | 337 | —, — durch <i>Bac. typhi</i> . | 49 |
| Indol, Bildung durch <i>Bac. coli</i> , Nachweis. | 547 | —, — durch <i>Bact. metatyphi</i> . | 48 |
| —, — Bildung durch <i>Vibrio cholerae</i> . | 572 | Kurloff-Körper, Kritik. | 397 |
| Infektionskrankheiten, Uebertragung durch | | <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , Kreatininbildung. | 546 |
| Insekten. | 62 | <i>Leishmania donovani</i> , Vitalität und Bak- | |
| Insekten, Infektionskrankheiten, Ueber- | | terien des Floh- und Wanzenarmes. | 62 |
| tragung derselben. | 62 | <i>Leishmaniose</i> s. Kala-azar. | |
| Kälte, Wirkung auf <i>Bac. pestis</i> . | 143 | Leukocyten-Probe der Milch. | 160 |
| Kala-azar, Uebertragung durch Flöhe. | 62 | Licht, Wirkung auf <i>Bac. pestis</i> . | 142. 151 |
| —, — durch Wanzen. | 62 | <i>Limnaeus truncatulus</i> , Cercarien in dem- | |
| Kamele, Pestimmunität. | 333 | selben. | 385 |
| —, Septikämie, durch <i>Bac. bipolaris pluri-</i> | | Lungen, Aktinomykose. | 560 |
| <i>septicus</i> verursacht. | 337 | Lungen-Pest, bakteriologische Unter- | |
| Kaninchen, Pestinfektion. | 138 | suchungen. | 134. 149 |
| —, Vaccineinfektion der Hornhaut. | 57 | Lysol, Wirkung auf <i>Bac. pestis</i> . | 143 |
| Kapsel bei <i>Bac. anthracis</i> . | 134 | <i>Macrobiotophthora vimariensis</i> n. sp., | |
| — von Bakterien, Färbung. | 120 | Schädling des <i>Macrobiotus lacustris</i> , Bio- | |
| Karbonsäure s. Phenol. | | logie. | 390 |
| Karzinom, Immunität bei Mäusen, quanti- | | <i>Macrobiotus lacustris</i> , Infektion mit <i>Macro-</i> | |
| tative Untersuchungen. | 450 | <i>biotophthora vimariensis</i> . | 390 |
| Kaseintrypsinpeptonwasser als Elektiv- | | Mäuse, Immunität gegen Geschwülste, | |
| nährboden für <i>Vibrio cholerae</i> . | 572 | quantitative Untersuchungen. | 450 |
| Kern der Bakterien. | 1 | Mäuse-Karzinom, Wachstumsenergie, Wirk- | |
| Körperchen, Guarnieri-. | 53 | kung der Erwärmung. | 451 |
| —, —, Kritik. | 396 | Mäuse, Pestinfektion. | 137 |
| —, Kurloff-, Kritik. | 397 | Malaria, Uebertragung durch <i>Anopheles</i> . | 383 |
| —, Vaccine-. | 53. 303 | —, Vogel-, durch <i>Plasmodium praecox</i> ver- | |
| —, —, Kritik. | 396 | ursacht. | 228 |
| —, Variola-. | 53 | Malleinreaktion, konjunktivale, diagnosti- | |
| Kohlehydrate, Vergärung durch <i>Bac. coli</i> . | 323. 358 | sche Bedeutung bei Rotz. | 486 |
| —, — durch <i>Bac. dysenteriae</i> . | 327 | Malonsäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 |
| —, — durch <i>Bac. paratyphi</i> . | 327. 358 | Mandschurei, Pest. | 134. 149 |
| —, — durch <i>Bac. typhi</i> . | 327. 358 | Mannit, Vergärung durch <i>Bac. coli</i> . | 324 |
| —, Zersetzung durch Bakterien. | 321. 358 | —, — durch <i>Bac. dysenteriae</i> . | 327 |
| Kollargol anstatt der Tusche im Burri-Ver- | | —, — durch <i>Bac. paratyphi</i> . | 327 |
| fahren. | 575 | —, — durch <i>Bac. typhi</i> . | 327 |
| Komplementbindung zur Rotzdiagnose. | 482 | Mastitis, durch Streptokokken verursacht. | 152 |
| —, (Wassermann) bei Syphilis, Einfluß von | | | |
| Organerkrankungen auf die Extraktwerte. | 438 | Meerschweinchen, Pestinfektion. | 139 |
| Konjunktivalreaktion mit Mallein, diagno- | | — -Seuche, durch <i>Microc. tetragenus</i> ver- | |
| stische Bedeutung bei Rotz. | 486 | ursacht. | 7 |
| Konstitution, chemische, und physiologische | | Meerzwiebelpräparate zur Rattenbekämp- | |
| Wirkung, Beziehungen. | 281 | fung. | 217 |
| Kreatinin, Bildung durch <i>Bac. cholerae</i> | | Metalle, kolloidale, anstatt der Tusche im | |
| <i>gallinarum</i> . | 546 | Burri-Verfahren. | 575 |
| —, — durch <i>Bac. coli</i> . | 546 | Methylalkohol, Wirkung auf <i>Staphylo-</i> | |
| —, — durch <i>Bac. cuniculicida</i> . | 546 | <i>coccus pyogenes aureus</i> . | 294 |

- Micrococcus tetragenus**, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 11
 — —, Meerschweinchenseuche, Ursache derselben. 7
 — —, Pathogenität. 14
 — —, Pyämie, Ursache derselben. 43
 — —, Septikämie, Ursache derselben. 43
 — —, Virulenz. 16
Milch, Leukocytenprobe. 160
 —, Streptokokken in derselben. 160
Milchsäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
Milchzucker, Vergärung durch *Bac. coli*. 324
Milzbrand s. *Bacillus anthracis*.
Mucor corymbifer, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *racemosus*, Symbiose mit Anaëroben. 302
 — *rhizopodiformis*, Symbiose mit Anaëroben. 302
Mückenstiche, Beobachtungen. 225
Musca vomitoria-Larven im Ohre. 384
Muskeln, Sarkosporidien in denselben. 387
Mutation des *Bac. typhi*. 50
 — bei Bakterien. 50. 305
Mycobacterium leprae, Morphologie. 559
 — tuberculosis, Morphologie. 556
 —, Vorkommen in Wasserhähnen. 559
Myiasis des Ohres, durch *Musca vomitoria*-Larven verursacht. 384
 — des Zahnfleisches, durch *Sarcophaga wohlharti*-Larven verursacht. 384
Myriapode, Vorkommen im Darne. 382
Natrium salicylicum, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 294
Ohr, *Musca vomitoria*-Larven in demselben. 384
Ophthalmoreaktion bei Rotz s. Malleinreaktion, konjunktivale.
Oxalsäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
Pappataciefieber. 227
Parasiten, Pseudo- s. Pseudoparasiten.
Pellagra, *Simulium reptans*, Rolle bei derselben. 383
Pest s. a. *Bacillus pestis*.
 —, *Arctomys bobac*-Infektion. 138
 —, Behandlung mit Serum. 144
 —, Epidemiologie. 145. 151
 —, Hundefektion. 138
 —, Immunisierung. 144
 —, Immunität der Kamele. 333
 —, — der Tauben. 139
 —, Kanincheninfektion. 138
 —, Lungen-, Infektion durch Inhalation. 149
 —, —, bakteriologische Untersuchungen. 134. 149.
 —, Mäuseinfektion. 137
 —, Meerschweincheninfektion. 139
 —, Ratteninfektion. 136
 —, Vorkommen in der Mandchurei. 135. 149
 —, Zieselinfektion. 137
Pferde, Rotz. 482
Phase, negative, bei der Immunisierung. 67
Phenol, Wirkung auf *Bac. coli*. 286
 —, — auf *Bac. pestis*. 143
 —, — auf *Bac. typhi*. 286
 —, — auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 286
Phlebotomus papatasi, Vorkommen im Kanton Waadt. 226
Phosgen zur Rattenbekämpfung. 480
 —, Wirkung auf Schwaben. 480
 —, — auf Wanzen. 480
Phosphorpräparate zur Rattenbekämpfung. 218
Plasmodium praecox, Entwicklung. 228
 — —, systematische Stellung. 238
Pneumococcus (Fränkel), Biologie. 129
 — —, Virulenz. 129
Präzipitation zur Syphilisdiagnose, Modifikation. 442
Präzipitine, Wirkung von Formaldehyd. 271
Propionsäure, Zersetzung durch Bakterien. 362
Proteosoma praecox s. *Plasmodium praecox*.
Proteus vulgaris, Kreatininbildung. 546
 — —, Pathogenität. 197
 — —, Toxinbildung. 203
 — —, Vorkommen im Fleische. 207
 — —, Wirkung der Temperatur. 206
 — —, Wurst-Vergiftung, Ursache derselben. 197
Pseudoparasiten, durch Umwandlung von Zellstrukturen entstanden. 393
Pyämie, durch *Microc. tetragenus* verursacht. 43
Pyozyanase, Wirkung auf Diphtherietoxin. 437
Quecksilberbromid, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 296
Quecksilberchlorid s. Sublimat.
Quecksilbercyanid, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 296
Ratin zur Rattenbekämpfung. 214. 218
Ratinbacillus, Identität mit *Bac. enteritidis*. 214
Ratten, Bekämpfung mittels Bakterien. 214. 341
 —, — mit Meerzwiebelpräparaten. 217
 —, — mit Phosgen. 480
 —, — mit Phosphorpräparaten. 218
 —, — mit Ratin. 214. 218
 —, — mit Rodro. 215. 217
 —, — mit Saprol. 219
 —, Bekämpfungsmittel, bakterielle und chemische, Vergleich. 212
 —, Pestinfektion. 136
Resorcin, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 293
Rhizomucor parasiticus, Symbiose mit Anaëroben. 302
Rinder, rotlaufähnliche Stäbchen bei denselben. 551
Rodro zur Rattenbekämpfung. 215. 217
Rotz s. a. *Bacillus mallei*.
 —, Diagnose mittels Agglutination. 482
 —, — mittels Komplementbindung. 482

| | | | |
|--|----------|--|--------------------|
| Rotz, Diagnose mittels Malleinkonjunktivalreaktion. | 486 | Streptokokken, Hämolyse. | 101. 109. 156 |
| Ruderfußkrebs s. <i>Canthocamptus staphylinus</i> . | | —, Mastitis-, Biologie. | 169 |
| Ruhr s. a. <i>Bacillus dysenteriae</i> . | | —, —, kulturelle und morphologische Eigenschaften. | 170 |
| —, bakterielle, Bakteriologie. | 257 | —, —, Ursache derselben. | 152 |
| —, —, Behandlung mit Serum. | 257 | —, —, Virulenz. | 183 |
| —, —, Immunisierung. | 257 | —, Vorkommen in Milch. | 160 |
| Säure-Festigkeit von Bakterien. | 542 | Sublimat, Wirkung auf <i>Bac. coli</i> . | 287 |
| Säure, hämolytische Wirkung. | 110 | —, — auf <i>Bac. pestis</i> . | 143 |
| —, organische, Zersetzung durch Bakterien. | 361 | —, — auf <i>Bac. typhi</i> . | 287 |
| Samenzellen, Idiozome. | 398 | —, — auf <i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> . | 287 |
| Saprol zur Rattenbekämpfung. | 219 | Symbiose von <i>Amylomyces rouxii</i> mit Anaëroben. | 300 |
| <i>Sarcophaga wohlfarti</i> -Larven im Zahnfleische. | 384 | — von <i>Aspergillus</i> -Arten mit Anaëroben. | 301. 302 |
| Sarkosporidien, Enteninfektion. | 388 | — von <i>Bac. peripneumoniae</i> mit <i>Bac. tetani</i> . | 303 |
| —, Entwicklung. | 389 | — von <i>Bac. typhi</i> mit Anaëroben. | 303 |
| —, Hühnerinfektion. | 388 | — von <i>Discomyces bovis</i> mit <i>Bac. tetani</i> . | 303 |
| Schaber, Bakterien-. | 543 | — von Hefen mit Anaëroben. | 301 |
| Schildkröte s. a. <i>Clemmys africana</i> . | | — von <i>Mucor</i> -Arten mit Anaëroben. | 302 |
| —, <i>Haemoproteus cajali</i> im Blute derselben. | 241 | — des <i>Sporotrichum bombycinum</i> mit <i>Bac. tetani</i> . | 303 |
| Schleimsäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 | — von <i>Vibrio cholerae</i> mit Anaëroben. | 303 |
| Schwaben, Wirkung von Phosgen. | 480 | Syphilis, Diagnose mittels Ausflockung, Modifikation. | 442 |
| Septikämie der Kamele, durch <i>Bac. bipolaris plurisepticus</i> verursacht. | 337 | —, — mittels Komplementbindung. | 438 |
| —, durch <i>Micrococcus tetragenus</i> verursacht. | 43 | —, — mittels Präzipitation, Modifikation. | 442 |
| Serum, Antieweiß-, Giftigkeit, primäre. | 401 | —, Komplementbindung (Wassermann), Einfluß von Organerkrankungen auf die Extraktwerte. | 438 |
| —, Giftigkeit. | 401 | <i>Taenia echinococcus</i> -Eier, Uebertragung durch Fliegen. | 385 |
| Serumbehandlung der Pest. | 144 | — solium-Eier, Uebertragung durch Fliegen. | 385 |
| — der Ruhr. | 257 | Tarbagan s. <i>Arctomys bobac</i> . | |
| Serumdiagnose des Rotzes. | 482 | Tauben, Pestimmunität. | 139 |
| — der Syphilis, Technik. | 438. 442 | Temperatur, Wirkung auf <i>Bac. coli</i> . | 330 |
| <i>Simulium reptans</i> , Pellagra, Rolle bei derselben. | 383 | —, — auf <i>Bac. Lugo</i> . | 206 |
| —, —, Vorkommen. | 382 | —, — auf <i>Bac. pestis</i> . | 143 |
| Sporenbildung bei <i>Bac. anthracis</i> . | 307 | —, — auf Bakterien. | 143. 206. 330. 368 |
| <i>Sporotrichum bombycinum</i> , Symbiose mit <i>Bac. tetani</i> . | 303 | —, — auf <i>Proteus vulgaris</i> . | 206 |
| Stalljauche, Schicksal des <i>Bac. anthracis</i> in derselben. | 372 | Tetanus s. a. <i>Bacillus tetani</i> . | |
| <i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> , Anpassung an Phenol. | 286 | — -Toxin, Wirkung von Formaldehyd. | 262 |
| — — —, Anpassung an Sublimat. | 287 | <i>Theobaldia annulata</i> , Ueberwinterung. | 222 |
| — — —, Wirkung von Alkohol. | 294 | <i>Torula</i> , Symbiose mit Anaëroben. | 301 |
| — — —, — von Formaldehyd. | 294 | Toxin des <i>Bac. diphtheriae</i> , Wirkung von Formaldehyd. | 262 |
| — — —, — von Hydrochinon. | 293 | — — —, Wirkung von Pyozyanase. | 437 |
| — — —, — von Kresolseife. | 293 | — — —, — von Zucker. | 102 |
| — — —, — von Methylalkohol. | 294 | — des <i>Bac. Lugo</i> . | 203 |
| — — —, — von Natrium salicylicum. | 294 | — des <i>Bac.</i> , Rauschbrand-, Wirkung von Zucker. | 103 |
| — — —, — von Phenol. | 286 | — des <i>Bac. tetani</i> , Wirkung von Formaldehyd. | 262 |
| — — —, — von Phosgen. | 480 | — — —, — von Zucker. | 103 |
| — — —, — von Quecksilberbromid. | 296 | — des <i>Bac. typhi</i> , Darstellung. | 426. 434 |
| — — —, — von Quecksilbercyanid. | 296 | — — —, Pathogenität. | 427 |
| — — —, — von Resorcin. | 293 | —, Endo-, des <i>Bac. typhi</i> , Eigenschaften, Wirkung. | 427. 430 |
| — — —, — von Sublimat. | 287 | —, Exo-, des <i>Bac. typhi</i> , Eigenschaften, Wirkung. | 427. 428 |
| — — —, — von Zinkum sulfocarbolicum. | 293 | | |
| Staphylokokken, hämolytische Eigenschaften, Wirkung von Zucker. | 105. 108 | | |
| Streptokokken, Arteinheit. | 155 | | |
| —, Differenzierung. | 155 | | |

| | | | |
|--|---------|---|-----|
| Toxin des <i>Proteus vulgaris</i> . | 203 | Vibriolyse. | 71 |
| — des <i>Vibrio cholerae</i> , Wirkung von Zucker. | 103 | Virulenz und Hämolyse. | 116 |
| Traubensäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 | Vogel-Malaria, durch <i>Plasmodium praecox</i> verursacht. | 228 |
| <i>Trichocephalus depressiusculus</i> im Darne des Hundes. | 386 | Wärme, Wirkung auf <i>Bac. Lugo</i> . | 206 |
| —, Ernährung. | 386 | —, — auf <i>Bac. pestis</i> . | 143 |
| Tusche-Verfahren, Verwendung kolloidaler Metalle statt der Tusche. | 575 | —, — auf <i>Proteus vulgaris</i> . | 206 |
| Typhus abdominalis s. a. <i>Bacillus typhi</i> . | | Wanzen, Kala-azar, Uebertragung derselben. | 62 |
| — —, Ziegen, Immunität derselben. | 337 | —, Wirkung von Phosgen. | 480 |
| Ueberempfindlichkeit. | 401 | Wasserbär s. <i>Macrobiotus lacustris</i> . | |
| —, Anaphylatoxin, Darstellung in vitro ohne Komplement. | 243 | Wasser-Hahn, säurefeste Bakterien in demselben. | 559 |
| — und Asthma bronchiale. | 564 | —, <i>Mycobacterium</i> in demselben. | 559 |
| —, Shock. | 423 | Wirkung, physiologische, und chemische Konstitution, Beziehungen. | 281 |
| —, Wirkung von Formaldehyd. | 272 | Wurmfortsatz, <i>Geophilus longicornis</i> in demselben. | 382 |
| Ueberwinterung von Culiciden. | 222 | Wurst, <i>Bac. mesentericus vulgatus</i> in demselben. | 209 |
| Vaccination, negative Phase. | 67 | — -Vergiftung, durch <i>Bac. Lugo</i> verursacht. | 193 |
| Vaccine, Hornhautinfektion bei Kaninchen. | 57 | — —, durch <i>Proteus vulgaris</i> verursacht. | 197 |
| Vaccine-Körperchen. | 53. 303 | Zahnfleisch, <i>Sarcophaga wohlfarti</i> -Larven in demselben. | 384 |
| — —, Kritik. | 396 | Zell-Einschlüsse, Kritik. | 393 |
| —, mikroskopische Untersuchung. | 55 | Ziegen, Aktinomykose. | 560 |
| Valeriansäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 | —, Typhus-Immunität. | 337 |
| Variation bei <i>Bac. anthracis</i> . | 307 | Ziesel, Pestinfektion. | 137 |
| — bei <i>Bac. typhi</i> . | 50 | Zincum sulfocarbolicum, Wirkung auf <i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> . | 293 |
| Variola-Körperchen. | 53 | Zitronensäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 |
| <i>Vibrio cholerae</i> , Anreicherung. | 571 | Zucker, Wirkung auf Bakterien. | 99 |
| — —, — mittels Kaseintrypsinpeptonwasers. | 572 | —, — auf die Hämolyse durch Bakterien. | 101 |
| — —, Indolbildung. | 572 | Zuckersäure, Zersetzung durch Bakterien. | 362 |
| — —, Kreatininbildung. | 546 | | |
| — —, Symbiose mit Anaëroben. | 303 | | |
| — —, Toxin, Wirkung von Zucker. | 103 | | |
| — —, Wirkung von Phosgen. | 480 | | |
| — danubicus, Kreatininbildung. | 546 | | |
| — Metschnikov, Kreatininbildung. | 546 | | |

III. Verzeichnis der Abbildungen.

| | | | |
|--|---------|---|-----|
| Abzeß, Leber-, bei Meerschweinchenseuche. | 25 | Blutkörperchen, rote, Strukturbilder. (Taf. I, Fig. 1—16.) | 400 |
| <i>Actinomyces caprae</i> , kulturelle Eigenschaften. | 561 | <i>Canthocamptophilus ludwigii</i> n. sp., Sichelkeime und Sporen. | 211 |
| Aktinomykose, Lungen-, der Ziege. | 560 | <i>Culex</i> -Art, Beschreibung. | 224 |
| — beim Menschen. | 563 | Culiciden-Brutplatz in einer Roßkastanie. | 223 |
| Apparat zur bakteriellen Gärungsuntersuchung. | 331 | Darm des Kaninchens, Wirkung von Typhus-Endotoxin. (Taf. I, II.) | 436 |
| Auge, Wirkung von Mallein. | 495—497 | Darm bei Meerschweinchenseuche. (Taf. I, II.) | 45 |
| <i>Bacillus leprae</i> , Morphologie. | 559 | Gärung durch Bakterien, Apparat. | 331 |
| — tuberculosis, Morphologie. | 557 | <i>Geophilus longicornis</i> im Darmkanal. | 383 |
| — typhi-Endotoxin, Wirkung auf die Därme des Kaninchens. (Taf. I, II.) | 436 | Guarnieri-Körper der vaccinierten Kaninchenhornhaut. (Taf. I, Fig. 17—26, Taf. II, Fig. 27—30.) | 400 |
| <i>Bacterium metatyphi</i> , Kristallbildung. | 49 | <i>Haemoproteus cajali</i> n. sp., Entwicklung. (Taf.) | 242 |
| Bakterien, Gärung, Apparat. | 331 | | |
| —, Kern. (Taf.) | 6 | | |
| —, Kristallbildung. | 49. 50 | | |
| —Schaber. | 543 | | |

| | | | |
|--|----------|---|--------|
| Idiozome der Samenzellen. (Taf. II, Fig. 36—39.) | 400 | Meerschweinchen-Seuche, Darmveränderungen. (Taf. I, II.) | 45 |
| Kern der Bakterien. (Taf.) | 6 | — —, Leberveränderungen. (Taf. II, III.) | 25. 45 |
| Körperchen, Guarnierische s. Guarnierikörper. | | — —, Lymphdrüsenveränderungen. (Taf. III.) | 45 |
| Körperchen, Kurloffsche s. Kurloff-Körper. | | Musca vomitoria-Larve, Analende. | 384 |
| Kristalle, Bildung durch Bact. metatyphi. | 49. 50 | Mycobacterium leprae, Morphologie. | 559 |
| Kurloff-Körper. (Taf. II, Fig. 31—35.) | 400 | — tuberculosis, Morphologie. | 557 |
| Leber-Abszeß bei Meerschweinchenseuche. | 25 | Myriapode im Darmkanal. | 383 |
| Leber bei Meerschweinchenseuche. (Taf. II, III.) | 25. 45 | Pest, Tröpfcheninfektion, Versuchsanordnung. | 150 |
| Lungen, Aktinomykose. | 560 | Plasmodium praecox, Entwicklung. (Taf.) | 240 |
| Lymphdrüse bei Meerschweinchenseuche. (Taf. III.) | 45 | Samenzellen, Idiozome. (Taf. II, Fig. 36—39.) | 400 |
| Macrobiotophthora vimariensis, Schädling des Macrobotus lacustris. | 391. 392 | Sarkosporidien. (Taf.) | 389 |
| Macrobotus lacustris, mit Macrobiotophthora vimariensis infiziert. | 391. 392 | Schaber, Bakterien- | 543 |
| Malleinreaktion, konjunktivale, Wirkung auf das Auge. | 495—497 | Toxin des Bac. typhi (Endotoxin), Wirkung auf die Därme des Kaninchens. (Taf. I, II.) | 436 |
| | | Vaccine-Körperchen. | 56 |
| | | Ziegen, Aktinomykose der Lungen. | 560 |

Adf. u.
 o
 m
 o
 ad
 m
 i
 t
 a m
 el
 ca } sv

de-
45
II.)
45
45
384
558
557
383
ord-
150
inf.)
240
36
400
389
543
ind
E. I.
436
56
560

Generated on 2019-09-14 21:20 GMT / http://hdl.handle.net/2027/osu.32435070754429
Public Domain in the United States; Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Due

Q R 1

119915

239

07.1

U.63

The Ohio State University



3 2435 07075442 9

THE OHIO STATE UNIVERSITY BOOK DEPOSITORY



| D | AISLE | SECT | SHLF | SIDE | POS | ITEM | C |
|---|-------|------|------|------|-----|------|---|
| 8 | 07 | 16 | 06 | 8 | 01 | 002 | 8 |